Bioquímica Médica Básica *de Marks*

Uma Abordagem Clínica

2ª Edição



Colleen Smith
Allan D. Marks
Michael Lieberman

artmed®

Equipe de Tradução

Ângela de Mattos Dutra (Caps. 2, 3, 24, 33, 34, 36-40, 42, 46, 47, 49)
Mestre e Doutora em Ciências Biológicas: Bioquímica, UFRGS.
Professora adjunta, Departamento de Ciências Fisiológicas, FFFCMPA.

Angela T.S. Wyse (Caps. 32, 35, 43, 48)
Doutora em Ciências: Bioquímica, UFPR.
Professora associada, Departamento de Bioquímica, UFRGS.

Carlos Severo Dutra Filho (índice)
Mestre em Ciências Biológicas: Bioquímica, UFRGS.
Doutor em Ciências: Bioquímica, UFPR.
Professor adjunto, Departamento de Bioquímica, UFRGS.

Edison Capp (Caps. 1, 4-11, 19-23, 28-31, 41, iniciais, salas de espera, comentários clínicos, índice de pacientes)
Doutor em Medicina, Universidade Ludwig-Maximilian, Munique, Alemanha.
Professor adjunto, Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, UFRGS.

Ilma Simoni Brum da Silva (Caps. 12-18)
Mestre e Doutora em Ciências Biológicas: Fisiologia, UFRGS.
Pós-Doutora em Encodrinologia Molecular, Faculté de Médecine–Université de Montpellier I, França.
Professora adjunta, Departamento de Fisiologia, UFRGS.

Liane Nanci Rotta (Caps. 44, 45)
Mestre e Doutora em Ciências Biológicas: Bioquímica, UFRGS.
Professora adjunta, Departamento de Ciências Fisiológicas, FFFCMPA.

Luciane Ponzo de Azevedo (Caps. 25-27)
Mestre em Gerontologia Biomédica, PUCRS.
Professora, Faculdade de Farmácia, PUCRS.

Colleen Smith, PhD (falecido)
Professor of Biochemistry
Division of Basic Sciences
Mercer University, School of Medicine
Macon, Georgia

Allan D. Marks, MD
Associate Professor of Internal Medicine
Department of Internal Medicine
Temple University, School of Medicine
Philadelphia, Pennsylvania

Michael Lieberman, PhD
Distinguished Teaching Professor
Department of Molecular Genetics
University of Cincinnati College of Medicine
Cincinnati, Ohio

Bioquímica Médica Básica *de Marks*

Uma Abordagem Clínica

2ª Edição

Illustrações de Matthew Chansky

Consultoria, supervisão e revisão técnica desta edição:

Ana Maria Ponzio de Azevedo
(Caps. 1, 4-9, 19, 20-23, 25-31, 41, iniciais, apêndice)
Professora adjunta, Departamento de Ciências Fisiológicas, FFFCMPA. Mestre em Ciências Biológicas: Bioquímica, UFRGS. Doutora em Informática na Educação, UFRGS.

Carlos Severo Dutra Filho
(Caps. 2, 3, 10, 11, 19, 24, 32-40, 42-49, apêndice, índice de pacientes, índice)
Mestre em Ciências Biológicas: Bioquímica, UFRGS. Doutor em Ciências: Bioquímica, UFPR. Professor adjunto, Departamento de Bioquímica, UFRGS.

Clovis Milton Duval Wannmacher
(Caps. 12-18)
Mestre em Genética e Biologia Molecular, UFRGS. Doutor em Ciências Biológicas: Bioquímica, UFRGS. Professor titular, Departamento de Bioquímica, UFRGS.

Versão impressa
desta obra: 2007

artmed®

2007

Obra originalmente publicada sob o título *Marks' Basic Medical Biochemistry: a Clinical Approach, Second Edition*

ISBN 0-7817-2145-8

Copyright © 2005 Lippincott Williams & Wilkins, a division of Wolters Kluwer Health, Inc.
Published by arrangement with Lippincott Williams & Wilkins, U.S.A.
Tradução em língua portuguesa autorizada conforme acordo firmado com Lippincott Williams & Wilkins, U.S.A.

As indicações, reações, formas de administração e dosagens para os medicamentos que aparecem neste livro são precisos mas poderão sofrer alteração com o tempo. O leitor deverá sempre consultar a bula antes de utilizar a informação contida neste livro.

Capa: *Mário Röhnelt*

Preparação de original: *Daniele Azambuja de Borba Cunha, Luana Janini Peixoto*

Leitura final: *Joana Jurema Silva da Silva*

Supervisão editorial: *Letícia Bispo de Lima*

Editoração eletrônica: *Laser House*



S644b Smith, Colleen
Bioquímica médica básica de Marks [recurso eletrônico] : uma abordagem clínica / Colleen Smith, Allan D. Marks, Michael Lieberman ; tradução Ângela de Mattos Dutra ... [et al.]. – 2. ed. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre : Artmed, 2007.

Editado também como livro impresso em 2007.
ISBN 978-85-363-0941-5

1. Bioquímica - Medicina. I. Marks, Allan D. II. Lieberman, Michael. III. Título.

CDU 577.1:61

Catalogação na publicação: Juliana Lagôas Coelho – CRB 10/1798

Reservados todos os direitos de publicação, em língua portuguesa, à
ARTMED® EDITORA S.A.
Av. Jerônimo de Ornelas, 670 - Santana
90040-340 Porto Alegre RS
Fone (51) 3027-7000 Fax (51) 3027-7070

É proibida a duplicação ou reprodução deste volume, no todo ou em parte, sob quaisquer formas ou por quaisquer meios (eletrônico, mecânico, gravação, fotocópia, distribuição na Web e outros), sem permissão expressa da Editora.

SÃO PAULO
Av. Angélica, 1091 - Higienópolis
01227-100 São Paulo SP
Fone (11) 3665-1100 Fax (11) 3667-1333

SAC 0800 703-3444

IMPRESSO NO BRASIL
PRINTED IN BRAZIL

Dedicatória

Dedicamos esta edição a dois co-autores do livro original, *Basic medical biochemistry: a clinical aprroach,* os Drs. Dawn Marks e Colleen Smith. Sua visão, seu entusiasmo desfraldado e sua habilidade para simplificar o complexo foram reconhecidos diversas vezes durante suas carreiras com a mais alta premiação por excelência em ensino oferecida pela Universidade e pela Faculdade de Medicina de suas respectivas instituições. Essas qualidades, aliadas à sua convicção de que se aprende e se retém informação relacionada à medicina mais efetivamente quando ela é reforçada com correlação clínica, foram as forças teóricas que levaram ao delineamento e ao propósito da 1ª edição.

Suas mortes prematuras (Dawn em 2000 e Colleen em 2002) interromperam seu trabalho de revisão do livro. Entretanto, seus desejos e planos para a 2ª edição foram também nossos desejos e planos. Tentamos permanecer fiéis às suas visões e, dessa forma, honrar suas memórias.

Allan D. Marks, MD
Michael A. Lieberman, PhD

Esta página foi deixada em branco intencionalmente,

Prefácio à 2ª Edição

Bioquímica médica básica de Marks: uma abordagem clínica, 2ª edição, visa a cobrir a bioquímica humana de maneira completa, sem, no entanto, detalhes excessivos. O objetivo deste livro é ajudar os estudantes a aprenderem a utilizar a bioquímica no processo de solução de problemas clínicos. O texto não apenas fornece uma base de informação completa e unificada, como também encoraja o uso da informação básica dentro de um contexto clínico.

O material clínico é apresentado na forma de "pacientes", criados a partir da observação de um dos autores (Dr. Allan D. Marks) em sua prática de medicina interna. Esses pacientes têm nomes que servem como recurso mnemônico para as histórias dos casos. À medida que os capítulos avançam, os pacientes aparecem e reaparecem, e seus problemas vão sendo examinados sob a luz dos conceitos bioquímicos tratados no texto. Muitos são vistos repetidamente com exacerbações ou novas facetas de seu problema original ou com problemas não-relacionados que requerem atenção médica. Os pacientes são pessoas com personalidades e traços que devem ser considerados em seu tratamento. Alguns aderem ao plano de tratamento, outros não. Alguns ficam curados, alguns ficam progressivamente piores – apesar do tratamento apropriado – e, como na vida real, alguns morrem.

NOVIDADES NESTA EDIÇÃO

Houve um longo intervalo entre a 1ª e a 2ª edições deste livro (oito anos). Isso foi devido, em parte, à morte de dois autores da 1ª edição, Dawn Marks e Colleen Smith. Em homenagem à visão de Dawn Marks para a 1ª edição, bem como suas observações a respeito da 2ª, o livro foi renomeado *Bioquímica médica básica de Marks: uma abordagem clínica.*

O objetivo de revisar este livro foi retomar a natureza direta da bioquímica e continuar a integrar aplicações médicas. Uma alteração importante realizada na 2ª edição é a completa renovação das questões no final dos capítulos: elas agora se assemelham mais a questões do USMLE (*United States Medical Licensing Examination*) e possuem explicações completas. Outra alteração significativa é a inclusão da seção "Tecidos" no final do livro, a qual apresenta a aplicação da bioquímica na fisiologia de diferentes órgãos e tecidos. Para a inclusão dessa nova seção, foi necessária a reestruturação dos capítulos anteriores. As alterações específicas realizadas na organização e no conteúdo do livro são as seguintes:

1. Todos os capítulos foram atualizados no que era necessário.
2. O metabolismo de nucleotídeos recebeu seu próprio capítulo (Capítulo 41), devido à sua importância na compreensão de vários tipos de fármacos que interferem na síntese de DNA.
3. A seção de Endocrinologia Molecular (Capítulos 43 a 47 da 1ª edição) foi eliminada, já que se sobrepunha consideravelmente com o que é ensinado em muitos cursos de fisiologia das Faculdades de Medicina. O material que pemaneceu foi distribuído para outros capítulos (a biossíntese de hormônios esteróides foi movida para o Capítulo 34 [o capítulo sobre metabolismo de colesterol]; o mecanismo de ação de hormônios esteróides é apresentado no Capítulo 11 [o capítulo sobre bioquímica e biologia celular], e o mecanismo de ação de hormônios, exceto insulina e glucagon, os quais regulam metabolismo de substratos energéticos, é apresentado no Capítulo 43).

5. Foi adicionado um novo capítulo, que trata do metabolismo de etanol (Capítulo 25).
6. Os Capítulos 5 e 6 da 1ª edição (relação de química orgânica com bioquímica e estrutura dos principais compostos do corpo) foram combinados (ambos os tópicos são tratados no Capítulo 5 desta edição).
7. O Capítulo 9 da 1ª edição, intitulado Enzimas, foi dividido em dois capítulos na 2ª edição (Capítulo 8, Enzimas como Catalisadores, e Capítulo 9, Regulação de Enzimas).
8. O Capítulo 24 da 1ª edição (conceitos básicos na regulação de metabolismo de substratos energéticos por insulina, glucagon e outros hormônios) teve seu conteúdo dividido entre o Capítulo 11 (sinalização celular por compostos químicos) e o Capítulo 26 (regulação do metabolismo de substratos energéticos por insulina e glucagon) desta edição.
9. O conteúdo dos Capítulo 28 e 29 da 1ª edição (rota da pentose-fosfato e rotas de interconversão de açúcares) foi combinado com o relacionado a células sangüíneas vermelhas e foi movido para o Capítulo 44, na nova seção de tecidos.
10. O Capítulo 30 da 2ª edição não contém informação a respeito de proteoglicanos, a qual foi movida para a seção de tecido conjuntivo, Capítulo 49.
11. O Capítulo 31 da 2ª edição, gliconeogênese e manutenção da glicose sangüínea durante jejum, contém assuntos dos Capítulos 27 e 31 da 1ªedição.
12. A seção sobre tecidos contém capítulos sobre hormônios que regulam metabolismo de substratos energéticos (Capítulo 43), componentes do sangue (Capítulo 44), reações de sangue (Capítulo 45), metabolismo hepático (Capítulo 46), metabolismo muscular (Capítulo 47), metabolismo do sistema nervoso (Capítulo 48) e metabolismo do tecido conjuntivo (Capítulo 49). O conteúdo da 1ª edição que foi movido para a seção sobre tecidos inclui a biossíntese do heme e a ligação de oxigênio à hemoglobina (Capítulo 44), a cascata de coagulação sangüínea (Capítulo 45), o metabolismo de proteoglicanos (Capítulo 49), a biossíntese de colágeno (Capítulo 49) e a biossíntese de neurotransmissores (Capítulo 48). O conteúdo novo nessa seção inclui o metabolismo xenobiótico (Capítulo 46), a diferenciação de células sangüíneas (Capítulo 44), a regulação do uso de energia pelo músculo (Capítulo 47) e uma explicação mais detalhada sobre as proteínas do tecido conjuntivo (Capítulo 49).

COMO UTILIZAR ESTE LIVRO

Ícones identificam os vários componentes do livro: os pacientes que são apresentados no início de cada capítulo, as observações clínicas, as observações bioquímicas, questões e respostas que aparecem nas margens das páginas e os comentários clínicos e bioquímicos que são encontrados no final de cada capítulo.

Ao início de cada capítulo, o conteúdo desse é resumido de modo que os estudantes possam identificar as palavras-chave e os conceitos a serem ensinados. O componente seguinte é a "Sala de Espera", que apresenta pacientes com queixas e uma descrição dos eventos que os levaram a buscar ajuda médica.


indica paciente do sexo feminino


indica paciente do sexo masculino


indica paciente bebê ou criança jovem

À medida que cada capítulo se desenvolve, aparecem ícones na margem das páginas, identificando informações relacionadas ao conteúdo a ser abordado:


indica uma nota clínica, em geral relacionada aos pacientes na sala de espera do capítulo. Essas notas explicam sinais ou sintomas de um paciente ou fornecem alguma outra informação clínica relevante para o texto


indica uma observação do livro, a qual discute alguns aspectos de bioquímica básica apresentados no texto. Essas observações fornecem detalhes, comentários ou apenas enfatizam um ponto importante no texto

Questões e respostas também aparecem na margem das páginas, para ajudar a manter os estudantes raciocinando à medida que lêem o texto:



indica uma questão



indica a resposta à questão. Essa resposta está localizada sempre na página seguinte à da questão. Se duas questões aparecem, as respostas são apresentadas em ordem na página seguinte

Cada capítulo finaliza com "Comentários Clínicos" e "Comentários Bioquímicos":


indica comentários clínicos adicionais, freqüentemente descrevendo o plano de tratamento e a evolução


indica comentários bioquímicos adicionais, com informações não-tratadas no texto ou que exploram alguma faceta bioquímica em mais detalhe ou por outro ângulo

"Leituras Sugeridas" são listadas no final do capítulo para estudantes que quiserem estudar um tópico em maior profundidade. Foram adicionados comentários sobre as referências sugeridas para auxiliar os leitores na seleção daquelas fontes mais direcionadas ao seu propósito ou interesse particular.

Finalmente, "Questões de Revisão" são apresentadas. Essas questões são escritas em um formato semelhante ao do USMLE, e muitas delas têm um enfoque clínico. Respostas às questões de revisão, juntamente com explicações, são fornecidas no apêndice.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Dr. Wayne Glasgow pelo texto inicial do Capítulo 35; ao Dr. Kris Detmer por sua contribuição nos Capítulos 44 e 45; ao Dr. Bruce Giffin pela revisão e melhora substancial dos Capítulos 47 e 48; ao Dr. Winston Kao por seu auxílio com o Capítulo 49. Além disso, agradecemos à Dra. Anna Walker, que leu os textos preliminares dos Capítulos 44 e 45; à Angela Thompson, que revisou muitos dos capítulos anteriores para o Dr. Smith, e a Cuhlen Scott, estudante de medicina que realizou pesquisa bibliográfica para a 2ª edição. Agradecemos a todos os revisores que trabalharam arduamente para revisar os capítulos e que fizeram excelentes sugestões para revisões. Matt Chansky, o ilustrador, merece grande consideração por interpretar nos-

sos desenhos e criar as excelentes ilustrações no texto. Kathleen Scogna, a editora de desenvolvimento, mostrou imensa paciência com os autores, e também merece muita consideração.

Qualquer erro no texto é de responsabilidade dos autores, e o Dr. Lieberman gostaria de ser informado de tais erros. Finalmente, o Dr Lieberman gostaria de agradecer os últimos 20 anos de estudantes de medicina de primeiro ano da Faculdade de Medicina da Universidade de Cincinati, que lidaram com várias tentativas de ensinar bioquímica, enquanto mantinham no fundo de suas mentes a pergunta "como isso é relevante para a medicina?". Os comentários que esses estudantes fizeram tiveram grande influência na maneira como este livro foi organizado.

Sumário

Parte Um. Metabolismo de Substratos Energéticos

1. Substratos Energéticos Metabólicos e Componentes Dietéticos 3
2. O Estato Alimentado ou Absortivo 22
3. Jejum 30

Parte Dois. Fundamentos Químicos e Biológicos da Bioquímica

4. Água, Ácidos, Bases e Tampões 41
5. Estruturas dos Principais Compostos do Corpo 54
6. Aminoácidos em Proteínas 72
7. Relações Estrutura-Função nas Proteínas 92
8. Enzimas como Catalisadores 115
9. Regulação de Enzimas 138
10. Relação entre Biologia Celular e Bioquímica 157
11. Sinalização Celular por Mensageiros Químicos 184

Parte Três. Expressão Gênica e a Síntese de Proteínas

12. Estrutura dos Ácidos Nucleicos 207
13. Síntese de DNA 222
14. Transcrição: Síntese de RNA 237
15. Tradução: Síntese de Proteínas 258
16. Regulação da Expressão Gênica 274
17. Uso de Técnicas de DNA Recombinante em Medicina 297
18. A Biologia Molecular do Câncer 317

Parte Quatro. Oxidação de Substratos Energéticos e Produção de ATP

19. Bioenergética Celular: ATP e O_2 341
20. Ciclo do Ácido Tricarboxílico 360
21. Fosforilação Oxidativa e Função Mitocondrial 380
22. Produção de ATP a Partir de Glicose: Glicólise 399
23. Oxidação de Ácidos Graxos e Corpos Cetônicos 418
24. Toxicidade do Oxigênio e Danos por Radicais Livres 439
25. Metabolismo do Etanol 458

Parte Cinco. Metabolismo de Carboidratos

26. Conceitos Básicos na Regulação do Metabolismo de Substratos Energéticos por Insulina, Glucagon e Outros Hormônios 477

27. Digestão, Absorção e Transporte de Carboidratos 493

28. Formação e Degradação de Glicogênio 511

29. Rotas do Metabolismo de Carboidratos: Rota da Pentose-Fosfato, Frutose e Metabolismo da Galactose 527

30. Síntese de Glicosídeos, Lactose, Glicoproteínas e Glicolipídeos 542

31. Gliconeogênese e Manutenção dos Níveis Sangüíneos de Glicose 556

Parte Seis. Metabolismo de Lipídeos

32. Digestão e Transporte dos Lipídeos da Dieta 583

33. Síntese de Ácidos Graxos, Triacilgliceróis e dos Principais Lipídeos de Membrana 594

34. Absorção, Síntese, Metabolismo e Destino do Colesterol 619

35. Metabolismo dos Eicosanóides 654

36. Integração do Metabolismo de Carboidratos e Lipídeos 668

Parte Sete. Metabolismo do Nitrogênio

37. Digestão de Proteínas e Absorção de Aminoácidos 687

38. Destino do Nitrogênio dos Aminoácidos: Ciclo da Uréia 732

39. Síntese e Degradação de Aminoácidos 712

40. Tetraidrofolato, Vitamina B12 e *S*-Adenosilmetionina 732

41. Metabolismo de Purinas e Pirimidinas 747

42. Relações Interteciduais no Metabolismo de Aminoácidos 762

Parte Oito. Metabolismo Tecidual

43. Ações de Hormônios que Regulam o Metabolismo Energético 783

44. A Bioquímica do Eritrócito e de Outras Células Sangüíneas 805

45. Proteínas Palsmáticas do Sangue, Coagulação e Fibrinólise 827

46. Metabolismo do Fígado 842

47. Metabolismo do Músculo em Repouso e Durante Exercício 862

48. Metabolismo do Sistema Nervoso 881

49. Matriz Extracelular e Tecido Conjuntivo 905

Apêndice: Repostas às Questões de Revisão 921

Índice 945

Metabolismo de Substratos Energéticos

Para sobreviver, os seres humanos devem preencher dois requisitos metabólicos: ser capazes de sintetizar tudo que não é suprido pela dieta e de proteger o meio interno de toxinas e de condições variáveis no meio externo. Para preencher esses requisitos, os componentes dietéticos são metabolizados por meio de quatro tipos básicos de rotas: rotas oxidativas de substratos energéticos, rotas de armazenamento e mobilização de substratos energéticos, rotas biossintéticas e rotas de detoxicação e excreção de resíduos. Cooperação entre tecidos e respostas a alterações no meio externo são comunicadas através de rotas de transporte e rotas de sinalização intracelular (Figura 1).

Os alimentos da dieta são os substratos que fornecem energia na forma de calorias. Essa energia é utilizada para a realização de diversas funções, como movimento, pensamento e reprodução. Assim, algumas rotas metabólicas são *rotas de oxidação de substratos energéticos*, que convertem substratos energéticos em energia que pode ser utilizada para trabalho biossintético ou mecânico. Todavia, qual é a fonte de energia quando não estamos nos alimentando – entre as refeições e quando dormimos? Como alguém em greve de fome, que aparece nas manchetes dos jornais, sobrevive por tanto tempo? Existem outras rotas metabólicas que são *rotas de armazenamento de substratos energéticos*. Os substratos energéticos que são armazenados podem ser mobilizados durante períodos nos quais não estamos nos alimentando ou quando é necessário um aumento de energia para exercício.

Nossa dieta também contém os compostos que não podem ser sintetizados pelo corpo, bem como todos os blocos básicos de montagem para componentes que são sintetizados nas *rotas biossintéticas.* Por exemplo, há necessidades dietéticas de alguns aminoácidos, mas outros aminoácidos podem ser sintetizados a partir dos substratos energéticos e de um precursor de nitrogênio da dieta. Os compostos necessários na dieta para as rotas biossintéticas incluem certos aminoácidos, vitaminas e ácidos graxos essenciais.

Rotas de detoxicação e *excreção de resíduos* são rotas metabólicas dedicadas à remoção de toxinas que podem estar presentes na dieta ou no ar que respiramos, introduzidas no corpo como fármacos ou geradas internamente a partir do metabolismo de componentes da dieta. Os componentes da dieta que não têm valor para o corpo e devem ser descartados são chamados de xenobióticos.

Em geral, as rotas biossintéticas (incluindo armazenamento de substratos energéticos) são referidas como *rotas anabólicas,* isto é, rotas que sintetizam grandes moléculas a partir de componentes menores. A síntese de proteínas é um exemplo de uma rota anabólica. *Rotas catabólicas* são aquelas que quebram moléculas maiores em componentes menores. Rotas de oxidação de substratos energéticos são exemplos de rotas catabólicas.

Nos humanos, a necessidade de diferentes células realizarem diferentes funções resultou na especialização dos metabolismos celular e tecidual. Por exemplo, o tecido adiposo é um sítio especializado no armazenamento de gordura e contém as rotas metabólicas que lhe permitem realizar essa função. Contudo, ele não possui muitas das rotas que sintetizam compostos necessários a partir dos precursores da dieta. Para permitir que as células cooperem na obtenção de necessidades metabólicas durante condições variáveis de dieta, sono, atividade e saúde, são necessárias *rotas de transporte* no sangue entre tecidos e *rotas de sinalização intracelular.* Um meio de comunicação são os *hormônios,* os quais levam sinais sobre o estado dietético aos tecidos. Por exemplo,

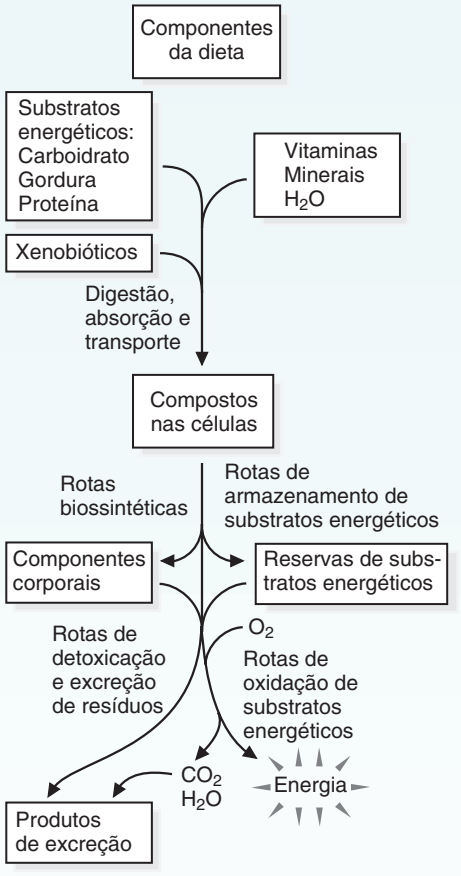


Figura 1.1 Rotas metabólicas gerais para os componentes da dieta no corpo. Os tipos de rotas estão indicados em azul.

uma mensagem de que uma refeição acabou de ser feita, levada pelo hormônio insulina, sinaliza ao tecido adiposo para ele armazenar gordura.

Na seção seguinte, será fornecida uma visão geral de vários tipos de componentes da dieta e exemplos das rotas envolvidas na utilização desses componentes. Serão descritos os substratos energéticos da dieta, os compostos produzidos por sua digestão e os padrões básicos do metabolismo de substratos energéticos nos tecidos do corpo. Além disso, será descrito também como esses padrões se alteram quando nos alimentamos, quando fazemos jejum por tempo curto e por períodos prolongados. Serão apresentados pacientes com problemas médicos que envolvem uma inabilidade de lidar normalmente com os substratos energéticos. Esses pacientes aparecerão repetidamente no livro, e outros pacientes irão se juntar a eles na medida em que a Bioquímica for explorada mais profundamente.

1 Substratos Energéticos Metabólicos e Componentes Dietéticos

Metabolismo de substratos energéticos. *Os substratos energéticos são obtidos principalmente de* ***carboidratos***, ***gorduras*** *e* ***proteínas*** *da dieta. Quando nos alimentamos, os alimentos são* ***digeridos*** *e* ***absorvidos***. *Os produtos da digestão circulam no sangue, entram em vários tecidos e são eventualmente captados por células e* ***oxidados*** *para produzir* ***energia***. *Para converter completamente os substratos energéticos a dióxido de carbono (CO_2) e água (H_2O), é necessário* ***oxigênio*** *molecular (O_2), obtido a partir da respiração, a qual é responsável também por eliminar* ***dióxido de carbono*** *(CO_2), que é produzido pela oxidação dos alimentos.*

Reservas de substratos energéticos. *Qualquer substrato energético da dieta que exceder as necessidades imediatas de energia é armazenado, principalmente, como* ***triacilglicerol*** *(gordura) no tecido adiposo, como* ***glicogênio*** *(um carboidrato) no músculo, no fígado e em outras células e, em alguma quantidade, como* ***proteína*** *no músculo. Quando se está jejuando, entre refeições e durante a noite, enquanto se dorme, o substrato energético é retirado dessas reservas e é oxidado para fornecer energia (Figura 1.1).*

Necessidade de substratos energéticos. *Todos os dias, é necessário energia suficiente para realizar as* ***funções básicas*** *do corpo e para manter a* ***atividade física***. *Se não forem consumidos todos os dias alimentos suficientes para manter essa quantidade de energia, as reservas de substratos energéticos do corpo fornecem o restante, e ocorre perda de peso. Inversamente, se forem consumidos mais alimentos do que o necessário para a energia gasta, as reservas de substratos energéticos corporais aumentam, e ocorre ganho de peso.*

Outras necessidades dietéticas. *Além de fornecer energia, a dieta fornece* ***precursores*** *para as* ***biossínteses*** *de compostos necessários para a estrutura, função e sobrevivência celular e tecidual. Entre esses precursores, estão* ***ácidos graxos essenciais*** *e* ***aminoácidos*** *essenciais (aqueles que o corpo necessita, mas não pode sintetizar). A dieta também deve fornecer* ***vitaminas***, ***minerais*** *e* ***água***.

Eliminação de resíduos. *Componentes da dieta que podem ser utilizados são referidos como nutrientes. Contudo, a dieta e o ar que respiramos contêm* ***compostos xenobióticos*** *que não têm utilização ou valor no corpo humano e podem ser tóxicos. Tais compostos são excretados na urina e nas fezes juntamente com produtos de excreção.*

Nutrientes essenciais
- Substratos energéticos
  - Carboidratos
  - Gorduras
  - Proteínas
- Componentes necessários
  - Aminoácidos essenciais
  - Ácidos graxos essenciais
  - Vitaminas
  - Minerais
  - Água

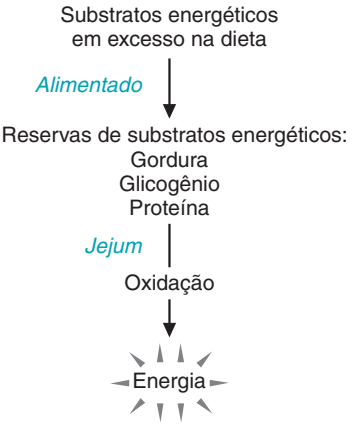


Figura 1.1 Destino do excesso de subtratos energéticos na dieta nos estados alimentado e de jejum.

SALA DE ESPERA

Percy Veere tem 59 anos e é um professor que tinha boa saúde até sua esposa morrer subitamente. Desde então, ele tem apresentado uma fadiga crescente e perdeu o interesse por muitas das atividades que ele anteriormente gostava. Pouco antes de sua esposa falecer, um de seus filhos se mudou para longe de casa.

Percy Veere tem uma grande força de vontade. Ele está sofrendo uma depressão reativa grave após a perda de sua esposa. Além disso, ele teve de lidar com seu neto hiperativo, Dennis (o travesso) Veere, que, às vezes, apresenta comportamento com risco à vida. Apesar de tudo isso, ele "persevera".

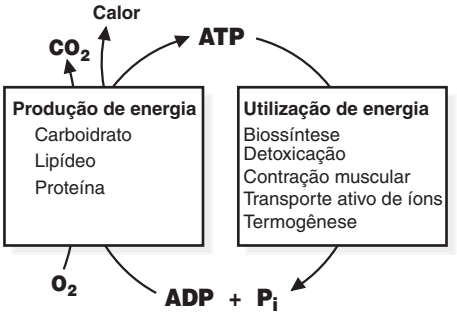


Figura 1.2 O ciclo ATP-ADP.

As rotas oxidativas são catabólicas, ou seja, elas quebram moléculas. Em contraste, rotas anabólicas formam moléculas a partir de peças componentes.

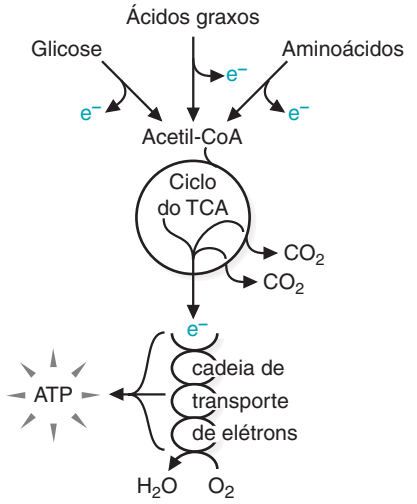


Figura 1.3 Geração de ATP a partir de componentes de substratos energéticos durante a respiração. Glicose, ácidos graxos e aminoácidos são oxidados a acetil-CoA, um substrato para o ciclo do TCA. No ciclo do TCA, eles são completamente oxidados a CO_2. Quando substratos energéticos são oxidados, elétrons (e^-) são transferidos para o O_2 pela cadeia de transporte de elétrons, e a energia utilizada é ATP.

Desde então, o Sr. Veere perdeu o apetite. Quando uma vizinha o encontrou dormindo de roupa, despenteado e confuso, ela chamou uma ambulância. O Sr. Veere foi internado na unidade psiquiátrica do hospital com um diagnóstico de depressão associada à desidratação e desnutrição.

Otto Shape tem 25 anos e é um estudante de medicina que praticava muitos esportes durante o colégio e os primeiros anos de faculdade, mas agora está "fora de forma". Desde que começou a faculdade, ele tem ganhado peso (1,78 m de altura, ele atualmente pesa 84,9 Kg). Ele decidiu consultar um médico no serviço de saúde para os estudantes antes que o problema ficasse pior.

Ivan Applebod é um contador de 56 anos que tem obesidade mórbida há alguns anos. Ele exibe um padrão de obesidade central, "em forma de maçã", a qual é causada por excesso de tecido adiposo depositado na área abdominal. Suas principais atividades recreativas são assistir à televisão enquanto bebe uísque com soda limonada e trabalhar ocasionalmente no jardim. Em um piquenique da companhia onde trabalha, ficou "tonto" enquanto jogava beisebol e decidiu que era hora de realizar um exame médico geral. Ao exame, ele pesava 120 kg com 1,78 m de altura. Sua pressão sangüínea estava levemente elevada – 155 mm Hg sistólica (normal = 140 mm Hg ou menos) e 95 mm Hg diastólica (normal = 90 mm Hg ou menos).

Ann O'Rexia tem 23 anos e é compradora de uma loja feminina. Apesar de medir 1,70 m, ela pesa 45 kg. Ann está convencida que ela está gorda. Dois meses atrás, ela iniciou um programa de exercícios diários que consiste em 1 hora de corrida todas as manhãs e 1 hora de caminhada todas as noites. Ela também decidiu consultar um médico sobre uma dieta para redução de peso.

I. SUBSTRATOS ENERGÉTICOS DA DIETA

Os principais substratos energéticos que são obtidos da dieta são carboidratos, proteínas e gorduras. Quando esses substratos energéticos são oxidados a CO_2 e H_2O nas células, é liberada energia pela transferência de elétrons para o O_2. A energia desse processo de oxidação gera calor e trifosfato de adenosina (ATP) (Figura 1.2). O dióxido de carbono viaja pelo sangue para os pulmões, onde é expirado, e a água é excretada na urina, no suor e em outras secreções. Embora o calor gerado pela oxidação de substratos energéticos seja utilizado para manter a temperatura corporal, o principal propósito desse processo é gerar ATP. O ATP fornece a energia que move a maioria dos processos que consomem energia na célula, incluindo reações de biossíntese e transporte ativo através de membranas. À medida que esses processos utilizam energia, o ATP é convertido novamente em difosfato de adenosina (ADP) e fosfato inorgânico (P_i). A geração e a utilização de ATP são referidas como o ciclo ATP-ADP.

A oxidação de substratos energéticos para gerar ATP é chamada de respiração (Figura 1.3). Antes da oxidação, carboidratos são convertidos principalmente em glicose; gordura, em ácidos graxos, e proteínas, em aminoácidos. As rotas de oxidação da glicose, dos ácidos graxos e dos aminoácidos têm algumas características em comum. Eles primeiro oxidam os substratos energéticos a acetil-CoA, um precursor do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA). O ciclo TCA é uma série de reações que completam a oxidação de substratos energéticos a CO_2 (ver Capítulo 19). Elétrons perdidos dos substratos energéticos durante as reações oxidativas são transferidos para O_2 por uma série de proteínas na cadeia de transporte de elétrons (ver Capítulo 20). A energia da transferência de elétrons é utilizada para converter ADP e P_i em ATP por um processo conhecido como fosforilação oxidativa.

Em discussões sobre metabolismo e nutrição, a energia é freqüentemente expressa em unidades de calorias. "Caloria", nesse contexto, realmente significa quilocaloria (kcal). A energia é também expressa em joules. Uma quilocaloria é igual a 4,18 quilojoules (kJ). Os médicos tendem a utilizar unidades de calorias, em parte porque é o que seus pacientes utilizam e compreendem.

A. Carboidratos

Os principais carboidratos na dieta humana são o amido, a sacarose, a lactose, a frutose e a glicose. O polissacarídeo amido é a forma de armazenamento de carboidratos em plantas. A sacarose (açúcar de mesa) e a lactose (açúcar do leite) são dissacarídeos, e a frutose e a glicose são monossacarídeos. A digestão converte os carboidratos maiores em monossacarídeos, os quais podem ser absorvidos para a corrente sangüínea. A glicose, um monossacarídeo, é o açúcar predominante no sangue humano (Figura 1.4).

A oxidação de carboidratos a CO_2 e H_2O no corpo produz acerca de 4 kcal/g (Tabela 1.1). Em outras palavras, cada grama de carboidrato que é ingerida libera aproximadamente 4 kcal de energia. Observe que moléculas de carboidratos contêm uma quantidade significativa de oxigênio e já estão parcialmente oxidadas antes de entrarem no corpo humano (ver Figura 1.4).

B. Proteínas

As proteínas são compostas por aminoácidos que são unidos para formar cadeias lineares (Figura 1.5). Além de carbono, hidrogênio e oxigênio, as proteínas contêm aproximadamente 16% de nitrogênio por peso. O processo digestivo quebra proteínas em seus aminoácidos constituintes, os quais entram no sangue. A completa oxidação de proteínas a CO_2, H_2O e NH_4^+ no corpo libera cerca de 4 kcal/g.

C. Gorduras

Gorduras são lipídeos compostos de triacilgliceróis (também chamados de triglicerídeos). Uma molécula de triacilglicerol contém 3 ácidos graxos esterificados a uma porção de glicerol (Figura 1.6).

As gorduras contêm muito menos oxigênio do que há contido em carboidratos ou proteínas. Portanto, elas são mais reduzidas e liberam mais energia quando oxidadas. A oxidação completa de triacilgliceróis a CO_2 e H_2O no corpo libera aproximadamente 9 kcal/g, mais do que duas vezes a energia liberada de uma quantidade equivalente de carboidrato ou proteína.

As "calorias" dos alimentos utilizadas nas conversas de todos os dias são na verdade "Calorias", ou seja, quilocalorias. "Caloria," significando quilocaloria, foi originalmente escrita com C maiúsculo, mas a letra maiúscula deixou de ser utilizada à medida que o termo se tornou popular. Assim, um refrigerante de 1 caloria tem, na verdade, 1 Cal (1 kcal) de energia.

Tabela 1.1 Conteúdo Calórico de Substratos Energéticos

	kcal/g
Carboidrato	4
Gordura	9
Proteína	4
Álcool	7

Q: Uma análise da dieta de **Ann O'Rexia** mostrou que ela ingere 100 g de carboidrato, 20 g de proteínas e 15 g de gordura todos os dias. Quantas calorias ela consome por dia, aproximadamente?

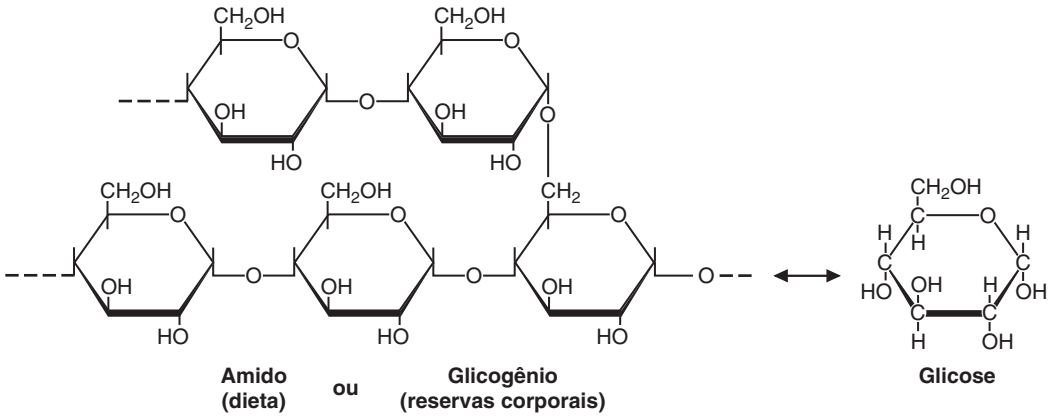


Figura 1.4 Estrutura do amido e do glicogênio. O amido, principal carboidrato da dieta, e o glicogênio, a forma de armazenamento da glicose, têm estruturas similares. Eles são polissacarídeos (muitas unidades de monossacarídeos) compostos de glicose, a qual é um monossacarídeo (uma unidade de açúcar). Dissacarídeos da dieta são compostos por duas unidades de monossacarídeos.

R: A **Srta. O'Rexia** consome
$100 \times 4 = 400$ kcal como carboidrato
$20 \times 4 = 80$ kcal como proteína
$15 \times 9 = 135$ kcal como gordura
um total de 615 kcal/dia.

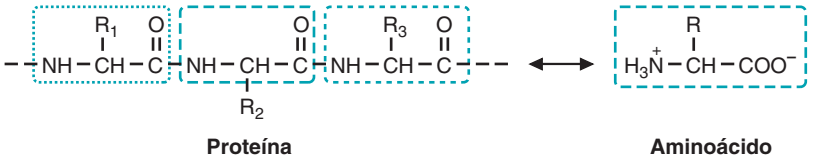


Figura 1.5 Estrutura geral de proteínas e aminoácidos. R = cadeia lateral. Diferentes aminoácidos têm diferentes cadeias laterais. Por exemplo, R1 pode ser $-CH_3$; R2, ⬡; R3, $-CH_2\text{-}COO^-$.

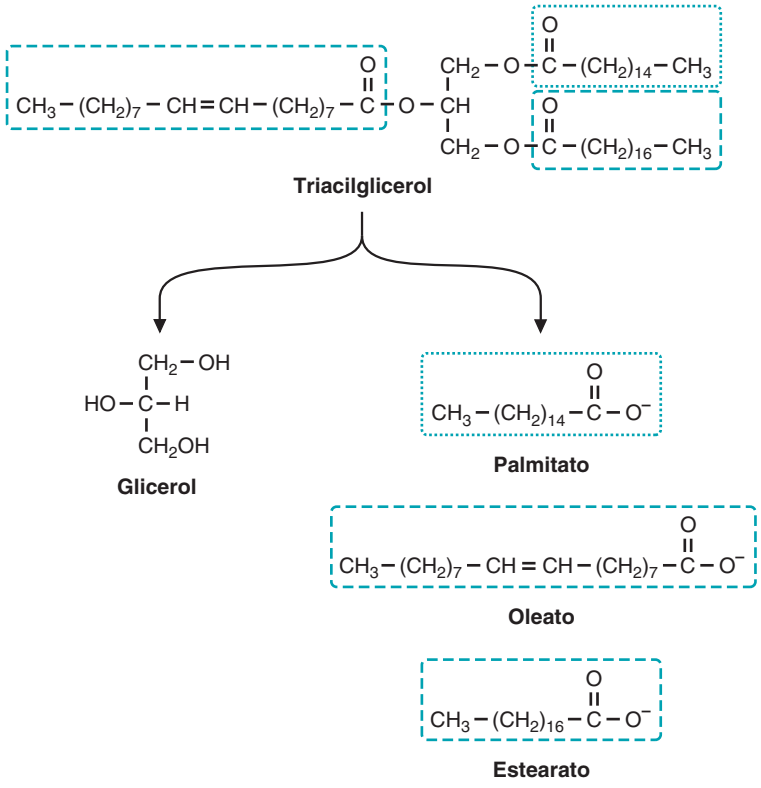


Figura 1.6 Estrutura de um triacilglicerol. O palmitato e o estearato são ácidos graxos saturados, isto é, eles não possuem ligações duplas. O oleato é monossaturado (uma ligação dupla). Ácidos graxos poliinsaturados possuem mais de uma ligação dupla.

D. Álcool

Q: **Ivan Applebod** comia 585 g de carboidratos, 150 g de proteínas e 95 g de gordura a cada dia. Além disso, ele bebia 45 g de álcool. Quantas calorias ele consumia por dia?

Costumava-se acreditar que o álcool (etanol, no contexto da dieta) não tem conteúdo calórico. De fato, o etanol (CH_3CH_2OH) é oxidado a CO_2 e H_2O no corpo e libera aproximadamente 7 kcal/g, isto é, mais do que um carboidrato, mas menos do que gordura.

II. RESERVAS DE SUBSTRATOS ENERGÉTICOS DO CORPO

Não é surpresa que as reservas de substratos energéticos do corpo consistam nos mesmos tipos de compostos encontrados na dieta, porque as plantas e os animais que servem de alimento também armazenam substratos energéticos na forma de amido ou glicogênio, triacilgliceróis e proteínas.

Embora algumas pessoas possam tentar, é praticamente impossível comer de maneira constante. Felizmente, o corpo humano carrega suprimentos de substratos energéticos (Figura 1.7), os quais são leves em peso, grandes em quantidade e prontamente convertidos em substâncias oxidáveis. A principal reserva de substratos energéticos do corpo – familiar à maioria das pessoas – são as gorduras, as quais se localizam no tecido adiposo. Embora seja distribuída pelo corpo, ela tende a aumentar em quantidade na cintura e nas coxas e no abdômen à medida que se avança para a meia-idade. Além das reservas de gordura, o corpo também possui reservas importantes, embora muito menores, de carboidratos na forma de glicogênio localizado principalmente no fígado

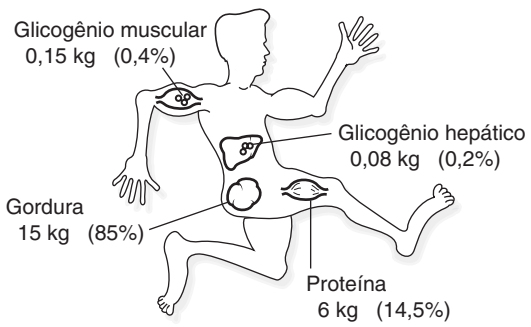


Figura 1.7 Composição de substratos energéticos de um homem médio de 70 kg após um jejum durante a noite (em quilogramas e como porcentagem de calorias totais).

e nos músculos. O glicogênio consiste em resíduos de glicose unidos para formar um polissacarídeo grande, ramificado (ver Figura 1.4). A proteína corporal, particularmente a das grandes massas musculares, também serve, em alguma extensão, como reserva de substratos energéticos quando fazemos jejum.

A. Gordura

A principal reserva de substratos energéticos do corpo é o triacilglicerol adiposo (triglicerídeo), um lipídeo mais comumente conhecido como gordura. Um homem de 70 kg tem aproximadamente 15 kg armazenados como triacilglicerol, o que corresponde a cerca de 85% de suas calorias totais armazenadas (ver Figura 1.7).

Duas características fazem do triacilglicerol adiposo uma reserva de substratos energéticos muito eficiente: o fato de que o triacilglicerol contém mais calorias por grama do que carboidrato ou proteína (9 kcal/g *versus* 4 kcal/g) e o fato de que tecidos adiposos não contêm muita água. O tecido adiposo contém apenas cerca de 15% de água, comparado com tecidos como o músculo, que contém cerca de 80%. Assim, o homem de 70 kg com 15 kg de triacilglicerol armazenado tem apenas cerca de 18 kg de tecido adiposo.

B. Glicogênio

As reservas de glicogênio no fígado, no músculo e em outras células são relativamente pequenas em quantidade, no entanto são importantes. O glicogênio hepático é utilizado para manter níveis de glicose sangüínea entre as refeições. Assim, o tamanho dessa reserva de glicogênio varia durante o dia; um homem de 70 kg pode ter 200 g ou mais de glicogênio hepático após uma refeição, mas apenas 80 g após uma noite de jejum. O glicogênio muscular fornece energia para a contração muscular durante o exercício. Em repouso, o homem de 70 kg possui aproximadamente 150 g de glicogênio muscular. Quase todas as células, incluindo neurônios, mantêm um pequeno suprimento de emergência de glicose como glicogênio.

C. Proteína

As proteínas têm muitos papéis importantes no corpo; diferentes da gordura e do glicogênio, elas não são apenas uma reserva de substratos energéticos. A proteína muscular é essencial para o movimento corporal. Outras proteínas funcionam como enzimas (catalisadores de reações bioquímicas) ou como componentes estruturais de células e tecidos. Apenas uma quantidade limitada de proteína corporal pode ser degradada, – cerca de 6 kg em um homem de 70 kg – antes que as funções corporais sejam comprometidas.

III. GASTO DIÁRIO DE ENERGIA

Para ficar em equilíbrio de energia – não ganhar e não perder peso – deve ser consumida uma quantidade de alimentos igual aos gastos diários de energia. O gasto diário de energia (GDE) inclui a energia para manter o metabolismo basal (taxa metabólica basal

R: O **Sr. Applebod** consumia
585 × 4 = 2.340 kcal como carboidrato
150 × 4 = 600 kcal como proteína
95 × 9 = 855 kcal como gordura
45 × 7= 315 kcal como álcool
um total de 4.110 kcal/dia.

Em bioquímica e nutrição, a referência-padrão é freqüentemente o homem de 70 kg (154 lb). Tal padrão foi escolhido provavelmente porque, na primeira metade do século XX, quando muitos estudos nutricionais foram realizados, estudantes de medicina e de outros cursos de graduação jovens e saudáveis (que eram na maioria homens) se voluntariaram para participar desses experimentos.

O que aconteceria com um homem de 70 kg se as 135.000 kcal armazenadas como triacilgliceróis em seus 18 kg de tecido adiposo fossem armazenadas como glicogênio no músculo esquelético? Seriam utilizados 34 kg de glicogênio para armazenar tantas calorias. O glicogênio, por ser uma molécula polar com grupos –OH, liga aproximadamente 4 vezes seu peso na água, ou 136 kg. Assim, suas reservas de substratos energéticos pesam 170 kg.

Gasto diário de energia = TMR + atividade física + TID, em queTMR é a taxa metabólica de repouso, e TID é a termogênese induzida pela dieta. Indiferentemente, a TMB (taxa metabólica basal) pode ser utilizada nessa equação no lugar de TMR.

ou taxa de metabolismo em repouso) e a atividade física mais a energia necessária para processar o alimento que é ingerido (termogênese induzida por dieta).

A. Taxa Metabólica de Repouso

A taxa metabólica de repouso (TMR) é uma medida da energia necessária para manter a vida – o funcionamento de pulmões, rins e cérebro, o bombeamento do coração, a manutenção de gradientes iônicos através de membranas, etc. Outro termo utilizado para descrever o metabolismo basal é a taxa metabólica basal (TMB). A TMB foi originalmente definida como o gasto de energia de uma pessoa mental e corporalmente em repouso em um ambiente de temperatura neutra 12 a 18 horas após uma refeição. Contudo, quando uma pessoa está acordada e sua produção de calor ou consumo de oxigênio é medida, ela não está mais dormindo ou totalmente em repouso mental, e sua taxa metabólica é chamada de taxa metabólica de repouso (TMR) ou, algumas vezes, de gasto de energia em repouso (GER). Os valores de TMR e TMB diferem pouco.

A TMB, a qual é usualmente expressa em kcal/dia, é afetada por tamanho corporal, idade, sexo e outros fatores (Tabela 1.2). Ela é proporcional à quantidade de tecido metabolicamente ativo (incluindo os órgãos principais) e à massa corporal magra (ou livre de gordura). Obviamente, a quantidade de energia para funções basais em uma pessoa grande é maior do que a quantidade necessária em uma pessoa pequena. Contudo, a TMB é geralmente mais baixa para mulheres do que para homens do mesmo peso, porque as mulheres, em geral, possuem mais tecido adiposo metabolicamente inativo. A temperatura corporal também afeta a TMB, a qual aumenta em 12% com cada grau centígrado aumentado na temperatura corporal (ou seja, "alimentação aumenta a temperatura corporal/jejum causa sensação de frio"). A temperatura ambiente também afeta a TMB, que aumenta levemente em climas mais frios, quando a termogênese é ativada. A secreção excessiva do hormônio tireóideo (hipertireoidismo) causa aumento da TMB, enquanto a secreção diminuída (hipotireoidismo) causa sua diminuição. A TMB aumenta durante a gestação e a lactação. Crianças em crescimento apresentam uma TMB mais alta por quilograma de corpo do que adultos, porque uma proporção maior de seus corpos é composta de cérebro, músculo e outros tecidos metabolicamente ativos. A TMB declina em indivíduos mais velhos, porque nestes o tecido metabolicamente ativo está diminuindo, e a gordura corporal está aumentando. Além disso, existem grandes variações na TMB de um adulto para outro, determinadas por fatores genéticos.

Uma estimativa grosseira da TMB pode ser obtida se esta for considerada como 24 kcal/dia/kg de peso corporal e multiplicada pelo peso corporal. Uma maneira fácil de lembrar disso é 1 kcal/kg/h. Essa estimativa funciona melhor para indivíduos que estão próximos a seu peso ideal. Métodos mais acurados para calcular a TMB utilizam equações empiricamente derivadas para diferentes gêneros e grupos etários (Tabela 1.3). Mesmo esses cálculos não consideram a variação entre indivíduos.

Tabela 1.2 Fatores que Afetam TMB Expressa por kg de Peso Corporal

Gênero (mais alta em homens do que em mulheres)
Temperatura corporal (aumentada com febre)
Temperatura ambiental (aumentada no frio)
Estado tireóideo aumentado no hipertireoidismo
Gestação e lactação (aumentada)
Idade (diminui com idade)

Q: Quais são as TMR de **Ivan Applebod** e **Ann O'Rexia**? (Compare o método para uma estimativa grosseira de valores com equações na Tabela 1.3.)

Nutricionistas registrados utilizam tabelas extensas para calcular as necessidades de energia com base em altura, peso, idade e nível de atividade. Um cálculo mais acurado baseia-se na massa livre de gordura (MLG), a qual é igual a massa corporal total menos a massa de tecido adiposo da pessoa. Com MLG, a TMB é calculada por meio da equação TMB = 186 ± MGL × 23,6 kcal/kg por dia. Essa fórmula elimina diferenças entre sexos e entre indivíduos mais velhos e mais novos que são atribuídas à adiposidade relativa. Contudo, a determinação da MLG é relativamente trabalhosa – é necessário pesar o paciente submerso e medir o volume pulmonar residual.

A calorimetria indireta, uma técnica que mede o consumo de O_2 e a produção de CO_2, pode ser utilizada quando determinações mais acuradas são necessárias para pacientes hospitalizados. Um calorímetro indireto portátil é utilizado para medir o consumo de oxigênio e o quociente respiratório (QR), o qual é a razão de O_2 consumido pelo CO_2 produzido. O QR é 1,00 para indivíduos que estão oxidando carboidratos, 0,83 para os que estão oxidando para proteínas e 0,71 para os que estão oxidando gorduras. A partir desses valores, o gasto diário de energia (GDE) pode ser determinado.

B. Atividade Física

Além de contribuir para a TMR, a energia necessária para atividade física contribui para o GDE. A diferença na atividade física entre um estudante e um madeireiro é enorme, e um estudante que é relativamente sedentário durante a semana pode ser muito

Tabela 1.3 Equação para Predizer TMB a Partir do Peso Corporal (P) em kg

Homens		Mulheres	
Faixa Etária (anos)	**TMB kcal/dia**	**Faixa Etária (anos)**	**TMB kcal/dia**
0-3	60,9 P – 54	0-3	61,0 P – 51
3-10	22,7 P + 495	3-10	22,5 P + 499
10-18	17,5 P + 651	10-18	12,2 P + 746
18-30	15,3 P + 679	18-30	14,7 P + 496
30-60	11,6 P + 879	30-60	8,7 P + 829
> 60	13,5 P + 487	> 60	10,5 P + 596

Fonte: Energy and protein requirements: report of a Joint FAO/WHO/ONU Expert Consultation. Technical report series no. 724. Geneva World Health Organization, 1987:71. Ver também Scholield et al. Hum Nutr Olin Nutr 1985:39 (suppl).

Tabela 1.4 Atividades Típicas com Fatores de Atividade por Hora Correspondentes

Categoria de Atividade	Fatores de Atividade por Hora (por tempo na atividade)
Repouso: dormindo ou reclinado	1,0
Muito leve: realizar atividades sentado e de pé, dirigir, realizar trabalho de laboratório e digitação, costurar, passar a ferro, cozinhar, jogar cartas, tocar um instrumento musical	1,5
Leve: caminhar em uma superfície plana a 4-5 km/h, trabalhar na garagem, fazer manutenção elétrica e carpintaria, trabalhar em um restaurante, limpar a casa, jogar golfe, velejar, jogar tênis de mesa	2,5
Moderado: caminhar a 5,5-6,5 km/h, remover ervas daninhas, carregar cargas, praticar ciclismo, esquiar, jogar tênis, dançar	5,0
Pesado: caminhar montanha acima com carga, derrubar árvore, realizar escavação manual pesada, escalar montanha, jogar basquete, futebol, futebol americano	7,0

Reimpressa com permissão de Recommended Dietary Allowances, 10th Ed. Washington, DC: National Academy Press, 1989.

O fator de atividade por hora é multiplicado pela TMB (TMR) por hora e, então, pelo número de horas utilizado na atividade para dado gasto calórico para aquela atividade. Se ela é feita durante todas as horas em um dia, a soma em 24 horas será aproximadamente igual ao gasto de energia diário.

R: O **Sr. Applebod** pesa 264 lb ou 120 kg (264 lb divididas 2,2 por lb/kg). Sua TMR estimada = 24 kcal/kg/dia × 120 = 2.880 kcal/dia, e sua TMR calculada a partir da Tabela 1.3 é apenas 2.271 kcal (11,6 P + 879 = [11,6 × 120] + 879). A **Srta. O'Rexia** pesa 99 lb ou 45 kg (99/2,2 lb/kg). Sua TMR estimada = (24 kcal/kg/dia) × (45 kg) = 1.080 kcal/dia, e sua TMR a partir da Tabela 1.3 é muito próxima desse valor (14,7 P + 496= 1.157 kcal/dia). Portanto, a estimativa grosseira não funciona bem para pacientes obesos, devido a uma proporção muito maior de seu peso corporal ser de tecido adiposo inativo.

mais ativo durante o fim de semana. A Tabela 1.4 mostra fatores para calcular os gastos de energia aproximados com atividades típicas.

Uma estimativa grosseira da energia necessária por dia para atividade física pode ser feita utilizando-se um valor de 30% da TMR (por dia) para uma pessoa muito sedentária (tal como um estudante de medicina que faz pouco além de estudar) e um valor de 60 a 70% da TMR (por dia) para uma pessoa que se envolve em cerca de 2 horas de exercício moderado por dia (ver Tabela 1.4). Um valor de 100% ou mais da TMR é utilizado por uma pessoa que faz várias horas de exercícios pesados por dia.



Com base nas atividades listadas na Tabela 1.4, o cidadão americano é sedentário. Hábitos sedentários se correlacionam fortemente com doença cardiovascular, então não surpreende que a doença cardiovascular seja a principal causa de morte naquele país.

C. Termogênese Induzida pela Dieta

O GDE inclui um componente relacionado com a ingesta de alimento conhecido como termogênese induzida pela dieta (TID) ou efeito térmico dos alimentos (ETA). A TID era anteriormente chamada de ação dinâmica específica (ADE). Após a ingestão de alimento, a taxa metabólica aumenta devido à energia necessária para digerir, absorver, distribui e armazenar nutrientes.

A energia necessária para processar os tipos e as quantidades de alimentos na dieta americana típica é provavelmente igual a cerca de 10% das calorias ingeridas. Essa quantidade é quase equivalente ao erro envolvido no arredondamento do conteúdo calórico de carboidratos, gordura e proteína para 4, 9 e 4, respectivamente. Portanto, a TID é freqüentemente ignorada, e os cálculos baseiam-se simplesmente na TMR e na energia necessária para atividade física.

D. Cálculos do Gasto Diário de Energia

O gasto total diário de energia é usualmente calculado como a soma da TMR (em kcal/dia) e da energia necessária para a quantidade de tempo gasto em cada um dos diversos tipos de atividade física (ver Tabela 1.4). Um valor aproximado para o gasto diário de energia pode ser determinado a partir da TMR e da porcentagem apropriada da TMR necessária para a atividade física (mostrado anteriormente). Por exemplo, um estudante de medicina muito sedentário teria um GDE igual à TMR mais 30% da TMR (ou 1,3 × TMR), e o gasto diário de uma pessoa ativa poderia ser duas vezes a TMR.

Q: Quais são as estimativas razoáveis para os gastos diários de energia de **Ivan Applebod** e **Ann O'Rexia**?

E. Peso Corporal Saudável

Idealmente, devia haver um esforço para manter um peso consistente com boa saúde. Pessoas com sobrepeso são com freqüência definidas como estando 20% acima de seu peso ideal. Todavia, o que é peso ideal? O índice de massa corporal (IMC), calculado

IMC igual:

Peso/altura^2 (kg/m^2)

Ou

$$\frac{[\text{peso (lbs)} \times 704]}{\text{altura}^2\ (\text{m}^2)}$$

Onde a altura é medida sem sapatos, e o peso é medido com roupas mínimas.
Valores de IMC de:

18,5-24,9 = desejável
< 18,5 = subpeso
25 – 29,9 = sobrepeso
≥ 30 = obeso

Q: **Ivan Applebod** e **Ann O'Rexia** estão em uma faixa de peso saudável?

R: A TMR do **Sr. Applebod** é 2.271 kcal/dia. Ele é sedentário, então necessita de aproximadamente 30% de calorias a mais para sua atividade física. Portanto, seu gasto diário é em torno de 2.271 + (0,3 × 2.271) ou 1,3 × 2.271 ou 2.952 kcal/dia.

A TMR da **Srta. O'Rexia** é 1.157 kcal/dia. Ela realiza duas horas de exercício moderado por dia (correndo e caminhando), então necessita de cerca de 65% mais calorias para sua atividade física. Portanto, seu gasto diário é aproximadamente 1.157 + (0,65 × 1.157) ou 1,65 × 1.157 ou 1.909 kcal/dia.

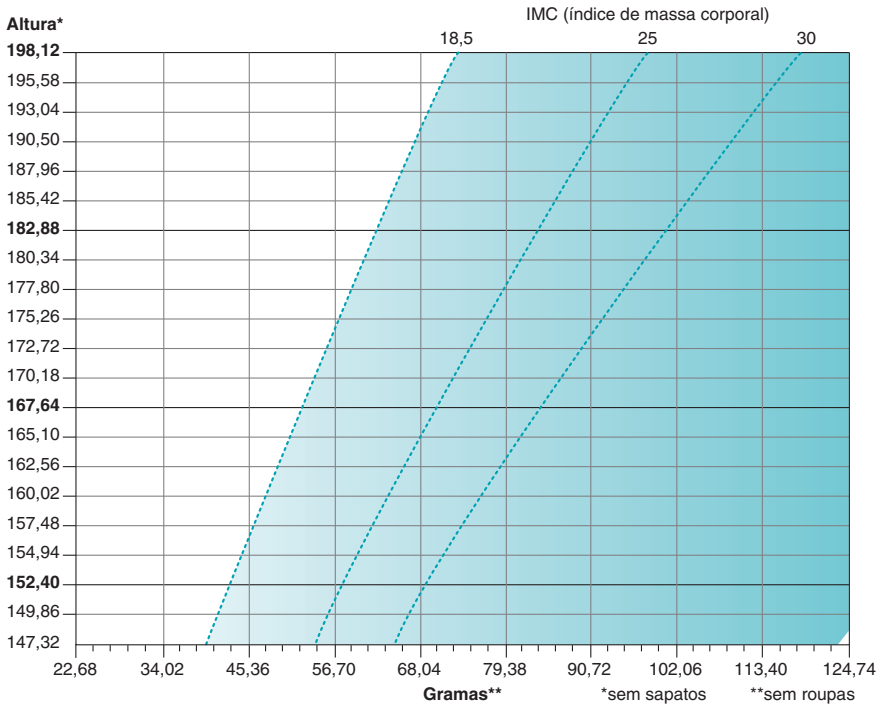
como peso/altura^2 (kg/m^2), é atualmente o método preferido para determinar se o peso da pessoa está em uma faixa saudável.

Em geral, adultos com um valor de IMC inferior a 18,5 são considerados com subpeso, aqueles com IMC entre 18,5 e 24,9 são considerados como estando na faixa saudável de peso, entre 25 e 29,9 estão na faixa de sobrepeso ou pré-obeso e acima de 30 na faixa de obeso.

F. Perda e Ganho de Peso

Para manter o peso corporal, deve-se ficar em equilíbrio calórico, o que ocorre se as quilocalorias nos alimentos são iguais ao GDE. Se são ingeridos menos alimentos do que o necessário para o GDE, as reservas de substratos energéticos fornecem as calo-

Para avaliar o peso de um paciente, os médicos necessitam de padrões de obesidade aplicáveis em uma população geneticamente heterogênea. Empresas de seguro de vida têm sido utilizadas para desenvolver tabelas de variação de peso, com base em gênero, altura e tamanho da forma corporal, que estão associados a maior longevidade, como a tabela *Metropolitan Height and Weight Tables*. Contudo, tais tabelas são consideradas inadequadas por diversas razões (p. ex., elas refletem informações da classe média alta de grupos brancos). O IMC é a classificação que é utilizada clinicamente hoje em dia. Ele se baseia em duas medidas simples, altura sem sapatos e peso com o mínimo de roupas. Os pacientes podem ver seu IMC em um normograma e não precisam realizar cálculos. A faixa de peso saudável coincide com as informações sobre mortalidade derivada das tabelas de seguros de vida. O IMC também mostra uma boa correlação com medidas independentes de gordura corporal. A maior falha do uso de IMC é que indivíduos com muita massa muscular podem ser classificados como obesos quando não o são. Outras medidas para estimar a gordura corporal e outros compartimentos do corpo, tais como pesar indivíduos embaixo d'água, são mais difíceis e caros, consomem tempo e têm sido geralmente utilizados com objetivo de pesquisas.



Se o paciente estiver acima ou abaixo do peso ideal (tal como **Ivan Applebod** ou **Ann O'Rexia**), o médico, freqüentemente com consultoria de um nutricionista, prescreve uma dieta delineada para trazer o peso para a faixa ideal.

rias adicionais, e há perda de peso. Inversamente, se são ingeridos mais alimentos do que o necessário para os gastos de energia, o excesso de substratos energéticos é armazenado (inicialmente no tecido adiposo), e há ganho de peso (Figura 1.8).

Quando o tecido adiposo é utilizado para preencher as necessidades de energia, perde-se aproximadamente 453,6 g quando são gastas por volta de 3.500 calorias a mais do que o consumido. Em outras palavras, se são ingeridas 1.000 calorias a menos do que são gastas por dia, perde-se cerca de 907,2 g/semana. Como a média individual de ingesta de alimentos corresponde a cerca de apenas 2.000 a 3.000 calorias/dia, comer um terço ou a metade da quantidade normal fará a pessoa perder peso lentamente. Dietas da moda, que prometem uma perda de peso muito mais rápida do que essa, não possuem mérito científico. De fato, a perda inicial rápida de peso que ocorre com os que fazem dietas da moda é atribuída à perda de água corporal. Essa perda de água ocorre em parte porque a proteína do tecido muscular e o glicogênio hepático são degradados rapidamente para fornecer energia durante a fase inicial da dieta. Quando o tecido muscular (o qual é aproximadamente 80% água) e o glicogênio (aproximadamente 70% água) são quebrados, essa água é excretada pelo corpo.

IV. NECESSIDADES DIETÉTICAS

Além de fornecer substratos energéticos e blocos de construção para a biossíntese, a dieta também fornece nutrientes específicos que são necessários para que as pessoas se mantenham saudáveis. Deve haver um fornecimento regular de vitaminas e minerais e ácidos graxos essenciais e aminoácidos essenciais. "Essenciais" significa que eles são essenciais na dieta, o corpo não pode sintetizar esses compostos a partir de outras moléculas e, portanto, eles devem ser obtidos da dieta. Nutrientes que o corpo necessita da dieta apenas em certas condições são chamados "condicionalmente essenciais."

A Recomendação Dietética Adequada (*Recommended Dietary Allowance*, RDA) e a Ingesta Adequada (IA) fornecem estimativas quantitativas das necessidades de nutrientes. A RDA para um nutriente é o nível de ingesta média necessária por dia para corresponder às necessidades de quase todos (97 a 98%) os indivíduos saudáveis em um grupo de gênero e estágio de vida particular. Grupo de estágio de vida é uma certa faixa etária ou estado fisiológico (p. ex., gestação ou lactação). A RDA tem a intenção de servir como um objetivo de ingesta para indivíduos. A IA é um valor de ingesta recomendada utilizada quando não há informação suficiente para estabelecer a RDA.

A. Carboidratos

Nenhum carboidrato foi identificado como necessário na dieta, eles podem ser sintetizados a partir de aminoácidos, e um tipo de carboidrato pode ser convertido em outro. Contudo, problemas de saúde estão associados à eliminação completa de carboidratos

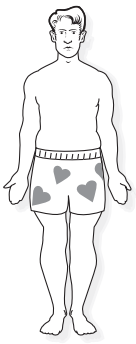


Desnutrição, a ausência de uma ingesta adequada de nutrientes, ocorre nos EUA principalmente entre crianças de famílias com renda abaixo do nível de pobreza, idosos, indivíduos cujas dietas são influenciadas por álcool e uso de drogas e naqueles que fazem escolhas alimentares inadequadas. Nos EUA, mais de 13 milhões de crianças vivem em famílias com renda abaixo do nível da pobreza. Dessas, aproximadamente 10% têm desnutrição clínica, e a maioria com freqüência apresenta anemia resultante da ingesta inadequada de ferro. Uma porcentagem maior tem nutrição inadequada quanto a proteínas e energia e exibe retardo de crescimento, algumas vezes como resultado de negligência dos pais. A desnutrição na infância também pode levar a dificuldade de aprendizado e doença crônica futura. Uma das melhores indicações de desnutrição é a medição do peso, pois é fácil de efetuar, e o peso é um dos primeiros, parâmetros a se alterarem durante a desnutrição.

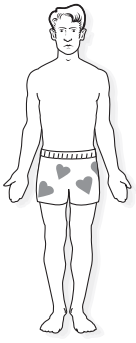
O termo *kwashiorkor* se refere a uma doença originalmente vista em crianças africanas sofrendo de deficiência de proteínas. Ela é caracterizada por hipoalbuminemia marcada, anemia, edema, barriga em barril, perda de cabelo e outros sinais de lesão tecidual. O termo *marasmo* é utilizado para desnutrição clórico-protéica prolongada, principalmente em crianças jovens.



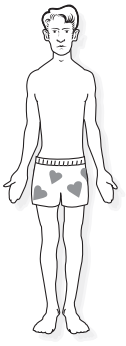
Ivan Applebod e **Ann O'Rexia** estão ganhando ou perdendo peso?



Balanço calórico positivo
Consumo > Gasto



Equilíbrio calórico
Consumo = Gasto



Balanço calórico negativo
Consumo < Gasto

Figura 1.8 Balanço calórico.



O peso de **Ivan Applebod** caracteriza obesidade. Seu IMC é 120 kg/1,78 m^2 = 37,9. **Ann O'Rexia** está com subpeso. Seu IMC é 45,9 × 1,70 m^2 = 15,5.



O **Sr. Applebod** gasta cerca de 2.952 kcal/dia e consome 4.110. Por esse cálculo, ele consome 1.158 kcal a mais do que gasta a cada dia e está ganhando peso. A **Srta. O'Rexia** gasta 1.909 kcal/dia, enquanto consome apenas 615. Portanto, ela gasta 1.294 kcal/dia a mais do que consome, o que está fazendo com que ela perca peso.

da dieta, em parte porque uma dieta baixa em carboidratos deve conter grandes quantidades de gordura para fornecer a energia necessária. Dietas ricas em gorduras estão associadas a obesidade, aterosclerose e outros problemas de saúde.

B. Ácidos Graxos Essenciais

Embora a maioria dos lipídeos necessários para a estrutura da célula, o armazenamento de substratos energéticos ou a síntese de hormônios possa ser sintetizada a partir de carboidratos e proteínas, é necessário um nível mínimo de certos lipídeos da dieta para saúde ótima. Tais lipídeos, conhecidos como ácidos graxos essenciais, são necessários na dieta, porque ácidos graxos com esses arranjos particulares de *ligações duplas* não podem ser sintetizados. Os ácidos graxos essenciais ácido α-linoléico e ácido α-linolênico são fornecidos por óleos de plantas da dieta, e o ácido eicosapentanóico (EPA) e o ácido docosa-hexanóico (DHA) são fornecidos por óleos de peixes. Eles são os precursores dos eicosanóides (um grupo de moléculas semelhantes a hormônios que são secretadas pelas células em pequenas quantidades e têm numerosos efeitos importantes sobre as células vizinhas). Os eicosanóides incluem as prostaglandinas, os tromboxanos, os leucotrienos e outros compostos relacionados.

C. Proteína

A RDA para proteínas é aproximadamente 0,8 g de proteína de alta qualidade por quilograma de peso corporal ideal, ou aproximadamente 60 g/dia para homens e 50 g/dia para mulheres. A proteína de "alta qualidade" contém todos os aminoácidos essenciais em quantidades adequadas. As proteínas de origem animal (leite, ovos e proteínas da carne) são de alta qualidade. As proteínas dos alimentos vegetais são geralmente de qualidade menor, o que significa que elas possuem um ou mais aminoácidos essenciais em baixa quantidade. Os vegetarianos podem obter quantidades adequadas de aminoácidos essenciais se alimentando com misturas de vegetais que complementam uns aos outros em termos de suas composições de aminoácidos.

1. AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS



Estudantes freqüentemente utilizam regras mnemônicas para lembrar dos aminoácidos essencias. Uma regra mnêmonica comum é "*Little TV tonight*. Ha!" ou **LIL** (**l**isina-**i**soleucina-**l**eucina) **TV** (**t**reonina-**v**alina) **T**o (**t**riptofano) **PM** (**f**enilalanina-**m**etionia). (**HA**) (**h**istidina-**a**rginina)!

Diferentes aminoácidos são utilizados no corpo como precursores para a síntese de proteínas e de outros compostos nitrogenados. Dos vinte aminoácidos comumente necessários no corpo para a síntese de proteína e de outros compostos, nove são essenciais na dieta de um adulto humano, porque não podem ser sintetizados no corpo. Esses são lisina, isoleucina, leucina, treonina, valina, triptofano, fenilalanina, metionina e histidina.

Certos aminoácidos são condicionalmente essenciais, isto é, necessários na dieta sob certas condições. Crianças e mulheres grávidas têm uma alta taxa de síntese de proteínas para apoiar o crescimento e necessitam de alguma arginina na dieta, embora ela possa ser sintetizada no corpo. A histidina é essencial na dieta dos adultos em quantidades muito pequenas, porque eles a reciclam de forma eficiente. A necessidade aumentada de crianças e mulheres grávidas por histidina é, portanto, muito maior do que suas necessidade para outros aminoácidos essenciais. A tirosina e a cisteína são consideradas condicionalmente essenciais. A tirosina é sintetizada a partir de fenilalanina e é necessária na dieta se a ingesta de fenilalanina é inadequada, ou se um indivíduo tem deficiência congênita de uma enzima necessária para converter fenilalanina em tirosina (a doença congênita fenilcetonúria). A cisteína é sintetizada utilizando metionina e pode, também, ser necessária na dieta sob certas condições.

2. BALANÇO NITROGENADO

As proteínas no corpo estão sob constante renovação; isto é, elas estão constantemente sendo degradadas a aminoácidos e ressintetizadas. Quando uma proteína é degradada, seus aminoácidos são liberados para o *pool* (fundo comum) de aminoácidos livres no corpo, em que entrarão também os aminoácidos das proteínas da dieta. Os aminoácidos

livres podem ter um de três destinos: podem ser utilizados para compor proteínas, podem servir como precursores para síntese de compostos essenciais contendo nitrogênio (p. ex., heme, DNA, RNA) ou podem ser oxidados como substratos para liberar energia. Quando aminoácidos são oxidados, seus átomos de nitrogênio são excretados na urina principalmente na forma de uréia. A urina também contém pequenas quantidades de outros produtos nitrogenados de excreção (ácido úrico, creatinina e NH_4^+) derivados da degradação de aminoácidos e compostos sintetizados a partir de aminoácidos (Tabela 1.5). Também é perdido algum nitrogênio no suor, nas fezes e nas células que se descamam.

O balanço nitrogenado é a diferença entre a quantidade de nitrogênio adquirida pelo corpo a cada dia (principalmente na forma de proteínas da dieta) e a quantidade de nitrogênio em compostos perdidos (Tabela 1.6). Se é ingerido mais nitrogênio do que é excretado, diz-se que uma pessoa tem balanço nitrogenado positivo, o qual ocorre em indivíduos em crescimento (p. ex., crianças e mulheres grávidas), que estão sintetizando mais proteína do que degradando. Inversamente, se menos nitrogênio é ingerido que excretado, diz-se que a pessoa está em balanço nitrogenado negativo, o qual se desenvolve em uma pessoa que está ingerindo pouca proteína ou proteína deficiente em um ou mais aminoácidos essenciais. Os aminoácidos são mobilizados de forma contínua a partir das proteínas do corpo. Se na dieta falta um aminoácido essencial ou se a ingesta de proteínas é muito baixa, novas proteínas não podem ser sintetizadas, e os aminoácidos não-utilizados serão degradados, então o nitrogênio aparece na urina. Se um balanço nitrogenado negativo persiste por muito tempo, a função corporal será diminuída pela perda total de proteínas importantes. Em contraste, adultos saudáveis estão em equilíbrio nitrogenado (nem positivo, nem negativo), e a quantidade de nitrogênio consumido na dieta é igual à perdida na urina, no suor, nas fezes e em outras excreções.

D. Vitaminas

As vitaminas são um grupo diverso de moléculas orgânicas necessárias em pequenas quantidades na dieta para saúde, crescimento e sobrevivência (vida; do latim *vita*). A ausência de uma vitamina da dieta ou uma ingesta inadequada resulta em sinais característicos de deficiência e, finalmente, em morte. A Tabela 1.7 lista os sinais e sintomas de deficiência de cada vitamina, sua RDA ou IA para adultos jovens e fontes comuns de alimentos. A quantidade de cada vitamina necessária na dieta é pequena (na faixa do microgramo ou miligrama), em comparação com a necessidade de aminoácidos essenciais (na faixa do grama). As vitaminas são freqüentemente divididas em duas classes, vitaminas hidrossolúveis e vitaminas lipossolúveis. Essa classificação tem pouca relação com sua função, mas está relacionada com a absorção e o transporte de vitaminas lipossolúveis com lipídeos.

A maioria das vitaminas são utilizadas para a síntese de coenzimas, moléculas orgânicas complexas que auxiliam as enzimas na catálise de reações bioquímicas, e os sintomas de deficiência delas refletem uma inabilidade das células para realizar certas reações. Contudo, algumas vitaminas também agem como hormônios. Serão considerados os papéis desempenhados pelas vitaminas individualmente conforme a progressão através dos capítulos subseqüentes deste livro.

Embora a RDA ou a IA para cada vitamina variem com idade e sexo, a diferença geralmente não é muito grande uma vez que a adolescência é alcançada. Por exemplo, a RDA para riboflavina é 0,9 mg/dia para homens entre 9 e 13 anos, 1,3 mg/dia para

Tabela 1.6 Balanço Nitrogenado

Balanço nitrogenado positivo	Crescimento (p. ex., infância, gestação)	Consumo de N da dieta > N excretado
Equilíbrio nitrogenado	Adulto normal saudável	Consumo de N da dieta = N excretado
Balanço nitrogenado negativo	Deficiência dietética de proteínas totais ou aminoácidos; estresse catabólico	Consumo de N da dieta < N excretado

Tabela 1.5 Principais Produtos de Excreção de Nitrogênio

Uréia
Creatinina
Ácido úrico
NH_4^+



As deficiências de múltiplas vitaminas que acompanham a desnutrição são muito mais comuns nos EUA do que as doenças características de deficiência associadas à falta de apenas uma vitamina, porque os alimentos geralmente são consumidos de forma variada. As doenças características de deficiências por falta de uma única vitamina foram freqüentemente identificadas e descritas em humanos por meio de observações de populações que consumiam uma dieta restrita por ser aquilo tudo que estava disponível. Por exemplo, a deficiência de tiamina foi descoberta por um médico em Java, o qual relacionou os sintomas de beribéri com dietas compostas principalmente por arroz polido. Hoje, deficiências de uma única vitamina geralmente ocorrem como resultado de uma condição que interfere na captação e utilização de uma vitamina ou como resultado de escolhas por alimentos pobres ou falta de variedade na dieta. A neuropatia associada à deficiência de vitamina E, por exemplo, pode ocorrer em crianças com má absorção de gordura, e o consumo de álcool pode resultar em beribéri. Os vegetarianos, indivíduos que consomem dietas sem produtos animais, podem desenvolver deficiências de vitamina B_{12}.



No hospital, foi informado que o **Sr. Percy Veere** emagrecera 14,5 kg em 8 meses desde sua última visita ao médico da família. Na admissão, sua hemoglobina (o composto que contém ferro no sangue e que carrega o O_2 dos pulmões para os tecidos) era 10,7 g/dL (valores de referência para homens = 12-15,5), seu ferro sérico era 38 μg/dL (valores de referência para homens 42-135), e outros índices hematológicos também estavam anormais. Esses valores são indicativos de uma anemia por deficiência de ferro. Seu nível sérico de ácido fólico era 0,9 ng/mL (valores de referência = 3-20), indicando uma baixa ingesta dessa vitamina. Seu nível de vitamina B_{12} era 190 pg/mL (valores de referência = 180-914). Um baixo nível sangüíneo de vitamina B_{12} pode ser causado por ingesta, absorção ou transporte diminuídos, mas leva um longo tempo para que isso ocorra. Sua albumina sérica era 3,2 g/dL (valores de referência = 3,5-5,0), o que indica desnutrição protéica ou doença hepática.

Tabela 1.7 VITAMINAS[a]

Vitamina	Ingesta Dietética de Referência (IDR) Mulheres: M Homens: H (18-30 anos)	Algumas Fontes Alimentares Comuns	Conseqüências da Deficiência (nomes das doenças da deficiência estão em negrito)
Vitaminas hidrossolúveis			
Vitamina C	**RDA** M: 75 mg H: 90 mg **UL**: 2 g	Frutas cítricas, batatas, pimentões, brócolis, espinafre, morangos	**Escorbuto**: formação defeituosa do colágeno levando a hemorragia subcutânea, dores nos ossos, nas articulações e nos músculos em adultos e posição rígida e dor em crianças
Tiamina	**RDA** M: 1,1 mg H: 1,2 mg	Cereais e pães enriquecidos, grãos não-refinados, carne de porco, legumes, sementes, nozes	**Beribéri**: (molhado) edema, anorexia, perda de peso, apatia, diminuição da memória de curto prazo, confusão irritabilidade, fraqueza e coração aumentado
Riboflavina	**RDA** M: 1,1 mg H: 1,3mg	Produtos lácteos, cereais reforçados, carnes, aves, peixes, legumes	**Ariboflavinose**: dor de garganta, hiperemia, edema das membranas da mucosa oral, queilose, estomatite angular, glossite, língua azulada, dermatite seborréica, anemia normocrômica normocítica
Niacina[b]	**RDA** M:14 mg NEQ H: 16 mg NEQ **UL**: 35 mg	Carne: frango, bovina, peixe; cereais enriquecidos ou grãos totais; a maioria dos alimentos	**Pelagra**: *rashes* pigmentados e áreas expostas à luz solar, vômitos, constipação ou diarréia, língua vermelha brilhante, sintomas neurológicos
Vitamina B_6 (piridoxina)	**RDA** M: 1,3 mg H: 1,3 mg **UL**: 100 mg	Frango, peixe, porco, ovos, cereais fortificados, arroz não-polido, aveia, vegetais que contêm amido, frutas não-cítricas, amendoins, nozes	Dermatite seborréica, anemia microcítica, convulsões epileptiformes, depressão e confusão
Folato	**RDA** M: 400 µg H: 400 µg	Frutas cítricas, vegetais verde-escuros, cereais e pães fortificados, legumes	Diminuição da divisão celular e crescimento, **anemia megaloblástica**, defeitos do tubo neural
Vitamin B_{12}	**RDA** M: 2,4 µg H: 2,4 µg	Produtos animais[c]	**Anemia megaloblástica**, sintomas neurológicos
Biotina	**AI** M: 30 µg H: 30 µg	Fígado, clara de ovos	Conjuntivite, anormalidades do sistema nervoso central, alopecia, dermatite seca descamativa escamosa
Ácido pantotênico	**AI** M: 5 mg H: 5 mg	Ampla distribuição em alimentos, especialmente tecidos animais; cereais de grão total; legumes	Irritabilidade e inquietação, fadiga, apatia, mal-estar, sintomas gastrintestinais, sintomas neurológicos
Colina	**AI** M: 550 mg H: 425 mg **UL**: 3,5 g	Leite, fígado, ovos, amendoins	Lesão hepática
Vitaminas lipossolúveis			
Vitamina A	**RDA** M: 700 µg H: 900 µg **UL:** 3.000 µg	Cenouras, vegetais verde-escuros e com folhas, batata-doce e abóbora, brócolis	Cegueira noturna, **xeroftalmia**, queratinização do epitélio dos tratos GI, respiratório e geniturinário, pele se torna seca e escamosa
Vitamina K	**RDA** M: 90 µg H: 120 µg	Vegetais de folhas verdes, vegetais da família do repolho (brasica), flora bacteriana do intestino	Coagulação sangüínea defeituosa, anemia hemorrágica do recém-nascido
Vitamina D	**IA**[d] M: 5 µg H: 5 µg **UL**: 50 µg	Leite fortificado, exposição da pele à luz solar	**Raquitismos** (em crianças), mineralização óssea inadequada (osteomalacia)
Vitamina E	**RDA** M: 15 mg H: 15 mg **UL**: 1 g	Óleos vegetais, margarina, gérmen de trigo, nozes, vegetais de folhas verdes	Distrofia muscular, anormalidades neurológicas

Ingesta Dietética de Referência (IDR); Recomendação Dietética Adequada (RDA); Ingesta Adequada (IA); Nível de ingestão Máxima tolerável (UL)

[a]As Informações para essa Ingesta Dietética de Referência para Vitamina C, Vitamina E, Selênio e Carotenóides (2000); da Ingesta Dietética de Referência para Cálcio, Fósforo, Magnésio, Vitamina D e Fluoreto (1997); Ingesta Dietética de Referência para Vitamina A, Vitamina K, Arsênico, Boro, Cromo, Cobre, Iodo, Ferro, Manganês, Molibdênio, Níquel, Silicone, Vanádio e Zinco (2001). Washington, DC: Food and Nutrition Board. Institute of Medicine, National Academy Press.

[b]neq = equivalentes de niacina. A niacina pode ser sintetizada nos humanos a partir de triptofano, e esse termo leva em consideração um fator de conversão para o triptofano da dieta.

[c]A vitamina B_{12} é encontrada apenas em produtos animais.

[d]As necessidades dietéticas consideram a ausência de luz solar.

homens de 19 a 30 anos, ainda 1,3 mg/dia para homens com mais de 70 anos, e 1,1 mg/dia para mulheres com idades de 19 a 30 anos. As maiores necessidades ocorrem durante a lactação (1,6 mg/dia).

As vitaminas, por definição, não podem ser sintetizadas pelo corpo, ou são sintetizadas a partir de um precursor da dieta muito específico em quantidades insuficientes. Por exemplo, a vitamina niacina pode ser sintetizada a partir do aminoácido essencial triptofano, mas não em quantidades suficientes para corresponder às necessidades do corpo. A niacina, portanto, ainda é classificada como vitamina.

A ingesta excessiva de muitas vitaminas, tanto lipossolúveis quanto hidrossolúveis, pode causar efeitos deletérios. Por exemplo, altas doses de vitamina A, uma vitamina lipossolúvel, podem causar descamação da pele e defeitos de nascimento, e altas doses de vitamina C causam diarréia e distúrbios gastrintestinais. Uma Ingesta Dietética de Referência é o Nível de Ingestão Máxima Tolerável (UL), o qual é o maior nível de ingesta diária do nutriente que provavelmente não oferece risco de efeito adverso para a maioria dos indivíduos na população geral. Quando a ingesta se eleva acima da UL, o rio de efeitos adversos aumenta. A Tabela 1.7 inclui a UL para vitaminas conhecidas por oferecerem um risco em níveis altos. A ingesta acima da UL ocorre com mais freqüência com suplementos dietéticos ou farmacológicos de vitaminas únicas, e não de alimentos.

E. Minerais

Muitos minerais são necessários na dieta. Eles são classificados, em geral, como eletrólitos (íons inorgânicos que são dissolvidos em compartimentos líquidos do corpo), minerais (necessários em quantidades relativamente grandes), minerais traço (necessários em quantidades menores) e minerais ultratraço (Tabela 1.8).

Sódio (Na^+), potássio (K^+) e cloreto (Cl^-) são os principais eletrólitos (íons) no corpo. Eles estabelecem gradientes de íons através de membranas, mantêm o balanço hídrico e neutralizam cargas positivas e negativas de proteínas e outras moléculas.

O cálcio e o fósforo servem como componentes estruturais de ossos e dentes e, portanto, são necessários em quantidades relativamente grandes. O cálcio (Ca^{2+}) possui muitas outras funções no corpo; por exemplo, ele está envolvido na ação de hormônios e na coagulação sangüínea. O fósforo é necessário para a formação de ATP e de intermediários fosforilados no metabolismo. O magnésio ativa muitas enzimas e também forma um complexo com ATP. O ferro é um mineral particularmente importante, porque funciona como um componente da hemoglobina (a proteína carreadora de oxigênio no sangue) e é parte de muitas enzimas. Outros minerais, como o zinco ou o molibdênio, são necessários em quantidades muito pequenas (quantidades traço ou ultratraço).

O enxofre é ingerido principalmente nos aminoácidos cisteína e metionina. Ele é encontrado em tecido conjuntivo, em especial na cartilagem e na pele, e possui funções importantes no metabolismo, as quais serão descritas quando for considerada a ação da coenzima A, um composto utilizado para ativar ácidos carboxílicos. O enxofre é excretado na urina como sulfato.

Os minerais, como as vitaminas, provocam efeitos adversos se ingeridos em quantidades excessivas. Problemas associados a excessos ou deficiências dietéticas de minerais são descritos nos capítulos subseqüentes em conjunto com suas funções metabólicas normais.



Uma deficiência dietética de cálcio pode levar à osteoporose, uma doença na qual os ossos são insuficientemente mineralizados e, por conseqüência, são frágeis e fraturados com facilidade. A osteoporose é um problema particularmente comum entre mulheres mais velhas. A deficiência de fósforo resulta em perda óssea acompanhada de fraqueza, anorexia, mal-estar e dor. A deficiência de ferro leva à anemia, uma diminuição na concentração de hemoglobina no sangue.



Quais alimentos fornecem a **Percy Veere** boas fontes de folato e vitamina B12?

Tabela 1.8 Minerais Necessários na Dieta

Eletrólitos	Minerais	Minerais Traço	Minerais Ultratraço[a]
Sódio	Cálcio	Iodo	Manganês
Potássio	Fósforo	Selênio	Fluoreto
Cloro	Magnésio	Cobre	Cromo
	Ferro	Zinco	Molibdênio
	Enxofre		Outros?

[a]Estes minerais são classificados como traço ou ultratraço.

R: O folato é encontrado em frutas e vegetais cítricos (p. ex., laranja), vegetais de folhas verdes (p. ex., espinafre e brócolis), cereais fortificados e legumes (p. ex., ervilhas) (ver Tabela 1.7). Inversamente, a vitamina B_{12} é encontrada apenas em alimentos de origem animal, incluindo carnes, ovos e leite.

F. Água

A água constitui metade a quatro quintos do peso do corpo humano. A ingesta de água necessária por dia depende do balanço entre a quantidade produzida pelo metabolismo corporal e a quantidade perdida através da pele, do ar expirado e na urina e nas fezes.

V. DIRETRIZES DIETÉTICAS

Diretrizes ou objetivos dietéticos são a recomendação para escolha de alimentos que podem reduzir o risco de doenças crônicas ou degenerativas enquanto é mantida uma ingesta de nutrientes. Muitos estudos têm mostrado uma associação entre dieta e exercício e diminuição de risco para certas doenças, incluindo hipertensão, aterosclerose, acidente vascular cerebral, diabetes, certos tipos de câncer e osteoartrite. Assim, o American Heart Institute e o American Cancer Institute, bem como diversos outros grupos, desenvolveram recomendações dietéticas e de exercício para diminuir o risco dessas doenças. O *Dietary Guidelines for Americans* (2000), preparado sob autoridade conjunta do US Department of Agriculture e o US Department of Health and Human Services, engloba muitas dessas recomendações. Porções recomendadas dos diferentes grupos de alimentos são mostradas em uma pirâmide alimentar (Figura 1.9). Observações de interesse especial para médicos que aconselham pacientes incluem as seguintes:

A. Recomendações Gerais

- O objetivo deve incluir um peso saudável, a realização de atividades físicas todos os dias. Para a manutenção de um peso saudável, a ingesta calórica deve corresponder ao gasto calórico. Devem ser praticados pelo menos 30 minutos de atividade física moderada (tal como caminhar 3,2 km) diariamente. Um programa de exercícios regular ajuda a atingir e manter o peso ideal, a condição cardiovascular e a força.
- Os alimentos devem ser escolhidos conforme as proporções recomendadas na pirâmide alimentar, incluindo uma variedade de grãos e uma de frutas e vegetais diariamente.
- Os alimentos devem ser mantidos em boas condições. Por exemplo, os restos de alimentos devem ser refrigerados imediatamente.

B. Vegetais, Frutas e Grãos

- Dietas ricas em vegetais, frutas e grãos devem ser escolhidas. Devem ser ingeridas cinco ou mais porções de vegetais e frutas por dia (particularmente vegetais verdes e frutas cítricas) e seis ou mais porções diárias de grãos (amidos e outros carboidratos complexos, na forma de pães, cereais fortificados, arroz, massa). Além de energia, vegetais, frutas e grãos fornecem vitaminas, minerais, substâncias protetoras (tais como carotenóide) e fibras. As fibras, a parte não-digerível dos alimentos vegetais, têm vários efeitos benéficos, incluindo alívio da constipação.
- O consumo de açúcar refinado nos alimentos e bebidas deve ser reduzido para abaixo do padrão americano. O açúcar refinado não tem valor nutricional além de seu conteúdo calórico e promove a decomposição dos dentes.

C. Gorduras

- A ingesta de gorduras deve ser reduzida. Para aqueles com risco de infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral, as gorduras devem corresponder a não mais do que 30% do total de calorias da dieta, e ácidos graxos saturados devem corresponder a 10% ou menos. Alimentos ricos em gorduras saturadas incluem queijo, leite integral, sorvete e muitos cortes de carne bovina. Ácidos graxos

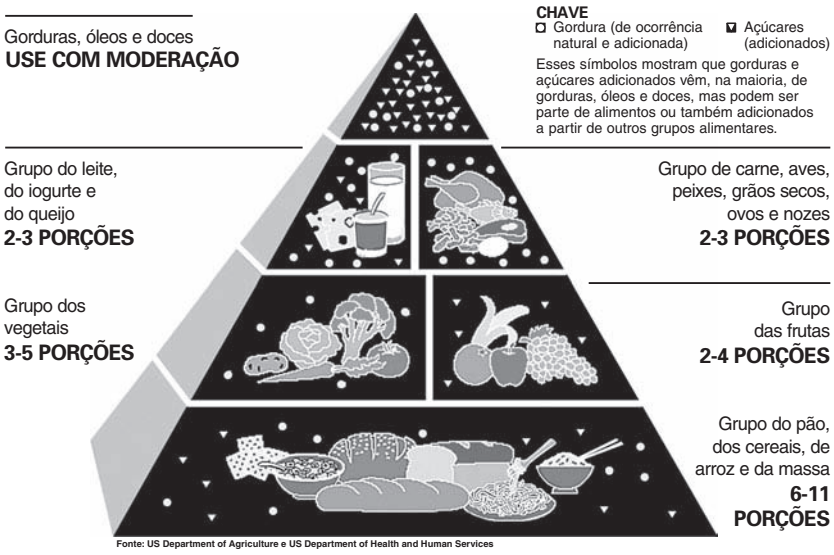


Figura 1.9 A pirâmide alimentar. A pirâmide mostra o número de porções que devem ser ingeridas por dia para cada grupo alimentar. Em cada grupo, uma variedade de alimentos deve ser ingerida. Alguns exemplos de tamanho de porção: grupo do pão – 1 fatia de pão branco ou 2 xícaras de arroz cozido; grupo dos vegetais – uma xícara de vegetais cozidos; grupo das frutas – 1 maçã ou banana; grupo do leite – 1 xícara de leite ou 60 g de queijo processado; grupo da carne e dos grãos secos – 60-90 g de carne magra ou peixe cozido ou 1 ovo. Nutrition and Your Health: Dietary Guidelines for Americans, 2000. Washington, DC: Dietary Guidelines Committee: The U.S. Department of Agriculture and the U.S. Department of Health and Human Services.

trans, tais como os óleos vegetais parcialmente hidrogenados utilizados na margarina, devem ser evitados.

- A ingesta de colesterol deve ser menor do que 300 mg/dia em sujeitos sem doença aterosclerótica e menos de 200 mg/dia naqueles com aterosclerose estabelecida.

D. Proteínas

- A ingesta de proteínas para adultos deve ser por volta de 0,8 g/kg de peso corporal por dia. A proteína deve ser de alta qualidade e deve ser obtida de fontes com pouca gordura saturada (p. ex., peixe, aves magras e grãos secos). Vegetarianos devem comer uma mistura de proteínas vegetais que garanta uma ingesta de quantidades adequadas de aminoácidos essenciais.

E. Álcool

- O consumo de álcool não deve exceder a ingesta moderada. Moderado é definido como não mais do que uma dose por dia para mulheres e não mais do que duas doses por dia para homens. Uma dose é definida como 350 mL de cerveja, 142 mL de graduação alcoólica, de vinho (um pouco mais do que uma xícara), ou 42,6 mL de licor com 80% de graduação alcoólica, igual para uísque. Mulheres grávida não devem beber álcool.

O colesterol é obtido a partir da dieta e sintetizado na maioria das células do corpo. Ele é um componente das membranas celulares e o precursor dos hormônios esteróides e dos sais biliares utilizados para a absorção de gorduras. Altas concentrações de colesterol no sangue, particularmente o colesterol nas partículas de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), contribuem para a formação de placas ateromatosas. Tais placas (depósitos de gordura nas paredes arteriais) estão associadas a infarto do miocárdio e acidentes vasculares cerebrais. Um alto conteúdo de gordura saturada na dieta tende a aumentar os níveis circulatórios de LDL-colesterol e contribui para o desenvolvimento de aterosclerose.

A ingestão de álcool por mulheres grávidas pode resultar em síndrome fetal do álcool (SFA), a qual é identificada por deficiência de crescimento pré e pós-natal, retardo de crescimento e defeitos craniofacial, de membros e cardiovascular.

F. Vitaminas e Minerais

- A ingesta de sódio deve ser diminuída na maioria dos indivíduos. O sódio é geralmente consumido como sal, NaCI. Indivíduos com tendência à hipertensão sensível ao sal devem ingerir menos de 3 g de sódio por dia (aproximadamente 6 g de NaCl).
- Muitas das vitaminas e dos minerais requeridos podem ser obtidos pela ingestão de uma variedade de frutas, vegetais e grãos (particularmente grãos integrais). Contudo, o cálcio e o ferro são necessários em quantidades relativamente altas. Produtos lácteos com pouca gordura ou sem gordura e vegetais de folhas verdes fornecem boas fontes de cálcio. Carnes magras, mariscos, aves, carne escura, feijões secos cozidos e alguns vegetais de folhas verdes fornecem boas fontes de ferro. A vitamina B12 é encontrada apenas em fontes animais.
- A suplementação dietética além das quantidades recomendadas (p. ex., regimes com megavitaminas) deve ser evitada.
- O fluoreto deve estar presente na dieta, pelo menos durante os anos de formação de dentes, bem como para proteger contra cáries dentárias.

A alta ingesta de sódio e cloro (no sal de cozinha) da dieta americana média parece estar relacionada ao desenvolvimento de hipertensão (pressão sangüínea alta) em indivíduos que são geneticamente predispostos para esse distúrbio.

VI. XENOBIÓTICOS

Além de nutrientes, a dieta também contém um grande número de produtos químicos chamados de xenobióticos, os quais não têm valor nutricional, não têm utilidade no corpo e podem ser danosos se consumidos em quantidades excessivas. Esses compostos ocorrem naturalmente em alimentos, podem entrar na cadeia alimentar como contaminantes ou podem ser deliberadamente introduzidos como aditivos alimentares.

Diretrizes dietéticas da American Cancer Society e do American Institute for Cancer Research fazem recomendações relevantes à ingestão de compostos xenobóticos, particularmente carcinógenos. A recomendação dietética de que se utilize alimentos de forma variada ajuda a proteger contra a ingestão de um nível tóxico de qualquer composto xenobiótico. É sugerido também que seja reduzido o consumo de alimentos salgados, defumados e cozidos demais, os quais contêm produtos químicos que podem contribuir para o desenvolvimento de câncer. Outras diretrizes encorajam a ingestão de frutas e vegetais que contêm produtos químicos protetores chamados antioxidantes.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Otto Shape. Otto Shape procurou auxílio para reduzir seu peso de 85 kg (IMC de 27) para seu peso anterior de 70 kg (IMC de 22, no meio da faixa saudável). Otto Shape tem 1,78 m de altura e calculou que seu peso máximo seria 78,5 kg. Ele planejou ser um médico de família e sabe que estaria mais capaz de aconselhar pacientes sobre comportamentos saudáveis envolvendo dieta e exercício se ele próprio os praticasse. Com essa informação e as garantias do médico de que estava com boa saúde, Otto iniciou um programa de perda de peso. Uma de suas estratégias envolveu o registro de todos os alimentos e porções que ele ingeria. Para analisar sua dieta em relação a calorias, gordura saturada e nutrientes, ele utilizou o Interactive Healthy Eating Index, disponível online pelo USDA Food and Nutrition Information Center.

Os médicos têm uma média de vida mais longa do que a população geral e, normalmente, têm hábitos mais saudáveis, em especial em relação ao consumo de gordura, álcool e fumo e à prática de exercício. Médicos que apresentam hábitos saudáveis apresentar maior tendência a aconselhar os pacientes com respeito a esses comportamentos e são mais capazes de motivá-los.

Ivan Applebod. Ivan Applebod pesava 120 kg e media 1,78 m de altura com uma estrutura óssea pesada. Para um homem dessas proporções, um IMC de 18,5 a 24,9 corresponderia a um peso entre 58,5 a 78,5 kg. Ele está, atualmente, quase 45 kg além do peso ideal, e seu IMC de 37,9 está na faixa da obesidade.

O médico do Sr. Applebod o alertou de que a obesidade exógena (causada por comer em excesso) representa um risco para doença vascular aterosclerótica, particularmente quando a distribuição de gordura é primariamente "central" ou na região abdominal (forma de maçã, em contraste com a forma de pêra, a qual resulta de tecido adiposo depositado nas nádegas e na cintura). Além disso, a obesidade pode levar a ou-

tros riscos cardiovasculares, como hipertensão (pressão sangüínea alta), hiperlipidemia (níveis altos de lipídeos sangüíneos) e diabetes melito tipo 2 (caracterizado por hiperglicemia). Ivan já teve elevação moderada em ambas as pressões sangüíneas, sistólica e diastólica. Além disso, seu nível de colesterol sérico total era 296 mg/dL, bem acima do valor normal desejado (200 mg/dL).

O Sr. Applebod foi encaminhado para o centro de redução de peso do hospital, onde uma equipe de médicos, nutricionistas e psicólogos poderá auxiliá-lo a atingir a faixa de peso ideal.

Ann O'Rexia. Devido à sua história e exame físico, Ann O'Rexia teve diagnóstico de anorexia nervosa inicial, um distúrbio comportamental que envolve distúrbios emocional e nutricional. A Srta. O'Rexia foi encaminhada para um psiquiatra com especial interesse em anorexia nervosa, e foi iniciado um programa de psicoterapia e de modificação de comportamento.

Percy Veere. Percy Veere pesava 56,6 kg e media 1,79 m de altura (sem sapatos) com uma estrutura média. Seu IMC era 17,5, o qual corresponde a um subpeso significativo. Quando sua esposa morreu, ele pesava 66,7 kg. Para sua altura, um IMC na faixa de peso saudável corresponde a pesos entre 59,8 e 80,7 kg.

O estado de má nutrição do Sr. Veere refletiu em seu exames laboratoriais na admissão. Os resultados dos exames hematológicos foram consistentes com uma anemia por deficiência de ferro complicada por baixos níveis de ácido fólico e vitamina B_{12}, duas vitaminas que podem afetar o desenvolvimento de células sangüíneas vermelhas normais. Seu nível de albumina sérica baixo foi causado por ingesta insuficiente de proteína e um déficit de aminoácidos essenciais, o que resulta em uma habilidade reduzida de sintetizar proteínas do corpo. O psiquiatra solicitou uma consultoria com um nutricionista do hospital para avaliar a extensão do marasmo do Sr. Veere (desnutrição causada por uma deficiência de proteínas e calorias totais) bem como suas deficiências de vitaminas e minerais.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Ingesta Dietética de Referência. As ingestas dietéticas de referência são estimativas quantitativas da ingesta de nutrientes que podem ser utilizadas para avaliar e planejar dietas para pessoas saudáveis. Elas foram preparadas pelo Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes (DRI) of the Food and Nutrition Board, pelo Institute of Medicine e pela National Academy of Science, com participação ativa do Health Canada. Os quatro valores de referência para ingesta são as Recomendações Dietéticas Adequadas (RDA), as Necessidades Médias Estimadas (NME), a Ingesta Adequada (IA) e o Nível de Ingestão Máxima Tolerável (UL). Para cada vitamina, o comitê revisou a literatura disponível em estudos com humanos e estabeleceu critérios para ingesta adequada, tais como prevenção de certos sintomas de deficiência, prevenção de anomalias de desenvolvimento ou risco diminuído de doença crônico-degenerativa. O critério não foi sempre o mesmo para cada grupo etário. Uma necessidade é definida como o nível continuado mais baixo de ingesta de um nutriente capaz de satisfazer esse critério. O NME é o valor de ingesta diária estimado para corresponder à metade da necessidade de indivíduos aparentemente saudáveis para grupo etário ou gênero. O RDA é o NME mais dois desvios-padrão da média, o qual é a quantidade que deveria satisfazer 97 a 98% das necessidades da população. O nível de IA em vez de um RDA é estabelecido para nutrientes quando não há informações suficiente para determinar o NME.

O Nível de Ingestão Máxima Tolerável (UL) se refere ao maior nível de ingesta diária de nutrientes consumidos durante um tempo que provavelmente não apresenta risco de efeitos adversos para quase todos indivíduos saudáveis na população geral. Efeitos adversos são definidos como qualquer alteração significativa na estrutura ou na função do organismo humano. O peso acima do normal aumenta os fatores de risco cardiovascular, os quais incluem hipertensão, diabetes e alteração nos níveis de lipídeos sangüíneos. Ele também aumenta o risco de problemas respiratórios, doença da vesícula biliar e certos tipos de câncer.

A prevalência de obesidade na população dos EUA está aumentando. Em 1962, 12% da população apresentava um IMC igual ou maior que 30 e, portanto, eram clinicamente obesos. Este número aumentou para 14,5% em 1980 e para 22,6% em 1998. Além disso, 30% eram pré-obesos em 1998 (IMC = 25,0 a 29,9). Portanto, mais de 50% da população estão atualmente com sobrepeso, isto é, obeso ou pré-obeso.

Um exemplo da diferença entre a IA e a NME é fornecido pela riboflavina. Existe bem pouca informação sobre necessidades de nutrientes de crianças muito jovens. Contudo, o leite humano é o único alimento recomendado para os primeiros 4 a 6 meses, de tal modo que a IA da vitamina riboflavina para esse grupo etário baseia-se na quantidade de leite materno consumido por crianças a termo saudáveis. Inversamente, a NME da riboflavina para adultos baseia-se em um número de estudos em humanos relacionando ingesta dietética de riboflavina com marcadores bioquímicos do estado da riboflavina e do desenvolvimento de sintomas de deficiência clínica.

UL não significa que a maioria dos indivíduos que o ultrapassam sofrerão efeitos adversos sobre a saúde, mas que o risco de efeitos adversos aumenta à medida que a ingesta aumenta acima do UL.

Leituras Sugeridas

Um livro-texto bom e completo sobre nutrição é ShoilsME, Olson JA, Shike M. Ross, AC. Modern nutrition in health and disease. Baltimore: Williams & Wilkins, 1999. Tabelas nutricionais extensas, incluindo as tabelas para peso e altura Metropolitan estão disponíveis nos apêndices.

Recomendações Dietéticas Adequadas recentes preparadas pela Food and Nutrition Board of the National Academy of Science (1997-2001) estão disponíveis em vários volumes publicados pela National Academy Press (ver Tabela 1.7) e podem ser consultadas *online* no endereço eletrônico http:/books.nap.edu/.

Para analisar dietas para calorias e conteúdos de nutrientes, consulte o banco de dados sobre alimentos e listas disponibilizados pelo USDA. O endereço eletrônico www.nal.usda.gov/fnic fornece listas de fontes de composição de alimentos, tais como o banco de dados do U.S. Department of Agriculture. Agricultural Research Service, 2001. USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 14. Nutrient Data Laboratory Homepage, http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp. Esse endereço eletrônico também fornece listas sobre fontes de análise de dieta e *links* para o Interactive Healthy Eating Index, o qual é um programa que estudantes podem utilizar para analisar suas dietas (http://147.208.9.133). Um programa útil para avaliar a dieta, o MSU Nutriguide, pode ser obtido pelo Departamento de Nutrição da Michigan State University.

As recomendações dietéticas se alteram freqüentemente à medida que novas informações se tornam disponíveis. Atualmente, as Recomendações Dietéticas Adequadas estão disponíveis nas seguintes fontes: Food and Nutrition Information Center, National Agricultural Library. USDA (www.fns.usda.gov); National Heart, Lung, and Blood Institute Information Center (www.nhlbi.nih.gov); American Heart Association (www.americanheart.org); American Institute for Cancer Research (www.aicr.org), e a American Diabetes Association (www.diabetes.org). Outra fonte confiável para informações nutricionais na internet é www.navigator.tufts.edu.

Algumas faculdades de medicina nos EUA receberam o Nutrition Academic Awards do National Institute of Heart, Blood and Lung, National Institutes of Health (www.nhlbi.nih.gov/funding/naa). Essas faculdades estão desenvolvendo produtos para educação médica sobre nutrição.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 1

Orientações: para cada questão abaixo, selecione a resposta correta.

1. No processo de respiração, substratos energéticos

   (A) são armazenados como triacilgliceróis.
   (B) são oxidados para gerar ATP.
   (C) liberam energia principalmente como calor.
   (D) se combinam com CO_2 e H_2O.
   (E) se combinam com outros componentes dietéticos nas rotas anabólicas.

2. O conteúdo calórico por grama de substratos energéticos

   (A) é maior para carboidratos do que para triacilgliceróis.
   (B) é maior para proteínas do que para gordura.
   (C) é proporcional à quantidade de oxigênio em um substrato energético.
   (D) é a quantidade de energia que pode ser obtida a partir da oxidação de substratos energéticos.
   (E) é maior para crianças do que para adultos.

3. A taxa metabólica em repouso é

   (A) equivalente às necessidades dos órgãos maiores e do músculo em repouso.
   (B) geralmente maior por quilograma de peso corporal em mulheres do que em homens.
   (C) geralmente mais baixa por quilograma de peso corporal em crianças do que em adultos.
   (D) diminuída em um ambiente frio.
   (E) aproximadamente equivalente ao gasto diário de energia.

4. O RDA é

   (A) a quantidade média de nutrientes necessária para manter a função normal em 50% da população dos EUA.
   (B) a quantidade média de um nutriente ingerido por 50% da população dos EUA.

(C) a quantidade mínima de um nutriente ingerida diariamente que previne sintomas de deficiência.
(D) um objetivo dietético razoável para a ingesta de um nutriente por um indivíduo saudável.
(F) baseado principalmente em informação obtida com animais de laboratório.

5. Um paciente de 35 anos, sedentário, pesando 120 kg, estava sofrendo de angina (dor no peito) e outros sinais de doença arterial. Seu médico, em consultoria com um nutricionista, solicitou o registro de três dias da dieta. O paciente consumia uma média de 585 g de carboidratos, 150 g de proteínas, e 95 g de gordura a cada dia. Além disso, ele bebia 45 g de álcool. O paciente

(A) consumia entre 2.500 e 3.000 kcal por dia.
(B) tinha uma ingesta de gordura dentro da faixa recomendada nas diretrizes dietéticas atuais (i.e., ano 2000).
(C) consumia 50% de suas calorias como álcool.
(D) era deficiente em ingesta protéica.
(E) estava em balanço calórico negativo.

2 O Estado Alimentado ou Absortivo

O estado alimentado. *Durante uma* ***refeição****, são ingeridos carboidratos, lipídeos e proteínas, que são subseqüentemente* ***digeridos*** *e* ***absorvidos****. Uma pequena quantidade de alimento é* ***oxidada*** *para satisfazer as necessidades energéticas imediatas do corpo. A quantidade consumida em* ***excesso*** *a essas necessidades é transportada para os* ***depósitos de substratos energéticos****, onde é armazenada. O período que vai do início da absorção até ela estar completa é chamado de estado* ***alimentado*** *ou absortivo. Se um substrato energético é oxidado ou armazenado no estado alimentado, isso é determinado principalmente pela concentração de dois* ***hormônios endócrinos*** *no sangue, a* ***insulina*** *e o* ***glucagon****.*

Destino dos carboidratos*. Os carboidratos da dieta são digeridos a monossacarídeos, que são absorvidos para o sangue. O principal monossacarídeo no sangue é a* ***glicose*** *(Figura 2.1). Após uma refeição, a glicose é* ***oxidada*** *por vários tecidos para produzir energia, entra em rotas biossintéticas e é* ***armazenada*** *como* ***glicogênio****, principalmente no fígado e no músculo. A glicose é o principal precursor biossintético no corpo, e os esqueletos de carbono da maioria dos compostos que são sintetizados podem ser sintetizados a partir dela. A glicose também é convertida em* ***triacilgliceróis****. O fígado empacota os triacilgliceróis, produzidos a partir da glicose ou dos ácidos graxos obtidos do sangue, em lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e os libera no sangue. Os ácidos graxos da VLDL são armazenados, principalmente, como triacilgliceróis no tecido adiposo, mas uma pequena quantidade pode ser utilizada para satisfazer as necessidades energéticas das células.*

Destino das proteínas*. As proteínas da dieta são digeridas a* ***aminoácidos****, que são absorvidos para o sangue. Nas células, os aminoácidos são convertidos em* ***proteínas*** *ou utilizados para fazer vários* ***compostos nitrogenados****, como neurotransmissores e heme. O esqueleto de carbono também pode ser oxidado diretamente para produzir energia ou convertido em glicose.*

Destino das gorduras*. Os triacilgliceróis são os principais lipídeos da dieta. Eles são digeridos a ácidos graxos e a 2-monoacilgliceróis, os quais são sintetizados novamente em* ***triacilgliceróis*** *nas células epiteliais intestinais, empacotados nos* ***quilomícrons*** *e secretados através da linfa para o sangue. Os* ***ácidos graxos*** *dos triacilgliceróis do quilomícron são armazenados, principalmente, como triacilgliceróis nas células* ***adiposas****. Eles são subseqüentemente oxidados para produzir energia ou utilizados em rotas biossintéticas, tais como a síntese de lipídeos de membrana.*

Hormônios são compostos que são sintetizados por glândulas endócrinas do corpo. Eles são secretados para a circulação sangüínea e carregam mensagens para diferentes tecidos a respeito de mudanças no estado fisiológico global do corpo ou nas necessidades dos tecidos.

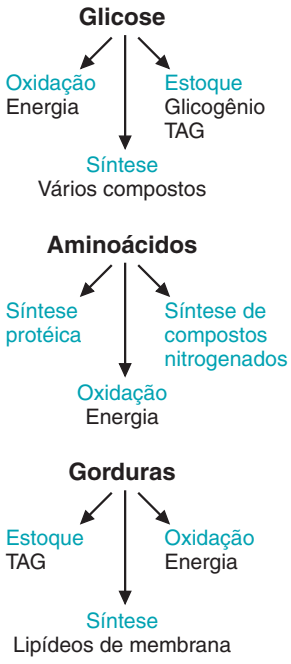


Figura 2.1 Principais destinos de substratos energéticos no estado alimentado.

SALA DE ESPERA

Ivan Applebod retornou ao seu médico para uma segunda consulta. Seus esforços iniciais para perder peso infelizmente falharam. De fato, ele agora pesa 122,5 kg, um aumento de 2,72 kg desde sua última visita, há 2 meses (ver Capítulo 1). Ele relatou que a morte recente de seu irmão de 45 anos por infarto

do miocárdio o fez compreender que ele deve prestar mais atenção a sua saúde. O irmão do Sr. Applebod tinha uma história de hipercolesterolemia, e como o colesterol sérico total do Sr. Applebod estava significativamente elevado (296 mg/dL) na sua primeira visita, seu perfil lipídico foi determinado, seu nível de glicose sangüínea foi medido, e diversos outros testes sangüíneos foram solicitados. (O perfil lipídico sangüíneo é um teste que mede a quantidade de várias partículas que contêm triacilgliceróis e colesterol no sangue.) Sua pressão sangüínea sistólica era 162 mm Hg, e a diastólica, 98 mmHg, ou seja, 162/98 mm Hg (normal = 140/90 mm Hg ou menos). Sua circunferência abdominal era 122 cm (valores saudáveis para homens, menor do que 100 cm; para mulheres, menor do que 88 cm).

O corpo pode produzir ácidos graxos a partir do excesso calórico de carboidrato e proteína. Esses ácidos graxos, juntamente com os ácidos graxos dos quilomícrons (derivados da gordura da dieta), são depositados no tecido adiposo como triacilgliceróis. Assim, o aumento do tecido adiposo de Ivan Applebod originou-se da ingestão de todos os substratos energéticos em excesso às suas necessidades calóricas.

I. DIGESTÃO E ABSORÇÃO

Após o consumo de uma refeição, os alimentos são digeridos (quebrados em componentes mais simples) por uma série de enzimas na boca, no estômago e no intestino delgado, e os produtos da digestão são absorvidos pelo sangue. Esse período, durante o qual ocorre a digestão e a absorção, é chamado de estado alimentado (Figura 2.2).

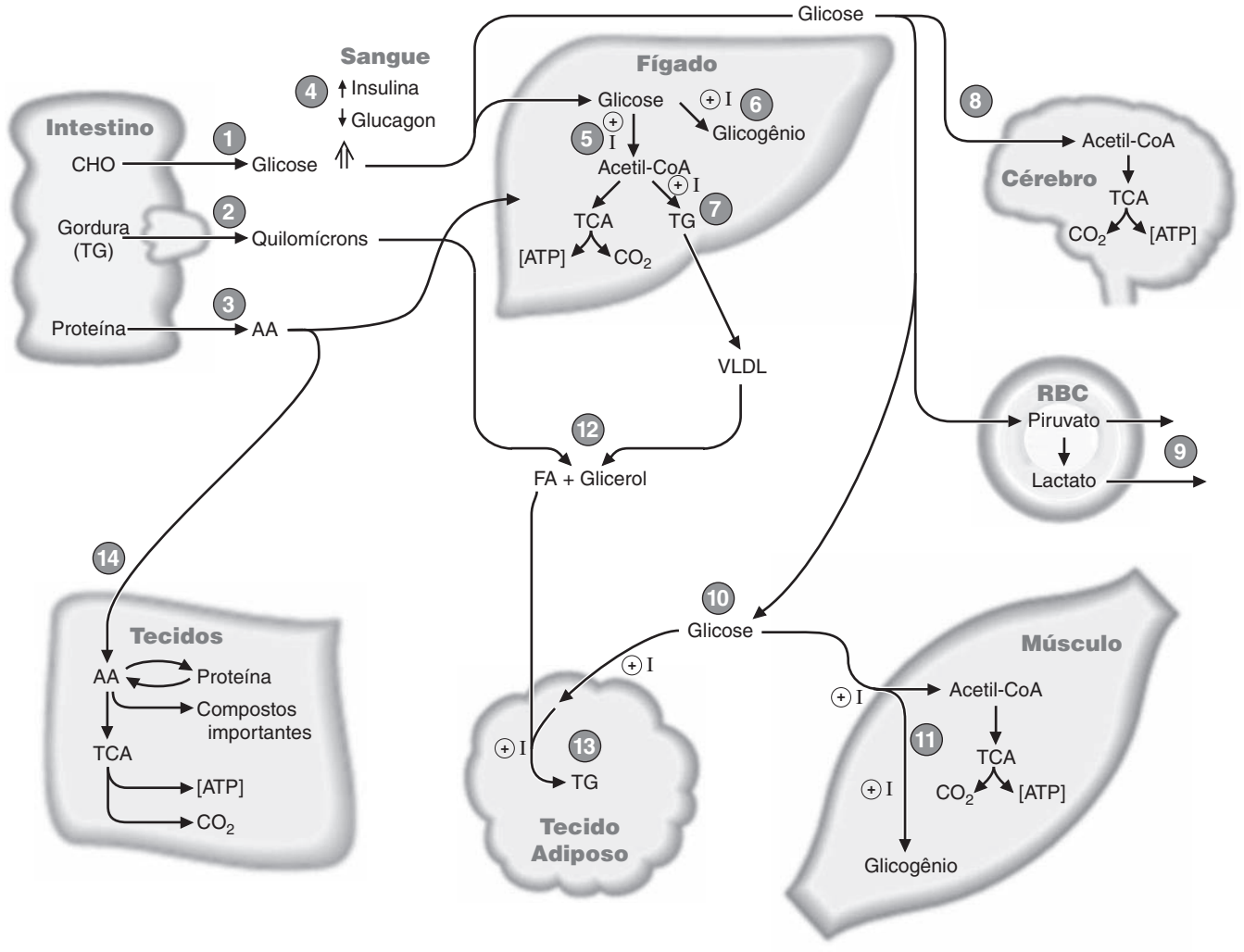


Figura 2.2 O estado alimentado. Os números circulados indicam a ordem aproximada na qual os processos ocorrem. TG = triacilgliceróis; FA = ácido graxo (do inglês ***f**atty **a**cid*); AA = aminoácido; RBC = célula sangüínea vermelha (do inglês ***r**ed **b**lood **c**ell*); VLDL = lipoproteína de muito baixa densidade (do inglês ***v**ery-**l**ow-**d**ensity **l**ipoprotein*); I = insulina; ⊕ = estimulado por.



As enzimas digestivas convertem açúcares complexos em unidades simples de açúcar para a absorção. Açúcares são sacarídeos, e os prefixos "mono" (um), "di" (dois), "tri" (três), "oligo" (pouco) e "poli" (muito) referem-se ao número de unidades de açúcar ligadas entre si.



Enzimas são proteínas que catalisam reações bioquímicas; em outras palavras, elas aumentam a velocidade na qual as reações ocorrem. Seus nomes em geral terminam em "ase".



Proteínas são aminoácidos unidos por meio de ligações peptídicas. Dipeptídeos têm dois aminoácidos, tripeptídeos têm três aminoácidos, e assim por diante. Proteases digestivas são enzimas que clivam as ligações peptídicas entre os aminoácidos (ver Capítulo 1, Figura 1.5).



As gorduras devem ser transportadas no sangue ligadas a proteínas ou em complexos lipoprotéicos, porque elas são insolúveis em água. Assim, tanto triacilgliceróis como colesterol são encontrados em complexos lipoprotéicos.



Os estudos laboratoriais solicitados no momento de sua segunda visita ao consultório mostram que **Ivan Applebod** tem hiperglicemia, uma elevação da glicose sangüínea acima de valores normais. No momento dessa visita, o seu nível de glicose sangüínea pós-prandial de 2 horas era de 205 mg/dL. (Pós-prandial de 2 horas refere-se ao nível de glicose medido 2 horas após uma refeição, quando a glicose deve ter sido captada pelos tecidos e a glicose sangüínea ter retornado aos níveis de jejum, aproximadamente 80-100 mg/dL). Sua glicose sangüínea determinada após um jejum *overnight* (de uma noite) estava em 162 mg/dL. Como ambas as medidas de glicose sangüínea estavam significativamente acima do normal, foi feito o diagnóstico de diabetes melito tipo 2, anteriormente conhecida como diabetes melito não-insulino-dependente (NIDDM, do inglês ***n**on-**i**nsulin-**d**ependent **d**iabetes **m**ellitus*). Nessa doença, o fígado, o músculo e o tecido adiposo são relativamente resistentes à ação da insulina em promover a captação de glicose para dentro das células e o seu armazenamento como glicogênio e triacilgliceróis. Portanto, mais glicose permanece no sangue.

A. Carboidratos

Os carboidratos da dieta são convertidos em monossacarídeos. O amido, um polímero de glicose, é o principal carboidrato da dieta. Ele é digerido pela α-amilase salivar e, então, pela α-amilase pancreática, que age no intestino delgado. Di, tri e oligossacarídeos produzidos por essas α-amilases são clivados a glicose pelas enzimas digestivas localizadas na superfície da membrana em "borda em escova" das células epiteliais intestinais. Os dissacarídeos da dieta também são clivados pelas enzimas nessa borda em escova. A sacarase converte o dissacarídeo sacarose (açúcar de mesa) em glicose e frutose, e a lactase converte o dissacarídeo lactose (açúcar do leite) em glicose e galactose. Os monossacarídeos produzidos pela digestão e os da dieta são absorvidos pelas células epiteliais intestinais e liberados na veia porta hepática, que os carrega para o fígado.

B. Proteínas

As proteínas da dieta são clivadas a aminoácidos por proteases (ver Figura 2.2, círculo 3). A pepsina age no estômago, e as enzimas proteolíticas produzidas pelo pâncreas (tripsina, quimotripsina, elastase e as carboxipeptidases) agem no lúmen do intestino delgado. As aminopeptidases e as di e tripeptidases associadas às células epiteliais intestinais completam a conversão das proteínas da dieta em aminoácidos que são absorvidos pelas células epiteliais intestinais e liberados na veia porta hepática.

C. Gorduras

A digestão de gorduras é mais complexa do que a de carboidratos e proteínas, porque elas não são muito solúveis em água. Os triacilgliceróis da dieta são emulsificados no intestino pelos sais biliares, os quais são sintetizados no fígado e armazenados na vesícula biliar. A lipase pancreática converte os triacilgliceróis no lúmen do intestino em ácidos graxos e em 2-monoacilgliceróis (glicerol com um ácido graxo esterificado no carbono 2), os quais interagem com os sais biliares para formar minúsculas microgotas chamadas micelas. Os ácidos graxos e os 2-monoacilgliceróis são absorvidos dessas micelas pelas células epiteliais intestinais, onde são sintetizados novamente em triacilgliceróis. Os triacilgliceróis são empacotados com proteínas, fosfolipídeos, colesterol e outros compostos em complexos lipoprotéicos, conhecidos como quilomícrons, que são secretados na linfa e, por fim, entram na corrente sangüínea (ver Figura 2.2, círculo 2).

II. MUDANÇAS NOS NÍVEIS HORMONAIS APÓS UMA REFEIÇÃO

Após uma refeição rica em carboidratos, o pâncreas é estimulado a liberar o hormônio insulina, e a liberação do hormônio glucagon é inibida (ver Figura 2.2, círculo 4). Os hormônios endócrinos são liberados pelas glândulas endócrinas, tais como o pâncreas, em resposta a um estímulo específico. Eles carregam pelo sangue, entre os tecidos, mensagens sobre o estado fisiológico global do corpo. Nos tecidos-alvo, eles ajustam a taxa de várias rotas metabólicas para satisfazer as condições em mudança. O hormônio endócrino insulina, que é secretado pelo pâncreas em resposta a uma refeição rica em carboidrato, carrega a mensagem de que a glicose da dieta está disponível e pode ser utilizada e armazenada. A liberação de outro hormônio, o glucagon, é suprimida pela glicose e pela insulina. O glucagon informa que a glicose deve ser gerada a partir das reservas de substrato energético endógenas. As mudanças subseqüentes nos níveis hormonais circulantes causam mudanças nos padrões metabólicos do corpo envolvendo um número de diferentes tecidos e rotas metabólicas.

III. DESTINO DA GLICOSE APÓS UMA REFEIÇÃO

A. Conversão em Glicogênio, Triacilgliceróis e CO_2 no Fígado

Como a glicose deixa o intestino via veia porta hepática, e o fígado é o primeiro tecido que ela atravessa, ele extrai uma porção dessa glicose do sangue. Um pouco da glicose que entra nos hepatócitos (células do fígado) é oxidado em rotas de geração de trifosfato de adenosina (ATP) para satisfazer as necessidades energéticas imediatas dessas células, e o restante é convertido em glicogênio e triacilgliceróis ou utilizado para reações biossintéticas. No fígado, a insulina promove a captação de glicose por aumentar sua utilização como substrato energético e seu armazenamento como glicogênio e triacilgliceróis (ver Figura 2.2, círculos 5, 6 e 7).

Quando a glicose está sendo oxidada a CO_2, ela primeiramente é oxidada a piruvato na rota da glicólise. O piruvato é, então, oxidado a acetil-CoA. O grupo acetil entra no ciclo do ácido tricarboxílico (TCA, do inglês ***tric**arboxylic **a**cid*), onde é completamente oxidado a CO_2. A energia das reações de oxidação é utilizada para gerar ATP.

Os estoques de glicogênio hepático alcançam um valor máximo de aproximadamente 200 a 300 g após uma refeição rica em carboidrato, enquanto os estoques de gordura do corpo são relativamente ilimitados. Conforme o estoque de glicogênio começa a ser preenchido, o fígado também começa a converter um pouco do excesso de glicose que ele recebe em triacilgliceróis. Tanto a porção glicerol quanto a porção ácido graxo dos triacilgliceróis podem ser sintetizadas a partir de glicose. Os ácidos graxos também são obtidos pré-formados do sangue. Entretanto, o fígado não armazena triacilgliceróis, mas os empacota juntamente com proteínas, fosfolipídeos e colesterol em complexos lipoprotéicos, conhecidos como lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), que são secretados na corrente sangüínea. Uma pequena quantidade dos ácidos graxos da VLDL é captada pelos tecidos para suas necessidades energéticas imediatas, mas a maioria é armazenada no tecido adiposo como triacilgliceróis.



No fígado, e na maioria dos outros tecidos, glicose, gordura e outros substratos energéticos são oxidados ao grupo acetil de dois carbonos ($CH_3-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-$) da acetil-CoA. A CoA, que torna o grupo acetil mais reativo, é um co-fator (a coenzima A) derivado da vitamina pantotenato. O grupo acetil da acetil-CoA é completamente oxidado a CO_2 no ciclo do TCA (ver Figura 1.4). O trifosfato de adenosina (ATP) é o produto final dessas rotas oxidativas. O ATP contém energia derivada das reações catabólicas de oxidação produtoras de energia e transfere essa energia para processos anabólicos e outros que requeiram energia na célula.

B. Metabolismo da Glicose em Outros Tecidos

A glicose que vem do intestino e que não é metabolizada pelo fígado vai através sangue para os tecidos periféricos (a maioria dos outros tecidos), onde ela pode ser oxidada para produzir energia. A glicose é o único substrato energético que pode ser utilizado por todos os tecidos. Muitos tecidos armazenam quantidades pequenas de glicose como glicogênio. Os músculos têm reservas de glicogênio relativamente grandes.

A insulina estimula muito o transporte de glicose para dentro dos dois tecidos que possuem a maior massa do corpo, o músculo e o tecido adiposo. Ela tem efeitos muito pequenos sobre o transporte de glicose para outros tecidos.



O metabolismo de substratos energéticos é freqüentemente discutido como se o corpo consistisse apenas em cérebro, músculo (esquelético e cardíaco), fígado, tecido adiposo, células sangüíneas vermelhas, rim e células epiteliais intestinais ("o intestino"). Esses são os tecidos dominantes em termos de economia global de substrato energético, e os que nós descrevemos com mais freqüência, mas é evidente que todos os tecidos requerem substratos energéticos para produzir energia, e muitos têm requerimentos de substratos energéticos específicos.

1. CÉREBRO E OUTROS TECIDOS NEURAIS

O cérebro e outros tecidos neurais são muito dependentes de glicose para suas necessidades energéticas. Eles, em geral, oxidam-na completamente via glicólise e ciclo do TCA a CO_2 e H_2O, gerando ATP (ver Figura 2.2, círculo 8). Exceto sob condições de jejum, a glicose é o único substrato energético importante desses tecidos. Ela é, também, um dos principais precursores de neurotransmissores, os compostos químicos que transmitem os impulsos elétricos (como gradientes iônicos) entre os neurônios. A queda da glicose sangüínea muito abaixo dos níveis normais provoca tontura e aturdimento e, se progredir, coma e finalmente morte. Em condições normais, de não-jejum, o cérebro e o restante do sistema nervoso requerem aproximadamente 150 g de glicose por dia.

2. CÉLULAS SANGÜÍNEAS VERMELHAS

A glicose é o único substrato energético utilizado pelas células sangüíneas vermelhas, pois elas não possuem mitocôndrias. A oxidação de ácidos graxos e de aminoácidos, a cadeia transportadora de elétrons e a fosforilação oxidativa (geração de ATP que é dependente de O_2 e da cadeia transportadora de elétrons) ocorrem na mitocôndria. A

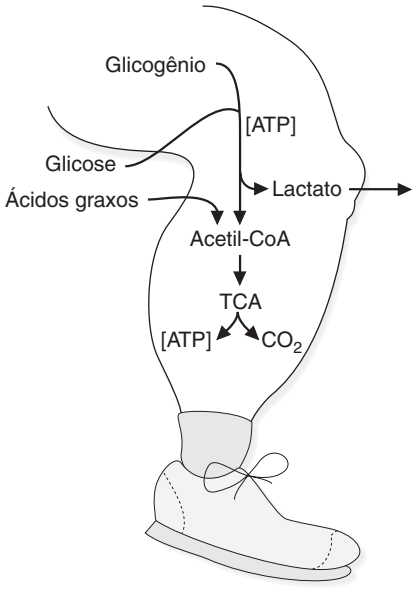


Figura 2.3 Oxidação de substratos energéticos no músculo esquelético em exercício. O músculo em exercício utiliza mais energia do que o músculo em repouso, e, portanto, a utilização de substratos energéticos está aumentada para suprir mais ATP.

glicose, entretanto, gera ATP a partir da glicólise anaeróbica no citosol, e, dessa forma, as células sangüíneas vermelhas obtêm toda a sua energia por esse processo. Na glicólise anaeróbica, o piruvato formado a partir da glicose é convertido a lactato, que é, então, liberado no sangue (ver Figura 2.2, círculo 9).

Sem glicose, as células sangüíneas vermelhas não podem sobreviver. Como são elas que carregam oxigênio dos pulmões para os tecidos, sua ausência causaria falta de energia na maioria dos tecidos do corpo, pois eles requerem O_2 para converter completamente seus substratos energéticos em CO_2 e H_2O.

3. MÚSCULO

Os músculos esqueléticos em exercício podem utilizar glicose do sangue ou dos seus próprios estoques de glicogênio, convertendo a glicose em lactato por meio da glicólise ou oxidando-a por completo a CO_2 e H_2O. O músculo também utiliza outros substratos energéticos do sangue, tais como os ácidos graxos (Figura 2.3). Após uma refeição, a glicose é utilizada pelo músculo para repor os estoques de glicogênio que são exauridos durante o exercício. A glicose é transportada para as células musculares e convertida em glicogênio por processos que são estimulados por insulina.

4. TECIDO ADIPOSO

A insulina estimula o transporte de glicose para as células adiposas, bem como para as células musculares. Os adipócitos oxidam glicose para produzir energia e também a utilizam como fonte da porção glicerol dos triacilgliceróis que armazenam (ver Figura 2.2, círculo 10).

IV. DESTINO DAS LIPOPROTEÍNAS NO ESTADO ALIMENTADO

Dois tipos de lipoproteínas, quilomícrons e VLDL, são produzidos no estado alimentado. A principal função dessas lipoproteínas é fornecer um sistema de transporte sangüíneo para os triacilgliceróis, os quais são muito insolúveis em água. Entretanto, elas também contêm o lipídeo colesterol, que é relativamente insolúvel em água. Os triacilgliceróis dos quilomícrons são formados nas células epiteliais intestinais a partir dos produtos da digestão dos triacilgliceróis da dieta. Os triacilgliceróis da VLDL são sintetizados no fígado.

Quando essas lipoproteínas passam pelos vasos sangüíneos, no tecido adiposo, seus triacilgliceróis são degradados a ácidos graxos e glicerol (Figura 2.2, círculo 12). Os ácidos graxos entram nas células adiposas e se combinam com o glicerol que é produzido a partir da glicose sangüínea. Os triacilgliceróis resultantes são armazenados nas células adiposas na forma de grandes gotas de gordura. Os remanescentes dos quilomícrons são removidos do sangue pelo fígado, e os remanescentes das VLDL podem ser removidos pelo fígado ou podem formar lipoproteína de densidade baixa (LDL), que é removida pelo fígado ou pelas células periféricas.

Dificilmente chega-se perto dos limites da capacidade de armazenar triacilgliceróis no tecido adiposo. A habilidade dos seres humanos em armazenar gordura parece ser limitada apenas pela quantidade de tecido que pode ser carregada sem sobrecarregar o coração.



O nível de colesterol total de **Ivan Applebod** está agora em 315 mg/dL, levemente maior do que seu nível prévio de 296. (O nível recomendado atualmente para o colesterol sérico total é de 200 mg/dL ou menos.) Seu nível de triacilglicerol é de 250 mg/dL (o normal é entre 60 e 160 mg/dL). Esses níveis de lipídeos indicam que o Sr. Applebod tem hiperlipidemia (nível alto de lipoproteínas no sangue) e, portanto, está em risco para o desenvolvimento futuro de aterosclerose e suas conseqüências, tais como ataques cardíacos e derrames.

V. DESTINO DOS AMINOÁCIDOS NO ESTADO ALIMENTADO

Os aminoácidos derivados das proteínas da dieta vão do intestino para o fígado pela veia porta hepática (ver Figura 2.2, círculo 3). O fígado os utiliza para a síntese de proteínas séricas, bem como de suas próprias proteínas, e para a biossíntese de compostos nitrogenados que necessitam de aminoácidos precursores, tais como aminoácidos não-essenciais, heme, hormônios, neurotransmissores e bases púricas e pirimídicas (p. ex., adenina e citosina no DNA). Ele também pode oxidar aminoácidos ou convertê-los

em glicose ou corpos cetônicos e desfazer-se do nitrogênio na forma de um composto não-tóxico, a uréia.

Muitos dos aminoácidos irão para a circulação periférica, de onde podem ser utilizados pelos outros tecidos para a síntese protéica e para várias rotas biossintéticas ou ser oxidados para energia (ver Figura 2.2, círculo 14). As proteínas sofrem *turnover* (renovação); elas são constantemente sintetizadas e degradadas. Os aminoácidos liberados pela degradação de proteínas bem como os aminoácidos da dieta entram no mesmo *pool* (conjunto) dos aminoácidos livres no sangue. Esse *pool* de aminoácidos livres no sangue pode ser utilizado por todas as células para fornecer a proporção adequada de aminoácidos para a síntese protéica ou para a biossíntese de outros compostos. Geralmente, cada rota biossintética individual, que utiliza um aminoácido precursor, é encontrada em poucos tecidos no corpo.

VI. RESUMO DO ESTADO ALIMENTADO (ABSORTIVO)

Após uma refeição, os substratos energéticos ingeridos são oxidados para satisfazer as necessidades energéticas imediatas. A glicose é o principal substrato energético para a maioria dos tecidos. O excesso de glicose e de outros substratos energéticos é armazenado como glicogênio, principalmente no músculo e no fígado, e como triacilgliceróis no tecido adiposo. Os aminoácidos das proteínas da dieta são convertidos em proteínas corporais ou oxidados como substratos energéticos.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Ivan Applebod. O Sr. Applebod foi informado de que sua obesidade representa um fator de risco para infartos cardíacos e acidentes vasculares cerebrais futuros. Para abastecer seu tecido adiposo extra, seu corpo tem de manter um volume de sangue circulante maior. O aumento de seu volume de sangue contribui não apenas para a elevação de sua pressão sangüínea (ela mesma é um fator de risco para doença vascular), mas também submete seu coração a uma carga de trabalho aumentada. Essa carga aumentada levará ao espessamento do músculo cardíaco e, finalmente, à insuficiência.

A massa adiposa aumentada do Sr. Applebod também tem contribuído para que ele desenvolva diabetes melito tipo 2, caracterizada pela hiperglicemia (níveis altos de glicose sangüínea). O mecanismo por trás dessa interrupção na habilidade de manter níveis normais de glicose sangüínea é, em parte, uma resistência à ação da insulina pelas células adiposas ricas em triacilgliceróis.

Além de diabetes melito, o Sr. Applebod tem uma hiperlipidemia (nível elevado de lipídeos sangüíneos – colesterol e triacilgliceróis elevados), um outro fator de risco para doença cardiovascular. Uma base genética para o distúrbio do Sr. Applebod é inferida a partir de uma história familiar de hipercolesterolemia e da doença coronariana prematura em um irmão.

Nesse momento, os primeiros passos terapêuticos devem ser não-farmacológicos. A obesidade do Sr. Applebod deve ser tratada com restrição calórica e com um programa de exercícios cuidadosamente monitorizado. Uma redução de gordura e de sódio da dieta deve ser aconselhada, como uma tentativa de corrigir sua hiperlipidemia e sua hipertensão, respectivamente.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Medidas antropométricas. A antropometria usa medidas de parâmetros do corpo para monitorar o crescimento normal e a saúde nutricional de indivíduos bem-alimentados e detectar inadequações ou excessos nutricionais. Em adultos, as medidas mais comumente usadas são altura, peso, espessura de prega cutânea do tríceps, circunferência muscular do braço e circunferência da cintura.

A circunferência da cintura de **Ivan Applebod** indica que ele tem um padrão andróide de obesidade (forma de maçã). Os estoques de gordura são distribuídos no corpo em dois diferentes padrões, andróide e ginecóide. Após a puberdade, os homens tendem a armazenar gordura em seus abdomens e na porção superior do corpo (um padrão andróide), enquanto as mulheres tendem a armazenar gordura na região de seus seios, quadris e coxas (um padrão ginecóide). Assim, o homem com sobrepeso típico tende a ter mais uma forma de maçã do que uma mulher com sobrepeso típico, a qual tem mais a forma de pêra. A gordura abdominal carrega um maior fator de risco para hipertensão, doença cardiovascular, hiperinsulinemia, diabetes melito, doença vesicular, derrame e câncer de mama e de endométrio. Ela também carrega um maior fator de risco para a mortalidade total. Como mais homens do que mulheres têm a distribuição andróide, eles correm mais risco de contrair a maioria dessas condições. Mas as mulheres que depositam sua gordura em excesso de uma maneira mais andróide têm um risco maior do que as mulheres cuja distribuição de gordura é mais ginecóide. A deposição de gordura na porção superior do corpo tende a ocorrer mais por hipertrofia das células existentes, enquanto a deposição de gordura na porção inferior do corpo é por diferenciação de novas células adiposas (hiperplasia). Isso pode explicar, parcialmente, porque muitas mulheres com obesidade da porção inferior do corpo têm dificuldade em perder peso.



Para obter medidas confiáveis de espessura de prega cutânea, os procedimentos são definidos de forma cuidadosa. Por exemplo, na medida do tríceps, uma prega cutânea na face posterior do braço não-dominante, na metade da distância entre o ombro e o cotovelo, é pinçada e afastada do músculo subjacente. A leitura da espessura de prega cutânea é feita no tempo de 2 a 3 segundos após a aplicação do plicômetro, porque o plicômetro comprime a pele. Mesmo quando esses procedimentos são realizados por nutricionistas experientes, medidas confiáveis são difíceis de ser obtidas.



A razão cintura/quadril tem sido usada, em vez da circunferência da cintura, como medida de obesidade abdominal na tentativa de corrigir diferenças individuais com respeito ao tipo de corpo e estrutura óssea. Nessas medidas, a circunferência da cintura é divida pela circunferência do quadril (medida na crista ilíaca). A média da razão cintura/quadril para homens é 0,93 (com uma amplitude de 0,75-1,10) e, para mulheres, é 0,83 (com uma amplitude de 0,70-1,00). Contudo, a circunferência da cintura correlaciona-se melhor com a gordura intra-abdominal e os fatores de risco associados do que a razão cintura/quadril.



Peso e altura. O peso deve ser medido usando-se uma balança, do tipo alavanca ou trave, calibrada, e o paciente deve estar vestindo avental ou roupas de baixo. A altura, para adultos, deve ser medida com o paciente em pé contra uma superfície reta, sem sapatos, com os calcanhares juntos e com a cabeça ereta e nivelada. Peso e altura são usados no cálculo do índice de massa corporal (IMC).



Espessura de prega cutânea. Mais da metade da gordura do corpo está depositada no tecido subcutâneo abaixo da pele, e o percentual aumenta com o aumento de peso. Para fornecer uma estimativa da quantidade de gordura do corpo, um plicômetro padronizado é utilizado para pinçar uma prega cutânea, em geral em mais de um local (p. ex., áreas do bíceps, do tríceps, subescapular e supra-ilíaca). A obesidade, por essas técnicas antropométricas físicas, é definida pela espessura da dobra de gordura maior do que o percentil 85 para adultos jovens; ou seja, 18,6 mm para homens e 25,1 mm para mulheres.



Antropometria do braço. A circunferência muscular do braço (CMB, do inglês ***a**rm **m**uscle **c**ircunference,* AMC), também chamada de circunferência muscular medial do braço (CMMB; MUAMC, do inglês ***m**id **u**pper **a**rm **m**uscle **c**ircunference*), reflete tanto a adequação calórica quanto a massa muscular e pode servir como um índice geral de desnutrição do tipo marasmo. A circunferência do braço é medida no ponto médio do braço esquerdo por uma fita flexível tipo fibra-de-vidro. A circunferência muscular do braço pode ser calculada pela fórmula que subtrai um fator relacionado à espessura de prega cutânea (EPC) da circunferência do braço:

CMMB (cm) = circunferência do braço (cm) – (3,14 X EPC mm) / 10

em que CMMB é a circunferência muscular medial do braço em cm e EPC é espessura de prega cutânea, expressa em mm.

Os valores de CMMB podem ser comparados com gráficos de referência disponíveis para ambos os sexos e todas as idades. A desnutrição protéico-calórica e o balanço nitrogenado negativo induzem a perda muscular e a diminuição da circunferência muscular.



Circunferência da cintura. A circunferência da cintura é outra medida antropométrica que serve como um indicador da composição do corpo, mas é usada como uma medida de obesidade e de distribuição de gordura do corpo (a "forma de maçã"), não de desnutrição. Ela representa a distância ao redor da cintura de uma pessoa em pé (no umbigo). Uma linha de cintura de alto risco é maior do que 35 polegadas (88 cm), para as mulheres, e 40 polegadas (102 cm), para os homens.

Leituras Sugeridas

Garrow JS. Obesity. In: Cohen RD, Lewis B, Alberti KGMM, Denman AM, eds. The metabolic and molecular basis of acquired disease. London: Bailliere Tindall, 1990.

Vários artigos sobre obesidade e regulação do peso corporal foram publicados na Science 1998;280:1363-1390.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 2

1. Durante a digestão de uma refeição mista,
   (A) amido e outros polissacarídeos são transportados para o fígado.
   (B) proteínas são convertidas a dipeptídeos, que entram no sangue.
   (C) triacilgliceróis da dieta são transportados na veia porta para o fígado.
   (D) monossacarídeos são transportados ao tecido adiposo pelo sistema linfático.
   (E) os níveis de glicose aumentam no sangue.

2. Após a digestão de uma refeição rica em carboidratos,

   (A) o glucagon é liberado pelo pâncreas.
   (B) a insulina estimula o transporte de glicose para dentro do cérebro.
   (C) o fígado e o músculo esquelético utilizam glicose como seus principais substratos energéticos.
   (D) os músculos esqueléticos convertem glicose em ácidos graxos.
   (E) as células sangüíneas vermelhas oxidam glicose a CO_2.

3. Aminoácidos derivados da digestão de proteínas da dieta

   (A) fornecem nitrogênio para a síntese de aminoácidos não-essenciais no fígado
   (B) podem ser convertidos em glicose na maioria dos tecidos.
   (C) não podem ser convertidos em gordura do tecido adiposo.
   (D) liberam nitrogênio que é convertido em uréia no músculo esquelético.
   (E) são geralmente convertidos em proteínas do corpo ou excretados na urina.

4. Níveis elevados de quilomícrons foram medidos no sangue de um paciente. Qual terapia dietética deveria ser mais útil para baixar os níveis de quilomícron?

   (A) Ingestão diminuída de calorias
   (B) Ingestão diminuída de gordura
   (C) Ingestão diminuída de colesterol
   (D) Ingestão diminuída de amido
   (E) Ingestão diminuída de açúcar

5. Um paciente apresentou um IMC de 33 kg/m^2 e uma circunferência de cintura de 119 cm. Qual terapia dietética poderia ser considerada mais útil?

   (A) Ingestão diminuída de calorias totais, porque todos os substratos energéticos podem ser convertidos em triacilgliceróis do tecido adiposo.
   (B) A mesma quantidade de calorias totais, mas substituição de calorias de carboidratos por calorias de gorduras
   (C) A mesma quantidade de calorias totais, mas substituição de calorias de proteínas por calorias de gorduras.
   (D) Uma dieta pura em gorduras, porque somente os ácidos graxos sintetizados no fígado podem ser depositados como triacilgliceróis no tecido adiposo.
   (E) Uma dieta de alimentos específicos, tais como sorvete e refrigerante dietético.

3 Jejum

***O estado de jejum (fasting)**. O jejum começa cerca de 2 a 4 horas após uma refeição, quando os níveis de glicose sangüínea retornam aos níveis basais, e continua até que eles comecem a aumentar, após o início da próxima refeição. Dentro de aproximadamente 1 hora após uma refeição, os níveis de glicose sangüínea começam a cair. Conseqüentemente, os níveis de **insulina** declinam, e os níveis de glucagon aumentam. Essas mudanças nos níveis hormonais disparam a **liberação de substratos energéticos** a partir das reservas do corpo. O **glicogênio hepático** é **degradado** pelo processo de **glicogenólise**, o qual fornece glicose para o sangue. Os **triacilgliceróis do tecido adiposo** são **mobilizados** pelo processo de **lipólise**, o qual libera ácidos graxos e glicerol para o sangue. A utilização de **ácidos graxos** como substrato energético aumenta com a duração do jejum; o ácido graxo é o **principal substrato energético** oxidado durante o jejum noturno.*

***Oxidação de substratos energéticos**. Durante o jejum, a **glicose** continua a ser **oxidada** pelos **tecidos dependentes de glicose**, tais como o cérebro e as células vermelhas do sangue, e os **ácidos graxos** são oxidados por tecidos como o músculo e o fígado. O músculo e a maioria dos outros tecidos oxidam ácidos graxos completamente a CO_2 e H_2O. Entretanto, o **fígado** oxida parcialmente os ácidos graxos a moléculas menores chamadas **corpos cetônicos**, os quais são liberados no sangue. O músculo, o rim e alguns outros tecidos obtêm energia da oxidação completa de corpos cetônicos no ciclo do ácido tricarboxílico (TCA).*

***Manutenção da glicose sangüínea (glicemia)**. Conforme o jejum progride, o **fígado produz glicose** não apenas pela **glicogenólise** (liberação de glicose a partir do glicogênio), mas também por um segundo processo, chamado **gliconeogênese** (síntese de glicose a partir de compostos não-carboidratos). As principais **fontes de carbono** para a gliconeogênese são o **lactato**, o **glicerol** e os **aminoácidos**. Quando os carbonos dos aminoácidos são convertidos a glicose pelo fígado, seus **nitrogênios** são convertidos a **uréia**.*

***Inanição (starvation)**. Um jejum de três ou mais dias caracteriza o estado de inanição. O **músculo** continua a queimar ácidos graxos, mas **diminui** a utilização de **corpos cetônicos**. Como resultado, a concentração de corpos cetônicos no sangue aumenta a um nível no qual o cérebro começa a oxidá-los para produzir energia. O cérebro, então, necessita menos glicose, e, portanto, o fígado diminui sua taxa de gliconeogênese. Conseqüentemente, menos **proteína** é degradada no músculo e em outros tecidos para fornecer aminoácidos para a gliconeogênese. A reserva de proteína preserva funções vitais pelo maior tempo possível. Devido a essas mudanças nos padrões de utilização de substratos energéticos de vários tecidos, os seres humanos podem sobreviver por períodos longos sem a ingestão de alimento.*

Rotas denominadas com o sufixo "lise" são aquelas nas quais moléculas complexas são quebradas ou "lisadas" em unidades menores. Por exemplo, na glicogenólise, o glicogênio é decomposto em subunidades de glicose; na glicólise, a glicose é decomposta em duas moléculas de piruvato; na lipólise, triacilgliceróis são decompostos em ácidos graxos e glicerol; na proteólise, proteínas são decompostas em seus constituintes aminoácidos.

Gliconeogênese significa formação (gênese) de nova (neo) glicose e, por definição, converte novos (não-carboidratos) precursores em glicose.

Os graus de desnutrição protéico-calórica (marasmo) são classificados de acordo com o IMC.

Desnutrição protéico-calórica	IMC (kg/cm^2)
I	17,0-18,4
II	16,0-16,9
III	< 16,0

Percy Veere apresentou o nível I de desnutrição protéico-calórica. Com a altura de 1,80m, ele deveria ter um peso acima de 59,8 kg para atingir um IMC superior a 18,5. **Ann O'Rexia** apresentou o nível III de desnutrição protéico-calórica. Com 1,67 m de altura, seu peso corporal deve ser superior a 51,6 kg para que ela atinja um IMC de 18,5.

SALA DE ESPERA

Percy Veere foi internado no hospital com um diagnóstico de depressão mental associada à desnutrição (ver Capítulo 1). No momento da admissão, seu peso corporal de 56,7 kg dava a ele um índice de massa corporal (IMC) de 17,5 (variação normal, 18,5 a 24,9). Sua albumina sérica estava 10% abaixo do limite inferior da variação normal, e ele exibia sinais de deficiência de ferro e vitaminas.

Testes adicionais foram feitos para auxiliar a avaliação do grau de desnutrição do Sr. Veere e o progresso de sua recuperação. A circunferência de seu braço e a prega cutânea de seu tríceps foram medidas, e a circunferência muscular medial do braço foi calculada (ver Capítulo 2, Medidas Antropométricas). Sua transferrina sérica, bem como sua albumina sérica foram medidas. A glicose sangüínea e a concentração de corpos cetônicos em jejum foram determinadas por meio de amostras de sangue coletadas antes do café da manhã do dia seguinte. Uma amostra de urina de 24 horas foi coletada para determinar a excreção de corpos cetônicos e a excreção de creatinina para cálculo do índice creatinina-altura (CA), uma medida da depleção protéica do músculo esquelético.



Ann O'Rexia estava recebendo aconselhamento psicológico para anorexia nervosa, mas com pouco sucesso (ver Capítulo 1). Ela consultou seu ginecologista porque não estava menstruando há 5 meses. Ela também reclamava de ficar facilmente fatigada. O médico identificou que o peso corporal de Ann, de 38,55 kg, era menos de 65% de seu peso ideal (seu IMC era agora 13,7). Ele recomendou hospitalização imediata. O diagnóstico na admissão foi desnutrição grave secundária à anorexia nervosa. Os achados clínicos incluíam temperatura corporal central, pressão sangüínea e pulso diminuídos (respostas adaptativas à desnutrição). Seu médico solicitou dosagens dos níveis sangüíneos de glicose e corpos cetônicos e fez um teste de presença de corpos cetônicos na urina, bem como solicitou avaliação funcional de seu coração e seus rins.

I. O ESTADO DE JEJUM

Os níveis de glicose sangüínea atingem um pico cerca de 1 hora após uma refeição e, então, diminuem conforme os tecidos oxidam glicose ou a convertem em formas de armazenamento de substratos energéticos. Não mais do que 2 horas após uma refeição, os níveis retornam à faixa de jejum (entre 80 e 100 mg/dL). Essa diminuição na glicose sangüínea faz com que o pâncreas diminua sua secreção de insulina, o que provoca a queda do nível sérico dessa. O fígado responde a esse sinal hormonal começando a degradar suas reservas de glicogênio e a liberar glicose no sangue.

Se for realizada outra refeição dentro de poucas horas, retorna-se ao estado alimentado. Entretanto, se o jejum continuar por um período de 12 horas, entra-se no estado basal (também conhecido como estado pós-absortivo). Em geral, considera-se que uma pessoa está no estado basal após um jejum noturno, quando nenhum alimento foi ingerido desde o jantar da noite anterior. Nesse momento, o nível de insulina sérica está baixo, e o de glucagon está aumentando. A Figura 3.1 ilustra as principais características do estado basal.

A. A Glicose Sangüínea e o Papel do Fígado Durante o Jejum

O fígado mantém os níveis de glicose sangüínea durante o jejum, e seu papel é, portanto, crucial. A glicose é o principal substrato energético para tecidos como o cérebro e o tecido neural e o único substrato energético para as células vermelhas do sangue. A maioria dos neurônios não possui as enzimas necessárias para a oxidação de ácidos graxos, mas pode utilizar corpos cetônicos até um certo limite. As células vermelhas do sangue não possuem mitocôndrias, as quais contêm as enzimas de oxidação de ácidos graxos e corpos cetônicos, e podem utilizar apenas glicose como substrato energético. Portanto, é fundamental que o nível de glicose sangüínea não diminua muito e nem de forma muito rápida.

Inicialmente, as reservas de glicogênio hepático são degradadas para fornecer glicose para o sangue, mas elas são limitadas. Embora os níveis de glicogênio hepático possam aumentar até 200 a 300 g após uma refeição, restam apenas cerca de 80 g após um jejum noturno. Entretanto, o fígado tem outro mecanismo para produzir glicose sangüínea conhecido como gliconeogênese. Na gliconeogênese, lactato, glicerol e aminoácidos são utilizados como fontes de carbono para sintetizar glicose. Conforme o jejum continua, a gliconeogênese adiciona-se de modo progressivo à glicose produzida pela glicogenólise no fígado.



Percy Veere não se alimentou bem no seu primeiro dia de hospitalização. Sua glicemia de jejum determinada na manhã do segundo dia foi de 72 mg/dL (normal, jejum noturno = 80 a 100 mg/dL). Assim, apesar de sua desnutrição e de seu jejum noturno, sua glicemia estava sendo mantida em níveis bem próximos dos normais pela gliconeogênese, por meio de precursores aminoácidos. Se sua glicose sangüínea diminuísse abaixo de 50 a 60 mg/dL durante o jejum, seu cérebro ficaria incapaz de absorver glicose suficientemente rápido para obter a quantidade necessária para produzir energia e para a síntese de neurotransmissores, resultando em coma e, por fim, morte. Embora muitos outros tecidos, como as células vermelhas do sangue, também sejam dependentes, de forma total ou parcial, de glicose para produzir energia, eles são mais aptos do que o cérebro para exercer suas funções sob baixas concentrações de glicose sangüínea.

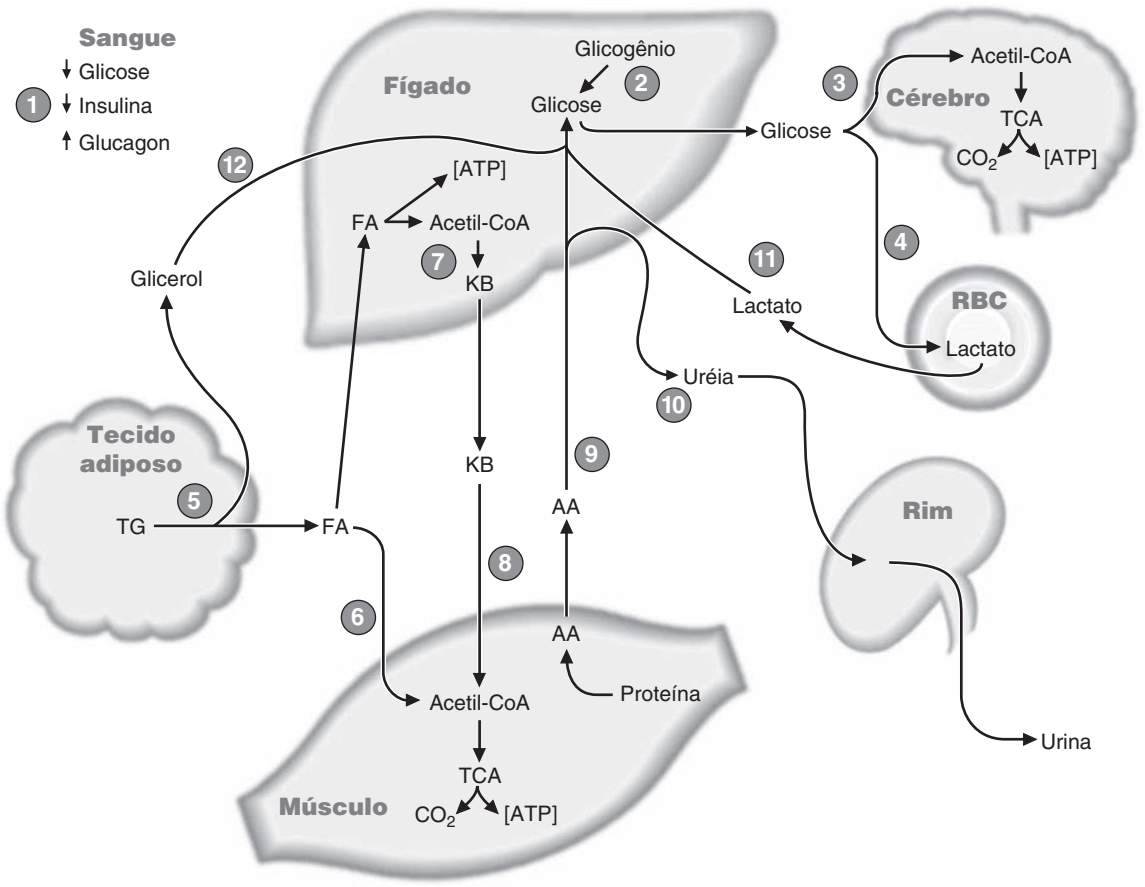


Figura 3.1 Estado basal. Esse estado ocorre após um jejum noturno (12 horas). Os números circulados servem de guia para indicar a ordem aproximada na qual os processos começam a ocorrer. KB = corpos cetônicos (do inglês ***k**etone **b**odies*). Outras abreviaturas estão definidas na Figura 2.1.



No segundo dia de hospitalização, os níveis de corpos cetônicos séricos de **Percy Veere** estavam em 110 μM (o valor normal após um jejum de 12 horas é de aproximadamente 70 μM). Não foram detectados corpos cetônicos em sua urina. Nesse estágio de desnutrição protéico-calórica, o Sr. Veere ainda permanecia com reservas de gordura. Após 12 horas de jejum, a maioria dos seus tecidos está utilizando ácidos graxos como substrato energético principal, e o fígado está começando a produzir corpos cetônicos a partir de ácidos graxos. Conforme aumentam esses corpos cetônicos no sangue, a sua utilização como substrato energético irá aumentar.

O lactato é um produto da glicólise nas células vermelhas do sangue e no músculo em exercício, o glicerol é obtido a partir da lipólise dos triacilgliceróis do tecido adiposo, e os aminoácidos são gerados pela degradação de proteína. Como a massa muscular humana é bastante ampla, a maioria dos aminoácidos é suprida pela degradação de proteínas musculares. Esses compostos vão através do sangue para o fígado, onde são convertidos em glicose pela gliconeogênese. Como o nitrogênio dos aminoácidos pode formar amônia, a qual é tóxica para o corpo, o fígado converte esse nitrogênio em uréia. A uréia tem dois grupamentos amino para apenas um carbono (NH_2-CO-NH_2). Ela é um composto muito solúvel e não-tóxico que pode ser excretado pelos rins com facilidade e é, portanto, um meio eficiente para descartar o excesso de amônia.

Conforme o jejum progride, a gliconeogênese torna-se cada vez mais importante como fonte de glicose sangüínea. Após um dia ou mais de jejum, as reservas de glicogênio hepático estão esgotadas, e a gliconeogênese é a única fonte de glicose sangüínea.

B. Papel do Tecido Adiposo Durante o Jejum

Os triacilgliceróis do tecido adiposo são a principal fonte de energia durante o jejum. Eles fornecem ácidos graxos, os quais são, quantitativamente, o principal substrato energético do corpo humano. Os ácidos graxos não são apenas diretamente oxidados por vários tecidos do corpo; eles também são parcialmente oxidados no fígado a produtos de quatro carbonos, chamados corpos cetônicos. Os corpos cetônicos são subseqüentemente oxidados como um substrato energético por outros tecidos.

Conforme os níveis de insulina diminuem e os de glucagon aumentam no sangue, os triacilgliceróis do tecido adiposo são mobilizados por um processo chamado lipólise. Eles são convertidos em ácidos graxos e glicerol, os quais entram no sangue.

É importante observar que a maioria dos ácidos graxos não pode fornecer carbono para a gliconeogênese. Portanto, da vasta reserva de energia dos alimentos nos triacilgliceróis do tecido adiposo, apenas a pequena porção do glicerol vai para o fígado para entrar na rota da gliconeogênese.

Os ácidos graxos servem como substrato energético para o músculo, o rim e para a maioria dos outros tecidos. Eles são oxidados a acetil-CoA e, subseqüentemente, a CO_2 e H_2O no ciclo do TCA, produzindo energia na forma de trifosfato de adenosina (ATP). Além do ATP necessário para manter a integridade celular, o músculo utiliza ATP para a contração, e o rim o utiliza para os processos de transporte urinário.

A maioria dos ácidos graxos que entram no fígado é convertida em corpos cetônicos em vez de ser completamente oxidada a CO_2. O processo de conversão de ácidos graxos a acetil-CoA produz uma quantidade considerável de energia (ATP), o que direciona as reações do fígado sob essas condições. A acetil-CoA é convertida aos corpos cetônicos acetoacetato e β-hidroxibutirato, os quais são liberados no sangue (Figura 3.2).

O fígado não possui uma enzima necessária para a oxidação de corpos cetônicos. Entretanto, os corpos cetônicos podem ser posteriormente oxidados pela maioria das outras células que possuem mitocôndria, tais como o músculo e o rim. Nesses tecidos, o acetoacetato e o β-hidroxibutirato são convertidos em acetil-CoA e, então, oxidados no ciclo do TCA com subseqüente geração de ATP.

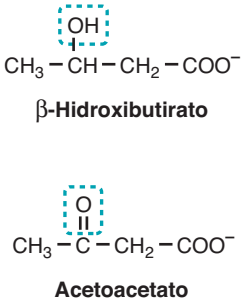


Figura 3.2 β-Hidroxibutirato e acetoacetato. Esses compostos são corpos cetônicos formados no fígado. Um terceiro corpo cetônico, a acetona (CH_3-CO-CH_3), é produzido por descarboxilação não-enzimática do acetoacetato. Entretanto, a acetona é expirada na respiração e não é metabolizada de maneira significativa no corpo.

C. Resumo das Alterações Metabólicas Durante um Jejum Breve

Nos estágios iniciais do jejum, os substratos energéticos armazenados são utilizados para produzir energia (Figura 3.1). O fígado exerce um papel-chave, pois mantém os níveis de glicose sangüínea no intervalo de 80 a 100 mg/dL, primeiramente pela glicogenólise e, subseqüentemente, pela gliconeogênese. Lactato, glicerol e aminoácidos servem como fontes de carbono para a gliconeogênese. Os aminoácidos são fornecidos pelo músculo, e seus nitrogênios são convertidos em uréia no fígado, sendo essa excretada pelos rins.

Os ácidos graxos que são liberados pelo tecido adiposo pelo processo de lipólise são o principal substrato energético do corpo durante o jejum. O fígado oxida apenas de forma parcial a maioria dos seus ácidos graxos, convertendo-os em corpos cetônicos, os quais são liberados no sangue. Assim, durante os estágios iniciais de jejum, os níveis sangüíneos de ácidos graxos e corpos cetônicos começam a aumentar. O músculo utiliza ácidos graxos, corpos cetônicos e, quando em exercício e enquanto durar o suprimento, glicose a partir do glicogênio muscular. Muitos outros tecidos utilizam tanto ácidos graxos quanto corpos cetônicos. Entretanto, as células vermelhas do sangue, o cérebro e outros tecidos neurais utilizam principalmente glicose. As capacidades metabólicas de diferentes tecidos em relação às rotas do metabolismo energético estão resumidas na Tabela 3.1.

II. ALTERAÇÕES METABÓLICAS DURANTE O JEJUM PROLONGADO

Se o padrão de utilização de substratos energéticos que ocorre durante um jejum breve persistir por um período mais longo, a proteína corporal é muito rapidamente consumida, até o ponto no qual as funções críticas serão comprometidas. Felizmente, ocorrem alterações metabólicas durante o jejum prolongado que conservam ("poupam") as proteínas musculares, fazendo o *turnover* (renovação) protéico muscular diminuir. A Figura 3.3 mostra as características principais do metabolismo durante o jejum prolongado (inanição).

A. O Papel do Fígado Durante o Jejum Prolongado

Após 3 a 5 dias de jejum, quando o corpo entra no estado de inanição, o músculo diminui sua utilização de corpos cetônicos e depende, principalmente, de ácidos graxos como substrato energético. O fígado, entretanto, continua a converter ácidos graxos em corpos cetônicos. O resultado é que a concentração de corpos cetônicos no sangue



O fígado sintetiza um grande número de proteínas séricas e as libera no sangue, mas elas diminuem durante a desnutrição. Duas dessas proteínas séricas, a albumina e a transferrina (uma proteína de transporte de ligação de ferro), são freqüentemente medidas para avaliar o estado de desnutrição protéica, sendo a albumina sérica o padrão tradicional. Nenhuma medida é específica para desnutrição protéica. Os níveis de albumina e transferrina séricas diminuem com doença hepática, certas doenças renais, cirurgias e um grande número de outras condições além da desnutrição protéica. Os níveis de transferrina sérica também diminuem na deficiência de ferro. Os valores de **Percy Veere** estavam abaixo do intervalo normal para essas duas proteínas, indicando que sua massa muscular é incapaz de suprir uma quantidade suficiente de aminoácidos tanto para a síntese de proteínas séricas pelo fígado quanto para a gliconeogênese.

Tabela 3.1 Capacidades Metabólicas de Vários Tecidos

Processo	Fígado	Tecido Adiposo	Córtex Renal	Músculo	Cérebro	RBC*
Ciclo do TCA (acetil-CoA → CO_2 + H_2O)	+++	++	+++	+++	+++	−−
β-Oxidação de ácidos graxos	+++	−−	++	+++	−−	−−
Formação de corpos cetônicos	+++	−−	+	−−	−−	−−
Utilização de corpos cetônicos	−−	+	+	+++	+++ (jejum prolongado)	−−
Glicólise (glicose → CO_2 + H_2O)	+++	++	++	+++	+++	−−
Produção de lactato (glicose → lactato)	+	+	−−−	+++ Exercício	+	+++
Metabolismo do glicogênio (síntese e degradação)	+++	+	+	+++	+	−−
Gliconeogênese (lactato, aminoácidos, glicerol → glicose)	+++	−−	+	−−	−−	−−
Ciclo da uréia (amônia → uréia)	+++	−−	−−	−−	−−	−−
Lipogênese (glicose → ácidos graxos)	+++	+	−−	−−	−−	−−

*RBC = células vermelhas do sangue (do inglês *red blood cells*), ou eritrócitos.

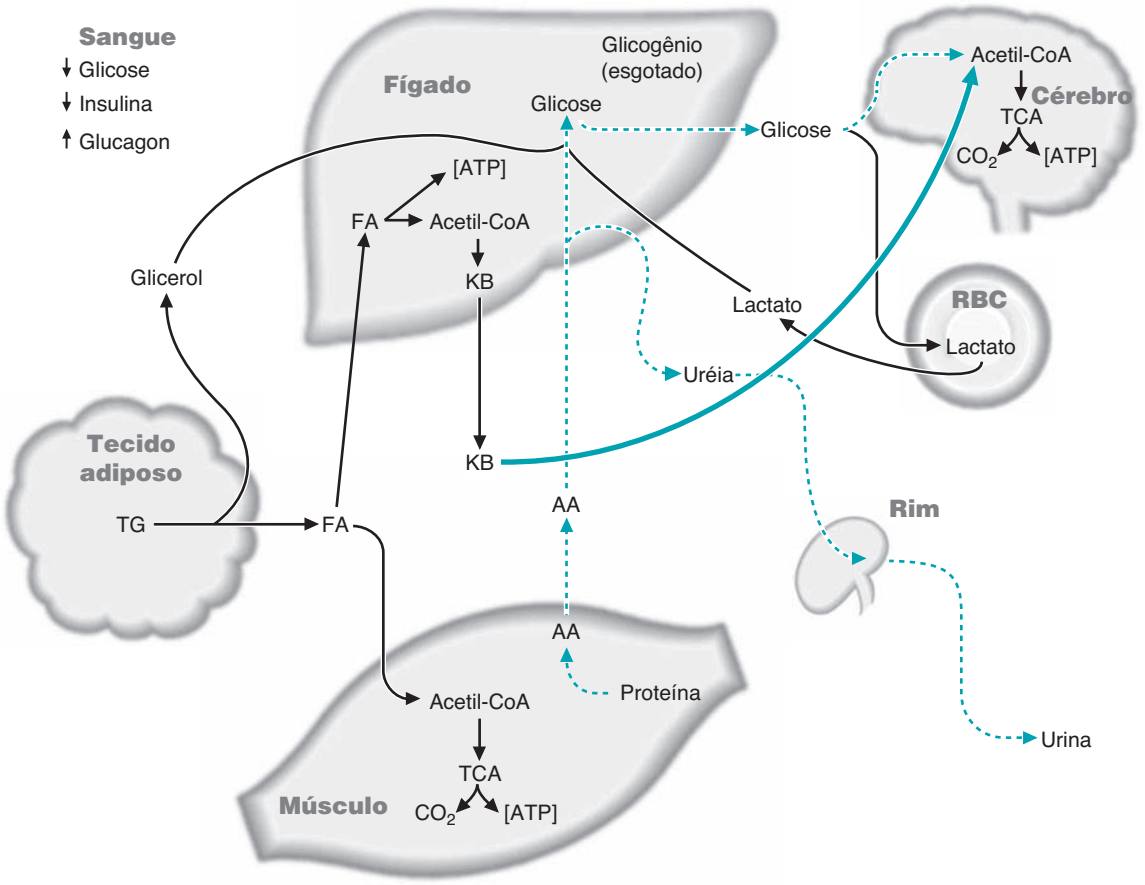


Figura 3.3 Estado de inanição. As abreviaturas estão definidas nas Figuras 2.2 e 3.1. As linhas pontilhadas indicam processos que diminuíram em relação ao estado de jejum, e a linha contínua grossa indica um processo que aumentou.

aumenta (Figura 3.4). O cérebro começa a captar esses corpos cetônicos do sangue e a oxidá-los para produzir energia. Portanto, o cérebro precisa menos glicose do que ele precisava após um jejum noturno (Tabela 3.2).

A glicose ainda é necessária, entretanto, como fonte de energia para as células vermelhas do sangue, e o cérebro continua a utilizar uma quantidade limitada de glicose, a qual ele oxida para produzir energia e utiliza como fonte de carbono para a síntese de neurotransmissores. Em termos globais, entretanto, a glicose é "poupada" (conservada). Menos glicose é utilizada pelo corpo, e, portanto, o fígado precisa produzi-la em menor quantidade por hora durante o jejum prolongado do que durante períodos mais curtos de jejum.

Como as reservas de glicogênio no fígado se esgotam em cerca de 30 horas de jejum, a gliconeogênese é o único processo pelo qual o fígado pode fornecer glicose para o sangue se o jejum continua. O *pool* (conjunto) de aminoácidos, produzido pela degradação de proteínas, continua a ser a principal fonte de carbono para a gliconeogênese. Uma fração desse *pool* de aminoácidos também é utilizada para funções biossintéticas (p. ex., síntese de heme e neurotransmissores) e nova síntese protéica, processos que devem continuar durante o jejum. Entretanto, como resultado da taxa diminuída de gliconeogênese durante o jejum prolongado, as proteínas são "poupadas"; menos proteína é degradada para fornecer aminoácidos para a gliconeogênese.

Enquanto está convertendo o carbono de aminoácidos em glicose na gliconeogênese, o fígado também converte o nitrogênio desses aminoácidos em uréia. Conseqüentemente, como a produção de glicose diminui durante o jejum prolongado comparada com o jejum breve, a produção de uréia também diminui (Figura 3.5).

B. Papel do Tecido Adiposo Durante o Jejum Prolongado

Durante o jejum prolongado, o tecido adiposo continua a degradar suas reservas de triacilgliceróis, fornecendo ácidos graxos e glicerol para o sangue. Esses ácidos graxos são a principal fonte de substratos energéticos para o corpo. O glicerol é convertido em glicose, enquanto os ácidos graxos são oxidados a CO_2 e H_2O por tecidos como o músculo. No fígado, os ácidos graxos são convertidos em corpos cetônicos que são oxidados por muitos tecidos, incluindo o cérebro.

Um grande número de fatores determina por quanto tempo pode-se ficar em jejum e ainda sobreviver. A quantidade de tecido adiposo é um deles, pois ele fornece ao corpo sua principal fonte de substratos energéticos. Entretanto, os níveis de proteína do corpo também podem determinar a extensão de tempo que se pode ficar em jejum. A glicose ainda é utilizada durante o jejum prolongado (inanição), mas em quantidades bastante reduzidas. Embora as proteínas para fornecer aminoácidos para a gliconeogênese sejam degradadas em taxas menores durante a inanição do que durante os primeiros dias de jejum, ainda são perdidas proteínas que servem para funções vitais para os tecidos do corpo. A sua quantidade pode ficar tão reduzida que o coração, o rim e outros tecidos vitais param de funcionar, ou pode se desenvolver uma infecção e não haver reservas adequadas para preparar uma resposta imune. Além dos problemas energéticos, há também a privação de vitaminas e minerais precursores de coenzimas e outros compostos necessários para as funções teciduais. Devido tanto à falta de ATP quanto à ingestão diminuída de eletrólitos, a composição de eletrólitos do sangue ou das células torna-se incompatível com a vida. Por fim, morre-se de inanição.

Tabela 3.2 Alterações Metabólicas Durante o Jejum Prolongado, Comparadas com as do Jejum de 24 Horas

Músculo	↓	Utilização de corpos cetônicos
Cérebro	↑	Utilização de corpos cetônicos
Fígado	↓	Gliconeogênese
Músculo	↓	Degradação de proteína
Fígado	↓	Produção de uréia

Os exames laboratoriais de admissão de **Ann O'Rexia** mostraram um nível de glicose sangüínea de 65 mg/dL (glicemia de jejum normal = 80 a 100 mg/dL). Sua concentração de corpos cetônicos séricos era de 4.200 μM (normal = ~70 μM). O teste de urina Ketostix (Bayer Diagnostics, Mishawaha, IN) foi moderadamente positivo, indicando que corpos cetônicos estavam presentes na urina. No seu estado de inanição, a utilização de corpos cetônicos por seu cérebro está ajudando a conservar proteínas de seus músculos e órgãos vitais.

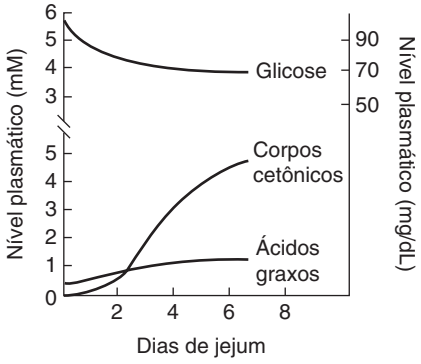


Figura 3.4 Alterações na concentração de substratos energéticos no sangue durante o jejum prolongado.

A morte por inanição ocorre com a perda, em geral, de 40% do peso corporal, quando aproximadamente 30 a 50% das proteínas do corpo foram perdidas, ou 70 a 95% das reservas de gordura. Em geral, isso ocorre com IMC de aproximadamente 13 para homens e de 11 para mulheres.

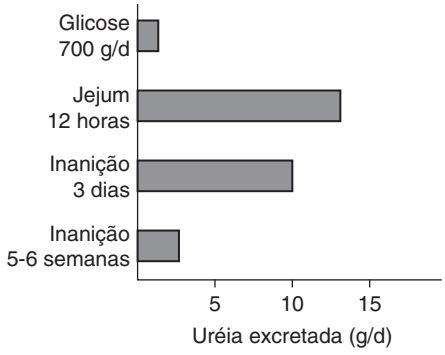


Figura 3.5 Alterações na excreção de uréia durante o jejum. A produção de uréia é muito baixa em uma pessoa consumindo apenas glicose. Ela aumenta durante o jejum conforme as proteínas musculares são degradadas para suprir aminoácidos para a gliconeogênese. Entretanto, conforme o jejum progride, a síntese de uréia diminui. Como o cérebro satisfaz um pouco de suas necessidades energéticas oxidando corpos cetônicos após 3 a 5 dias de jejum, a gliconeogênese diminui, poupando proteína no músculo e em outros tecidos.

Índice creatinina-altura. O marcador bioquímico mais amplamente usado para estimar a massa muscular corporal é a excreção urinária de creatinina de 24 horas. A creatinina é um produto de degradação formado no músculo em atividade a uma taxa constante, proporcionalmente à quantidade de tecido muscular que possui o paciente. Em um indivíduo com desnutrição protéica, a creatinina urinária irá diminuir na mesma proporção da diminuição da massa muscular. Para avaliar a depleção de massa muscular, a creatinina excretada é representada em relação à altura, o índice creatinina-altura (ICA). A quantidade de creatinina (em miligramas) excretada pelo indivíduo em 24 horas é dividida pela quantidade excretada por um indivíduo normal saudável de mesma altura e sexo. A razão resultante é multiplicada por 100 para expressá-la como percentagem. O ICA de **Percy Veere** foi de 85% (de 80-90% do normal indicam um déficit leve; 60-80% indicam um déficit moderado; menos de 60% do normal indicam um déficit grave da massa muscular).



Figura 3.6 Fotografia de paciente com anorexia nervosa. Retirada de MedCom slide, 1970.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Percy Veere. Como resultado de seu apetite gravemente suprimido, o Sr. **Percy Veere** desenvolveu uma desnutrição protéico-calórica de grau leve. Esse tipo de desnutrição protéica, quando prolongado, pode causar alterações nos vilos do intestino delgado, as quais reduzem a sua capacidade absortiva para o pouco alimento que é ingerido.

Apesar da ingestão insuficiente de carboidratos na dieta, o nível sangüíneo de glicose do Sr. Veere é 72 mg/dL, próximo ao limite inferior (80 mg/dL) da variação normal para uma pessoa bem-nutrida saudável após um jejum de 12 horas. Esse é o achado esperado; ele reflete a capacidade do fígado de manter níveis adequados de glicose sangüínea por meio da gliconeogênese mesmo durante restrição calórica prolongada e relativamente grave. Aminoácidos da degradação de proteínas, principalmente no músculo esquelético, fornecem a maioria dos precursores para a gliconeogênese.

Percy Veere tem vários indicadores de desnutrição protéica: seus níveis séricos de albumina e transferrina estão abaixo do normal, sua circunferência muscular medial do braço (CMMB) está no percentil 12, e seu índice creatinina-altura (ICA) é 85%. Os baixos níveis de proteínas séricas refletem uma ingestão protéica baixa na dieta e, possivelmente, uma capacidade diminuída de absorver aminoácidos da dieta. Conseqüentemente, aminoácidos são mobilizados a partir da degradação de proteínas nos músculos e em outros tecidos para fornecer precursores para a síntese de novas proteínas bem como para a gliconeogênese. O resultado é uma perda de massa muscular, indicada pela CMMB e pelo ICA, e níveis diminuídos de proteínas séricas.

Os ácidos graxos mobilizados a partir do tecido adiposo são a principal fonte de energia para a maioria dos tecidos. Como o paciente está se alimentando, e não em jejum total, seus corpos cetônicos estavam apenas moderadamente elevados no sangue (110 µM; normal de 70 µM) e não apareceram na urina.

Após várias sessões de aconselhamento psicológico e a promessa de uma visita prolongada de seu neto, o Sr. Veere retomou seu padrão normal de alimentação.

Ann O'Rexia. Ann O'Rexia tem anorexia nervosa, uma doença crônica debilitante na qual fatores psicológicos e biológicos pouco conhecidos levam a distúrbios na imagem corporal do paciente. Esses pacientes buscam a magreza apesar da presença de emaciação grave e uma aparência "esquelética" (Figura 3.6). Em geral, eles têm muito medo de estar com sobrepeso e negam a gravidade de seu baixo peso corporal.

A amenorréia (falta de menstruações) em geral se desenvolve durante a anorexia nervosa e outras condições quando o conteúdo de gordura corporal cai para aproximadamente 22 % de seu peso total. A causa imediata da amenorréia é uma produção reduzida de hormônios protéicos gonadotrópicos (hormônio luteinizante e hormônio folículo estimulante) pela hipófise anterior; a conexão entre essa alteração hormonal e o conteúdo de gordura corporal ainda não é compreendido.

A Srta. O'Rexia está sofrendo as conseqüências de uma restrição protéica e calórica prolongada e grave. Ácidos graxos, liberados do tecido adiposo por lipólise, estão sendo convertidos em corpos cetônicos no fígado, e o nível de corpos cetônicos no sangue está extremamente elevado (4.200 µM; normal de 70 µM). O fato de seus rins estarem excretando corpos cetônicos está refletido no teste de urina moderadamente positivo para corpos cetônicos observado na internação.

Embora a glicose sangüínea da Srta. O'Rexia esteja abaixo da faixa normal de jejum (65 mg/dL; normal de 80 mg/dL), ela tem sentido apenas um grau moderado de hipoglicemia (glicose sangüínea baixa), apesar de sua dieta severa próxima da inanição. Seus níveis de glicose sangüínea refletem a habilidade do cérebro para utilizar corpos cetônicos como substratos energéticos quando eles estão elevados no sangue, diminuindo, assim, a quantidade de glicose que deve ser sintetizada a partir de aminoácidos fornecidos por degradação de proteínas.

O IMC da Srta. O'Rexia mostrou que ela estava próxima da morte por inanição. Ela foi, portanto, hospitalizada e submetida à nutrição enteral (nutrientes fornecidos através de um tubo de alimentação). O plano terapêutico geral, delineado no Capítulo

1, de restituição nutricional e identificação e tratamento daqueles fatores emocionais que levam ao comportamento anorético foi continuado. Ela foi persuadida a comer pequenas quantidades de alimentos enquanto estava hospitalizada.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



Uso clínico de medidas de metabólitos no sangue e na urina. Quando um paciente desenvolve um problema metabólico, é difícil examinar células para determinar a causa. Para obter tecido para estudos metabólicos, deve ser realizada uma biópsia. Dependendo do tecido, esses procedimentos podem ser difíceis, perigosos ou mesmo impossíveis. O custo é um problema adicional. Entretanto, no sangue e na urina podem ser obtidos facilmente dos pacientes, e as medidas de substâncias em sangue e urina podem ajudar a diagnosticar o problema. As concentrações de substâncias que estão maiores ou menores do que as normais indicam qual tecido está com disfunção. Por exemplo, se os níveis de nitrogênio uréico do sangue (BUN, do inglês ***b****lood* ***u****rea* ***n****itrogen*) estão baixos, deve se suspeitar de um problema centrado no fígado, pois é nele que a uréia é produzida. Já o contrário, níveis sangüíneos de uréia altos sugerem que o rim não está excretando esse composto normalmente. Baixos níveis sangüíneos e urinários de creatinina indicam produção diminuída de creatinina pelo músculo esquelético. Entretanto, níveis altos dessa no sangue indicam uma incapacidade do rim para excretá-la, resultante de doença renal. Se níveis altos de corpos cetônicos são encontrados no sangue ou na urina, o padrão metabólico do paciente é o do estado de inanição. Se os níveis altos de corpos cetônicos são acompanhados por níveis elevados de glicose sangüínea, o problema é, mais provavelmente, uma deficiência de insulina; ou seja, o paciente provavelmente tem diabetes melito tipo 1, antigamente chamada de diabetes melito insulino-dependente. Sem insulina, os substratos energéticos são mobilizados dos tecidos em vez de serem armazenados.

Esses testes no sangue e na urina, relativamente fáceis e de baixo custo, podem ser usados para determinar quais tecidos precisam ser estudados mais profundamente para diagnosticar e tratar o problema do paciente. Uma compreensão sólida do metabolismo energético ajuda na interpretação desses testes simples.

Leituras Sugeridas

Owen OE, Tappy L, Mozzoli MA, Smalley KJ. Acute starvation. In: Cohen RD, Lewis B, Alberti KGMM, Denman AM (eds). The Metabolic and Molecular Basis of Acquired Disease. London: Bailliere Tindall, 1990.

Walsh BT, Devlin MJ. Eating disorders: progress and problems. Science 1998;280:1387-1390.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 3

Serão necessárias algumas informações dos Capítulos 1 e 2, bem como do Capítulo 3, para responder estas perguntas.

1. Por volta de 24 horas após uma refeição,

   (A) a gliconeogênese no fígado é a principal fonte de glicose sangüínea.
   (B) a glicogenólise muscular fornece glicose para o sangue.
   (C) o músculo converte aminoácidos em glicose sangüínea.
   (D) os ácidos graxos liberados do tecido adiposo fornecem carbono para a síntese de glicose.
   (E) os corpos cetônicos fornecem carbono para a gliconeogênese.

2. O fígado é o único tecido que

   (A) contém reservas significativas de glicogênio.
   (B) oxida ácidos graxos durante o jejum noturno.
   (C) oxida corpos cetônicos durante o jejum noturno.
   (D) converte amônia em uréia.
   (E) converte glicose em lactato.

3. Em um indivíduo bem-nutrido, conforme a duração do jejum aumenta de jejum noturno para 1 semana de jejum,

   (A) os níveis de glicose sangüínea diminuem aproximadamente 50 %.

(B) as células vermelhas do sangue passam a utilizar corpos cetônicos.
(C) os músculos diminuem sua utilização de corpos cetônicos, os quais aumentam no sangue.
(D) o cérebro começa a utilizar ácidos graxos como principal substrato energético.
(E) os triacilgliceróis do tecido adiposo são praticamente esgotados.

4. Um paciente hospitalizado apresentou níveis baixos de albumina sérica e níveis altos de amônia sangüínea. Seu ICA foi de 98 %. Seu IMC estava em 20,5. O nitrogênio uréico do sangue não estava elevado, consistente com função renal normal. O diagnóstico mais coerente com esses achados é

(A) perda de função hepática (p. ex., cirrose alcoólica).
(B) anorexia nervosa.
(C) kwashiorkor (desnutrição protéica).
(D) marasmo (desnutrição protéico-calórica).
(E) absorção diminuída de aminoácidos pelas células epiteliais intestinais (p.ex., doença celíaca).

5. Otto Shape, um estudante de medicina com sobrepeso (ver Capítulo 1), descobriu que não se exercitaria o suficiente durante suas férias de verão para perder 1 a 1,5 Kg por semana. Ele decidiu perder peso comendo apenas 300 kcal/dia de um suplemento dietético que fornece metade das calorias como carboidrato e metade como proteína. Além disso, ele consumiu um suplemento multivitamínico. Durante os 3 primeiros dias desta dieta,

(A) sua ingestão de proteínas satisfez a RDA (recomendação dietética adequada) para proteína.
(B) sua ingestão de carboidratos satisfez as necessidades energéticas de seu cérebro.
(C) tanto sua massa adiposa quanto sua massa muscular diminuíram.
(D) ele manteve seu balanço nitrogenado.
(E) ele desenvolveu hipoglicemia grave.

Fundamentos Químicos e Biológicos da Bioquímica

A disciplina da bioquímica se desenvolveu quando foram iniciados, pelos bioquímicos, o estudo das moléculas de células, tecidos e líquidos corporais e, pelos médicos, a procura pelas bases moleculares das diversas doenças. Hoje, a prática da medicina depende da compreensão de regras e interações do enorme número de diferentes substâncias que permitem o funcionamento do corpo. A tarefa é menos árdua para quem conhece as propriedades, a nomenclatura e a função das classes de compostos, como carboidratos e enzimas. O objetivo desta seção é revisar algumas informações em um contexto relevante para a medicina.

No Capítulo 4, será discutida a relação metabólica de ácidos e tampões do sangue. O foco do Capítulo 5 são a nomenclatura, a estrutura e algumas propriedades da maioria das classes de compostos encontrados no corpo humano. A estrutura de uma molécula determina sua função e seu destino, e o nome usual de um composto pode freqüentemente dizer algo sobre sua estrutura.

Proteínas são cadeias lineares de aminoácidos que se dobram em estruturas tridimensionais complexas. Elas atuam na manutenção das estruturas celular e tecidual e no transporte e movimento de moléculas. Algumas proteínas são enzimas, as quais são catalisadores que aumentam muito a taxa de reações químicas do sangue. Os Capítulos 6 e 7 descrevem os aminoácidos e suas interações dentro das proteínas que caracterizam as estruturas tridimensionais funcionais e flexíveis dessas proteínas. Os Capítulos 8 e 9 descrevem as propriedades, as funções e a regulação de enzimas.

As proteínas e outros componentes agem dentro de um ambiente especializado definido pela sua localização nas células e nos líquidos celulares. Sua ação é parcialmente dependente das membranas que limitam o livre movimento de moléculas. O Capítulo 10 inclui uma breve revisão dos componentes celulares, sua organização nas organelas subcelulares e a maneira pela qual os vários tipos de moléculas se movem nas células e entre os compartimentos celulares.

Em um organismo complexo como o humano, diferentes tipos celulares executam diferentes funções. Essa especialização requer que as células se comuniquem umas com as outras. Uma das maneiras de elas se comunicarem é por meio da secreção de mensageiros químicos, os quais carregam um sinal para outras células. No Capítulo 11, serão considerados alguns princípios de sinalização celular e descritos alguns sistemas de mensageiros químicos.

Tanto neste livro como na prática médica, será preciso converter diferentes unidades utilizadas para peso e tamanho dos compostos e para sua concentração no sangue e em outros líquidos. A Tabela 1 fornece definições de algumas das unidades utilizadas para essas interconverssões.



A nomenclatura utilizada para descrever pacientes pode incluir o nome de uma classe de componentes. Por exemplo, uma paciente com diabetes melito que estava com hiperglicemia tem altas (hiper) concentrações de carboidratos (glic) em seu sangue (emia).



Do ponto de vista bioquímico, a maioria das doenças metabólicas são causadas por enzimas e por outras proteínas que apresentam um mau funcionamento, que é corrigido pelos fármacos utilizados para tratar tais doenças. Por exemplo, indivíduos com aterosclerose, que têm níveis de colesterol elevados, são tratados com um fármaco que inibe uma enzima na via para síntese de colesterol. Mesmo uma infecção bacteriana pode ser considerada uma doença de função protéica, pois pode se considerar as toxinas bacterianas como proteínas. As enzimas são afetadas por essas toxinas, e a resposta imune, durante a tentativa de destruir as bactérias, envolve proteínas.



Di Abietes tem um nível elevado de glicose no sangue de 684 mg/dL. Qual é a concentração molar de glicose no sangue de Di? (Pista: o peso molecular da glicose [$C_6H_{12}O_6$] é 180 gramas por mol.)

R: mg/dL é a maneira mais comum de os clínicos nos Estados Unidos expressarem a concentração sangüínea de glicose. Uma concentração de 684 mg/dL é 684 mg por 100 mL de sangue, ou 6.480 mg por um litro (L), ou 6,48 g/L. Se 6,84 g/L é dividido por 180 gramas por mol, obtém-se um valor de 0,038 mol/L, o qual é 0,038 M, ou 38 mM.

Tabela 1 Unidades Comuns Expressas na Forma de Equivalentes

1 M	1 mol/L	Peso molecular em g/L
1 mM	1 milimol/L	10^{-3} mol/L
1 mM	1 micromol/L	10^{-6} mol/L
1 µM	1 nanomol/L	10^{-9} mol/L
1 mL	1 mililitro	10^{-3} L
1 mg%	1 mg/100 mL	10^{-3} g/100 mL
1 mg/dL	1 mg/100 mL	10^{-3} g/100 mL
1 mEq/L	1 miliequivalente/L	mM × valência do íon
1 kg	1.000 g	2,2 lbs (libras)
1 cm	10^{-2} m	0,394 polegadas

4 Água, Ácidos, Bases e Tampões

Cerca de 60% do corpo humano é composto por água. Ela age como um solvente para as substâncias necessárias para o organismo, tais como K^+, glicose, trifosfato de adenosina (ATP) e proteínas, e é importante para o transporte de moléculas de calor. Muitos dos componentes produzidos no corpo e dissolvidos em água contêm grupos químicos que agem como ácidos ou bases, liberando ou recebendo íons hidrogênio. O conteúdo do íon hidrogênio e a quantidade de água do corpo são controlados para manter um ambiente constante para as células, chamado de homeostase (mesmo estado) (Figura 4.1). Desvios significativos de um estado constante, tal como acidose ou desidratação, podem causar risco à vida. Este capítulo descreve o papel da água no corpo e os sistemas tampão utilizados por ele para se proteger dos ácidos e bases produzidos no metabolismo.

Água. *A água é distribuída entre os compartimentos intra e extracelulares; esse último inclui os líquidos intersticiais, o sangue e a linfa. Por ser a água uma* ***molécula dipolar*** *com uma distribuição irregular de elétrons entre os átomos de hidrogênio e oxigênio, ela forma ligações de hidrogênio com outras moléculas polares e age como um* ***solvente****.*

O pH da água. *A* ***água se dissocia*** *fracamente para* ***formar íons hidrogênio (H^+)*** *e* ***hidroxil (OH^-)****. A concentração de íons hidrogênio determina a acidez da solução, a qual é expressa em termos de* ***pH****. O pH de uma solução é o logaritmo negativo de sua concentração de íon hidrogênio.*

Ácidos e Bases. *Um* ***ácido*** *é uma substância que pode* ***liberar íons hidrogênio*** *(prótons), e uma* ***base*** *é uma substância que pode* ***receber íons hidrogênio****. Quase todas as moléculas de um* ***ácido forte****, quando dissolvidas em água, dissociam-se e liberam seus íons hidrogênio, mas apenas uma pequena porcentagem do total de moléculas de um ácido fraco se dissocia. Um* ***ácido fraco*** *tem uma* ***constante de dissociação*** *caracterísitica, K_a. A relação entre o pH de uma solução, o K_a de um ácido e a extensão de sua dissociação são obtidos pela* ***equação de Henderson-Hasselbalch****.*

Tampões. *Um tampão é uma mistura de um* ***ácido não-dissociado*** *e sua* ***base conjugada*** *(a forma do ácido que perdeu seu próton). Isso leva a solução a resistir a alterações no pH quando H^+ ou OH^- é adicionado. Um tampão tem uma maior capacidade de tamponamento na escala próxima ao seu pK_a (o logaritmo negativo do seu K_a). Dois fatores determinam a efetividade de um tampão, seu pK_a relativo ao pH da solução e sua concentração.*

Ácidos e bases metabólicos. *O metabolismo normal gera* ***CO_2, ácidos metabólicos*** *(p. ex.,* ***ácido láctico*** *e* ***corpos cetônicos****) e* ***ácidos inorgânicos*** *(p. ex.,* ***ácido sulfúrico****). A maior fonte de ácido é* ***CO_2****, que reage com água para produzir* ***ácido carbônico****. Para manter o pH dos líquidos corporais em uma variação compatível com a vida, o corpo tem* ***tampões****, como* ***bicarbonato****,* ***fosfato*** *e* ***hemoglobina*** *(ver Figura 4.1). Finalmente,* ***mecanismos respiratórios*** *removem ácido carbônico através da* ***expiração de CO_2****, e os* ***rins excretam ácido*** *com* ***íon amônia*** *(NH_4^+) e outros íons.*

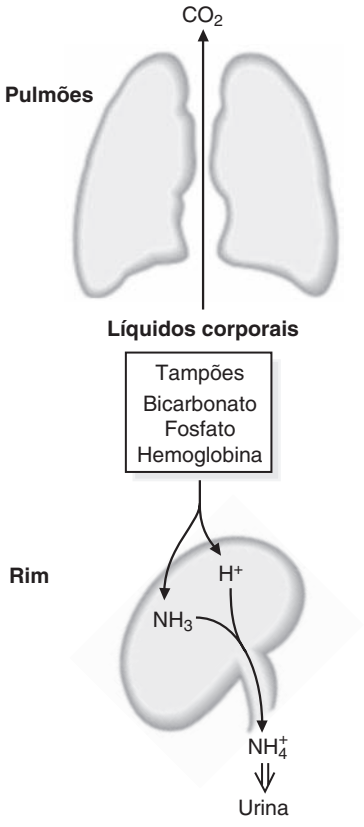


Figura 4.1 Manutenção do pH corporal. O corpo produz cerca de 13 a 22 moles de ácido por dia a partir do metabolismo normal. Ele se protege dessa acidez com tampões que mantêm um pH neutro e pela expiração de CO_2 através dos pulmões e da excreção de NH_4^+ e outros íons pelos rins.

Di Abietes tem uma cetoacidose. Quando injeta uma quantidade inadequada de insulina, ela permanece em uma condição semelhante ao estado de jejum, mesmo que ingira alimentos (ver Capítulos 2 e 3). Seu fígado continua a metabolizar ácidos graxos até os corpos cetônicos ácido acetoacético e ácido β-hidroxibutírico. Esses compostos são ácidos fracos que se dissociam para produzir ânions (acetoacetato e β-hidroxibutirato, respectivamente) e íons hidrogênio, diminuindo, dessa forma, o pH sangüíneo e o celular abaixo da variação normal.

Percy Veere é um professor de 59 anos que sobreviveu a um período de desnutrição associado a depressão causada pela morte de sua esposa (ver Capítulos 1 e 3). Desde sua recuperação, ele tem esperado uma visita longa de seu neto.

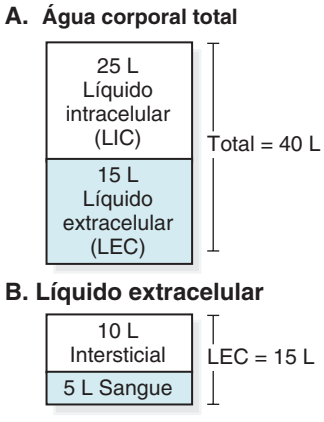


Figura 4.2 Compartimentos líquidos no corpo com base em um homem médio de 70 kg.

SALA DE ESPERA

Dianne (Di) Abietes é uma mulher de 26 anos que teve o diagnóstico de diabetes melito tipo 1 aos 12 anos de idade. Ela tem deficiência absoluta de insulina resultante da destruição auto-imune das células β pancreáticas. Como resultado, depende de injeções diárias de insulina para prevenir elevações graves da glicose e de corpos cetônicos em seu sangue.

Quando **Di Abietes** não conseguiu ser despertada de um descanso após o almoço, sua companheira de quarto chamou uma ambulância, e Di foi levada à emergência do hospital em coma. Conforme o relato de sua companheira de quarto, Di tinha se sentido enauseada e tonta e tinha estado vomitando por 24 horas. A paciente está clinicamente desidratada, e sua pressão sangüínea está baixa. Seus movimentos respiratórios são profundos e rápidos, e seu pulso está acelerado. Seu hálito tem odor cetônico "frutado".

Amostras sangüíneas foram coletadas para medição do pH sangüíneo arterial, da pressão parcial arterial de dióxido de carbono ($PaCO_2$), da glicose sérica e do bicarbonato sérico (HCO_3^-). Além disso, testes para presença de corpos cetônicos foram feitos no soro e na urina, e Di foi tratada com solução fisiológica normal e insulina. O laboratório relata que seu pH sangüíneo é 7,08 (valores de referência = 7,36-7,44), e que corpos cetônicos estão presentes no sangue e na urina. Seu nível de glicose sangüínea é 648 mg/dL (valores de referência = 80 a 110 após uma noite de jejum, e não maior do que 200 em uma amostra de glicose ao acaso sem considerar o tempo desde a última refeição).

Dennis "o travesso" Veere, três anos, foi levado à emergência por seu avô, **Percy Veere**. Enquanto estava visitando o avô, Dennis subiu em uma cadeira e pegou, no balcão da cozinha, um vidro com compridos de Aspirina® (ácido acetilsalicílico, 325 mg) e tomou a metade. O Sr. Veere encontrou Dennis com a boca cheia de Aspirina®; ele removeu o que pôde, mas não sabe dizer quantos comprimidos foram engolidos pelo menino. Quando chegaram na emergência, a criança parecia desperta e alerta, mas o Sr. Veere estava hiperventilando.

I. ÁGUA

A água é o solvente da vida. Ela banha as células, dissolve e transporta compostos no sangue, fornece um meio para movimento de moléculas para o interior e, através dos compartimentos celulares, separa moléculas carregadas, dissipa calor e participa de reações químicas. A maioria dos compostos do corpo, incluindo proteínas, deve interagir com o meio aquoso. Apesar da variação na quantidade de água ingerida diariamente e produzida no metabolismo, o corpo mantém uma quantidade quase constante de água, que corresponde a cerca de 60% do peso corporal (Figura 4.2).

A. Compartimentos Líquidos no Corpo

A água corporal total corresponde a aproximadamente 50 a 60% do peso corporal em adultos e 75% em crianças. Devido ao fato de a gordura ter relativamente pouca água associada a ela, pessoas obesas têm uma porcentagem mais baixa de água corporal do que pessoas magras, mulheres tendem a ter uma porcentagem mais baixa do que homens, e pessoas mais velhas têm uma porcentagem mais baixa do que pessoas mais jovens.

Cerca de 40% da água corporal total é intracelular, e 60%, extracelular. A água extracelular inclui o líquido no plasma (sangue após as células sangüíneas serem removidas) e a água intersticial (o líquido nos espaços teciduais, que fica entre as

células). A água transcelular é uma porção pequena e especializada da água extracelular que inclui secreção gastrintestinal, urina, suor e líquidos que escapam através das paredes capilares devido ao excesso de pressão hidrostática ou inflamação.

B. Pontes de Hidrogênio na Água

A natureza dipolar da molécula de água (H_2O) permite que ela forme pontes de hidrogênio, uma propriedade que é responsável pelo papel da água como solvente. Na H_2O, o átomo de oxigênio tem dois elétrons não-compartilhados que formam uma nuvem de elétrons densa em torno dele. Essa pode estar acima ou abaixo do plano formado pela molécula de água (Figura 4.3). Na ligação covalente formada entre os átomos de hidrogênio e oxigênio, os elétrons compartilhados são atraídos em direção ao átomo de oxigênio, o que lhe proporciona uma carga parcial negativa e, ao hidrogênio, uma carga parcial positiva. Como resultado, o lado do oxigênio na molécula é muito mais eletronegativo do que o lado do hidrogênio, e a molécula é dipolar.

Os átomos de hidrogênio e oxigênio da molécula de água formam pontes de hidrogênio e participam de camadas de hidratação. Uma ponte de hidrogênio é uma interação não-covalente fraca entre o hidrogênio de uma molécula e o átomo mais eletronegativo de uma molécula aceptora. O oxigênio da água pode formar pontes de hidrogênio com outras duas moléculas de água, dessa forma cada molécula de água é ligada por hidrogênio a aproximadamente quatro moléculas de água vizinhas em uma rede líquida tridimensional (ver Figura 4.3).

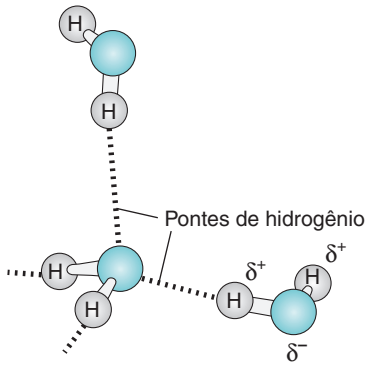


Figura 4.3 Pontes de hidrogênio entre moléculas de água. Os átomos de oxigênio são representados na cor azul.

1. ÁGUA COMO SOLVENTE

Moléculas orgânicas polares e sais inorgânicos podem se dissolver facilmente em água, pois ela forma pontes de hidrogênio e interações eletrostáticas com tais moléculas. Moléculas orgânicas contendo uma alta proporção de átomos eletronegativos (geralmente oxigênio ou hidrogênio) são solúveis em água porque esses átomos participam de pontes de hidrogênio com moléculas de água (Figura 4.4). Cloreto (Cl^-), bicarbonato (HCO_3^-) e outros ânions são circundados por uma camada de hidratação de moléculas de água arranjadas com seus átomos mais próximos do ânion. De uma maneira semelhante, o átomo de oxigênio das moléculas de água interage com cátions inorgânicos como Na^+ e K^+ para circundá-los com uma camada de hidratação.

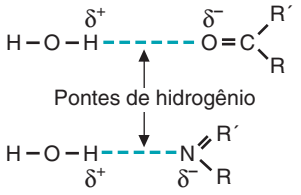


Figura 4.4 Pontes de hidrogênio entre água e moléculas polares. R indica átomos adicionais.

Embora as pontes de hidrogênio sejam fortes o suficiente para dissolver moléculas polares em água e para separar cargas, elas são fracas para permitir movimento de água e solutos. A força das pontes de hidrogênio entre duas moléculas de água corresponde a cerca de 4 kcal, quase 1/20 avos da força da ligação covalente O-H na molécula de água. Assim, a extensa rede de água é dinâmica e tem muitas ligações tensas que estão continuamente se quebrando e se restabelecendo. Em média, a ponte de hidrogênio entre moléculas de água dura apenas cerca de 10 psec (1 picossegundo é 10^{-12} s), e tal molécula de água na camada de hidratação de um íon permanece apenas 2,4 nsec (1 nanossegundo = 10^{-9} s). Como resultado, pontes de hidrogênio entre moléculas de água e solutos polares se disssociam e se formam novamente de modo contínuo, permitindo, assim, que solutos se movam através da água e ela passe através de canais nas membranas celulares.

2. ÁGUA E REGULAÇÃO TÉRMICA

A estrutura da água também permite que ela resista a mudanças de temperatura. Seu calor de fusão é alto, de tal modo que é necessária uma grande queda na temperatura para converter água líquida ao estado sólido (gelo). A condutividade térmica da água também é alta, facilitando, assim, a dissipação de calor de áreas de alto uso de energia, como o cérebro, para o sangue e para o *pool* de água corporal. Sua capacidade de calor e seu calor de vaporização são bastante elevados; quando água líquida é convertida em um gás e evapora da pele, o efeito de resfriamento é sentido. A água

Tabela 4.1 Distribuição de Íons nos Líquidos Corporais

	LEC* mmol/L	LIC
Cátions		
Na^+	145	12
K^+	4	150
Ânions		
Cl^-	105	5
HCO_3^-	25	12
Fosfato inorgânico	4	100

*O conteúdo de íons inorgânicos é muito semelhante no plasma e no líquido intersticial, os dois componentes do líquido extracelular. (LEC = líquido extracelular; LIC = líquido intracelular.)

Q: Na emergência, **Di Abietes** foi reidratada com soro fisiológico, que é uma solução de 0,9% de NaCl. Por que foi utilizado soro fisiológico em vez de água?

Di Abietes teve uma diurese osmótica. Como ela apresenta níveis sangüíneos de glicose e corpos cetônicos bastante elevados, esses compostos estão passando do sangue para o filtrado glomerular, nos rins, e, então, para a urina. Como conseqüência da alta osmolalidade do filtrado glomerular, a quantidade de água que está sendo excretada na urina é maior do que o normal, o que leva à constatação de que Di tem poliúria (volume urinário aumentado). A perda de água do sangue para urina faz com que a água passe do interior das células para o espaço intersticial e para o sangue, provocando uma desidratação intracelular. As células desidratadas no cérebro não são aptas a executarem suas funções normais. Como resultado, Di está em coma.

$$H_2O \rightleftharpoons H^+ + OH^-$$

Figura 4.5 A dissociação da água.

Q: O laboratório relata que o pH sangüíneo de Di Abietes era 7,08 (valores de referência = 7,37 a 7,43). Qual era a $[H^+]$ no seu sangue comparada com a concentração em um pH normal de 7,4?

Equação 4.1 Definição de pH.

$$pH = -\log [H^+]$$

responde ao aumento de calor com a diminuição da quantidade de pontes de hidrogênio e ao resfriamento com o aumento da formação de pontes de hidrogênio entre as suas moléculas.

C. Eletrólitos

Os líquidos extracelular (LEC) e intracelular (LIC) contêm eletrólitos, um termo geral aplicado a bicarbonato e ânions e cátions inorgânicos. Os eletrólitos são distribuídos entre os compartimentos de forma irregular; no LEC (plasma e líquido intersticial), os principais eletrólitos são Na^+ e Cl^- e, nas células, K^+ e fosfatos como HPO_4^{-2} (Tabela 4.1). Essa distribuição é mantida principalmente pelos transportadores dependentes de energia que bombeiam Na^+ para fora das células em troca de K^+ (ver Capítulo 10).

D. Osmolalidade e Movimento de Água

A água é distribuída entre os diferentes compartimentos líquidos de acordo com a concentração de solutos, ou osmolalidade, de cada um deles. A osmolalidade de um líquido é proporcional à concentração total de suas moléculas dissolvidas, incluindo íons, metabólitos orgânicos e proteínas (em geral é expressa como miliosmoles [mOsm]/kg de água). A membrana celular semipermeável que separa os compartimentos extra e intracelular contém um número de canais de íons através dos quais a água pode se mover livremente, mas outras moléculas não. Do mesmo modo, a água pode se mover livremente através de capilares que separam o líquido intersticial e o plasma. Como resultado, ela se move de um compartimento com concentração de solutos mais baixa (baixa osmolalidade) para um com concentração mais alta, para atingir uma osmolalidade igual em ambos os lados da membrana. A força para manter a mesma quantidade de água em ambos os lados da membrana é chamada de pressão osmótica.

Quando um compartimento líquido perde água, outro a repõe, para manter a osmolalidade aproximadamente constante. O sangue contém uma grande quantidade de proteínas carregadas negativamente, e são necessários eletrólitos para balancear essas cargas. À medida que a água passa do sangue para urina para balancear a excreção de íons, o volume sangüíneo é preenchido com água do líquido intersticial. Quando as osmolalidades do sangue e do líquido intersticial estão muito altas, a água se move para fora das células. A perda de água celular também pode ocorrer na hiperglicemia, uma vez que a alta concentração de glicose aumenta a osmolalidade do sangue.

II. ÁCIDOS E BASES

Ácidos são compostos que doam um íon hidrogênio (H^+) para uma solução, e bases são compostos (como o íon OH^-) que captam íons hidrogênio. Uma pequena parte da própria água se dissocia, gerando íons hidrogênio (H^+) – os quais são também chamados de prótons – e íons hidróxido (OH^-) (Figura 4.5). Grande parte dos íons hidrogênio estão hidratados na água, formando espécies como H_3O^+, entretanto são usualmente representados apenas como H^+. A água é neutra, nem ácida nem básica.

A. O pH da Água

A fração de dissociação das moléculas de água em H^+ e OH^- é muito leve, e a concentração de íons hidrogênio na água pura é apenas 0,0000001 M, ou 10^{-7} mol/L. A concentração de íons hidrogênio em uma solução é usualmente indicada pelo termo pH, o qual é o $\log_{10}$ negativo da concentração de íons hidrogênio expresso em mol/L (Equação 4.1). Portanto, o pH da água pura é 7.

A constante de dissociação da água, K_d, expressa a relação entre a concentração de íons hidrogênio $[H^+]$, a concentração de íon hidróxido $[OH^-]$ e a concentração de água $[H_2O]$ no equilíbrio (Equação 4.2). Como a água se dissocia fracamente, a $[H_2O]$

é essencialmente constante em 55,5 M. Multiplicando-se a K_d para água (cerca de $1,8 \times 10^{-16}$ M) por 55,5 M, obtém-se um valor de aproximadamente 10^{-14} $(M)^2$, o qual é chamado de produto iônico da água (K_w) (Equação 4.3). Devido ao fato de a K_w (o produto de $[H^+]$ e $[OH^-]$) ser sempre constante, uma diminuição da $[H^+]$ deve ser acompanhada por um aumento proporcional de $[OH^-]$.

Um pH de 7 é considerado neutro, porque $[H^+]$ e $[OH^-]$ são iguais. Em relação à água pura, as soluções ácidas têm uma concentração maior de íons hidrogênio e uma concentração menor de íons hidróxido (pH < 7,0), e as soluções básicas têm uma concentração menor de íons hidrogênio e uma concentração maior de íons hidróxido (pH > 7,0).

B. Ácidos Fortes e Fracos

Durante o metabolismo, o corpo produz um número de ácidos que aumentam a concentração de íons hidrogênio no sangue ou em outros líquidos corporais e tendem a baixar o pH (Tabela 4.2). Esses ácidos, metabolicamente importantes, podem ser classificados como ácidos fracos ou ácidos fortes pelo seu grau de dissociação em um íon hidrogênio e uma base (o componente aniônico). Ácidos inorgânicos, como ácido sulfúrico (H_2SO_4) e ácido clorídrico (HCl), são ácidos fortes que se dissociam completamente em solução (Figura 4.6). Ácidos orgânicos que contêm grupos de ácidos carboxílicos (p. ex., os corpos cetônicos ácido acetoacético e ácido β-hidróxi-butírico) são ácidos fracos que se dissolvem apenas de forma limitada em água. Em geral, um ácido fraco (HA), chamado de ácido conjugado, dissocia-se em um íon hidrogênio e um componente aniônico (A^-), chamado de base conjugada. O nome de um ácido não-dissociado usualmente termina em "ico" (p. ex., ácido acetoacético), e o nome de um componente aniônico dissociado termina em "ato" (p. ex., acetoacetato).

A tendência de (HA) de se dissociar e doar um íon hidrogênio para a solução é representada por seu K_a, a constante de equilíbrio para dissociação de um ácido fraco (Equação 4.4). Quanto maior o K_a, maior a tendência de dissociar um próton.

Na equação de Henderson-Hasselbalch, a fórmula para a constante de dissociação de um ácido fraco é convertida em uma equação logarítmica conveniente (Equação 4.5). O termo pK_a representa o log negativo de K_a. Se o pK_a para um ácido fraco é conhecido, essa equação pode ser utilizada para calcular a razão entre a forma não-protonada e a protonada em qualquer pH. A partir dessa equação, pode-se ver que um ácido fraco está 50% dissociado em um pH igual ao seu pK_a.

Equação 4.2 Dissociação da água.

$$Kd = \frac{[H^+]\,[OH^-]}{[H_2O]}$$

Equação 4.3 O produto iônico da água.

$$K_w = [H^+]\,[OH^-] = 1 \times 10^{-14}$$

Equação 4.4 O K_a

Para a reação

$$HA \leftrightarrow A^- + H^+$$

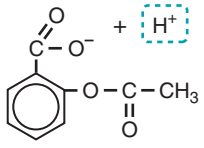
$$K_a = \frac{[H^+]\,[A^-]}{[HA]}$$

R: 0,9% de NaCl é 0,9 g de NaCl/100 mL, equivalente a 9 g/L. O NaCl tem um peso molecular de 58 g/mol, portanto a concentração de NaCl na solução isotônica é 0,155 M, ou 155 mM. Se todo o NaCl fosse dissociado em íons Na^+ e Cl^-, a osmolalidade seria 310 mOsm/kg de água. Como o NaCl não é completamente dissociado, e algumas camadas de hidratação circundam as moléculas de NaCl não-dissociadas, a osmolalidade da solução fisiológica isotônica é cerca de 290 mOsm/kg H_2O. A osmolidade do plasma, dos líquidos intersticiais e do LIC também são próximos de 290 mOsm/kg de água, de tal maneira que não ocorrem grandes deslocamentos de água ou edema quando solução fisiológica isotônica é administrada por via intravenosa.

Equação 4.5 Equação de Henderson-Hasselbalch

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Dennis Veere ingeriu um número desconhecido de comprimidos de ácido acetilsalicílico (Aspirina®). O ácido acetilsalicílico é rapidamente convertido em ácido salicílico no corpo. O efeito inicial da Aspirina® é produzir uma alcalose respiratória por uma estimulação da área de controle "metabólico" central da respiração no hipotálamo. Esse processo aumenta a freqüência respiratória e a expiração de CO_2 e é seguido por uma complexa acidose metabólica causada, em parte, pela dissociação do ácido salicílico (ácido salicílico ↔ salicilato$^-$ + H^+, pK_a = ~3,5).



Acetilsalicilato

O salicilato também interfere na produção mitocondrial de ATP, o que resulta em aumento da produção de CO_2 e acumulação de lactato e outros ácidos orgânicos no sangue. Subseqüentemente, o salicilato pode diminuir a função renal e, portanto, provocar a acumulação de ácidos fortes de origem metabólica, como ácido sulfúrico e ácido fosfórico. Em geral, crianças que ingerem quantidades tóxicas de Aspirina® estão acidóticas quando chegam à emergência.

R: Pela inspeção, pode-se dizer que a $[H^+]$ da paciente está elevada, mas esse aumento corresponde a menos do que 10 vezes o normal. Uma alteração de 10 vezes na $[H^+]$ altera o pH em 1 unidade. Para Di, o pH de 7,08 = –log $[H^+]$, e, portanto, a $[H^+]$ dela é $1 \times 10^{-7,08}$. Para calcular sua $[H^+]$, representa-se –7,08 por –8 + 0,92. O antilogaritmo na base 10 de 0,92 é 8,3. Assim, sua $[H^+]$ é $8,3 \times 10^{-8}$ comparada a $4,0 \times 10^{-8}$ em pH 7,4, ou pouco mais do que o dobro do valor normal.

Tabela 4.2 Ácidos no Sangue de um Indivíduo Saudável

Ácido	Ânion	pK_a	Fontes Principais
Ácido forte			
Ácido sulfúrico (H_2SO_4)	Sulfato SO_4^{-2}	Completamente dissociado	Sulfato da dieta e aminoácidos que contêm S
Ácido fraco			
Ácido carbônico (R-COOH)	Bicarbonato ($R\text{-}COO^-$)	3,80	CO_2 do Ciclo de Krebs
Ácido láctico (R-COOH)	Lactato ($R\text{-}COO^-$)	3,73	Glicólise anaeróbica
Ácido pirúvico (R-COOH)	Piruvato ($R\text{-}COO^-$)	2,39	Glicólise
Ácido cítrico (R-3COOH)	Citrato ($R\text{-}3COO^-$)	3,13; 4,76; 6,40	Ciclo de Krebs e dieta (p. ex., frutas cítricas)
Ácido acetoacético (R-COOH)	Acetoacetato ($R\text{-}COO^-$)	3,62	Oxidação de ácidos graxos a corpos cetônicos
Ácido β-hidroxibutírico (R-COOH)	β-hidroxibutirato ($R\text{-}COO^-$)	4,41	Oxidação de ácidos graxos a corpos cetônicos
Ácido acético (R-COOH)	Acetato ($R\text{-}COO^-$)	4,76	Metabolismo do etanol
Diidrogênio fosfato ($H_2PO_4^-$)	Monoidrogênio fosfato (HPO_4^{-2})	6,8	Fosfatos orgânicos da dieta
Íon amônio (NH_4^+)	Amônia (NH_3)	9,25	Compostos nitrogenados da dieta

A maioria dos ácidos carboxílicos metabólicos tem pK_a entre 2 e 5, dependendo dos outros grupos na molécula (ver Tabela 4.2). O pK_a reflete a força de um ácido. Ácidos com um pK_a de 2 são ácidos mais fortes do que aqueles com um pK_a de 5, pois, em qualquer pH, uma proporção maior está dissociada.

III. TAMPÕES

Os tampões consistem em um ácido fraco e sua base conjugada e fazem com que uma solução resista a alterações no pH quando íons hidrogênio ou íons hidróxido são adicionados. Na Figura 4.7, o pH de uma solução de ácido acético, um ácido fraco, é representado em função da quantidade de OH^- que foi adicionada. O OH^- é expresso em equivalentes do ácido acético total, representado nas formas dissociada e não-dissocia-

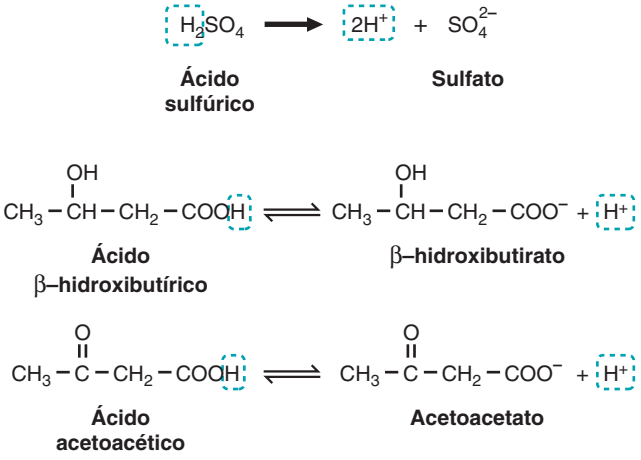


Figura 4.6 Dissociação de ácidos. O ácido sulfúrico é um ácido forte que se dissocia em íons H^+ e sulfato. Os corpos cetônicos ácido acetoacético e ácido β-hidroxibutírico são ácidos fracos que se dissociam de forma parcial em íons H^+ e suas bases conjugadas.

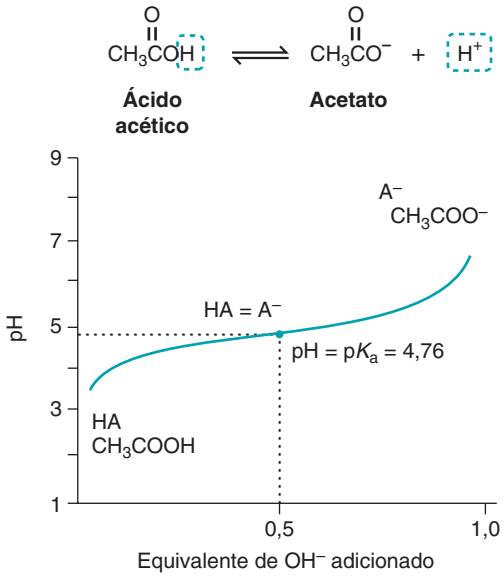


Figura 4.7 A curva de titulação do ácido acético.

da. No ponto médio dessa curva, 0,5 equivalente de OH^- foi adicionado, e metade do ácido conjugado se dissociou, de tal modo que $[A^-]$ se iguala a [HA]. Esse ponto médio é expresso na equação de Henderson-Hasselbalch como pK_a, definido como o pH no qual 50% de dissociação ocorre. À medida que adiciona mais íons OH^- e se move para a direita da curva, mais moléculas do ácido conjugado (HA) se dissociam para gerar íons H^+, os quais se combinam com os íons OH^- adicionados, formando água. Isso resulta em apenas um pequeno aumento no pH. Se íons hidrogênio são adicionados ao tampão no seu pK_a (movendo para a esquerda do ponto médio na Figura 4.7), moléculas de base conjugada (A^-) se combinam com os íons hidrogênio adicionados para formar HA, e quase não ocorre diminuição no pH.

Como pode ser visto na Figura 4.7, um tampão pode compensar uma entrada ou remoção de íons hidrogênio apenas em aproximadamente 1 unidade de pH do seu pK_a. Como o pH de uma solução tamponada altera o pK_a para uma unidade de pH abaixo do pK_a, a razão entre $[A^-]$ e HA se altera de 1:1 para 1:10. Se mais íons hidrogênio fossem adicionados, o pH diminuiria com rapidez, porque resta relativamente pouca base conjugada. Da mesma forma, a 1 unidade de pH acima do pK_a do tampão resta relativamente pouco ácido não-dissociado. Tampões mais concentrados são mais efetivos, pois contêm um número maior de moléculas por unidade de volume que se dissociam ou se recombinam com íon hidrogênio.

IV. ÁCIDOS METABÓLICOS E TAMPÕES

Uma taxa média de atividade metabólica produz cerca de 22.000 mEq de ácido por dia. Se todo esse ácido fosse dissolvido de uma vez nos líquidos corporais não-tamponados, o pH neles seria menor do que 1. Contudo, o pH do sangue é mantido normalmente entre 7,36 e 7,44, e o pH intracelular em cerca de 7,1 (entre 6,9 e 7,4). A maior variação do pH extracelular na qual as funções metabólicas do fígado, o batimento do coração e a condução do impulso neural podem ser mantidas é 6,8 a 7,8. Portanto, até que o ácido produzido pelo metabolismo possa ser excretado como CO_2 no ar expirado e como íons na urina, ele precisa ser tamponado nos líquidos corporais. Os maiores sistemas tamponantes do corpo são o sistema-tampão bicarbonato-ácido carbônico, o qual opera principalmente no líquido extracelular; o sistema-tampão da hemoglobina nos eritrócitos; o sistema-tampão fosfato em todos os tipos de células, e o sistema-tampão de proteínas das células e do plasma.

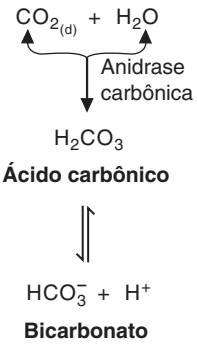


Figura 4.8 O sistema tampão do bicarbonato.

O pK_a para dissociação do ânion bicarbonato (HCO_3^-) em H^+ e carbonato (CO_3^{-2}) é 9,8; portanto existem apenas pequenas quantidades de carbonato nos líquidos corporais.

Equação 4.6 Equação de Henderson-Hasselbalch para o sistema-tampão do bicarbonato.

$$pH = pK_a + \log\frac{[A^-]}{[HA]}$$

$$pH = 6,1 + \log\frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3] + [CO_2(d)]}$$

$$pH = 6,1 + \log\frac{[HCO_3^-]}{0,03Paco_2}$$

em que $[CO_2(d)]$ é a concentração de CO_2 dissolvido, $[HCO_3^-]$ é expresso em mEq/mL, e $PaCO_2$, em mm Hg. A constante de 0,03 é uma constante de solubilidade que também corrige o uso de diferentes unidades.

A. O Sistema-Tampão do Bicarbonato

A maior fonte de ácido metabólico no corpo é o gás CO_2, produzido principalmente pela oxidação de substrato (combustível) no ciclo de Krebs. Sob condições normais, o corpo gera mais que 13 moles de CO_2 por dia (cerca de 0,5-1 kg). O CO_2 se dissolve na água e reage com ela para produzir ácido carbônico, H_2CO_3, uma reação acelerada pela enzima anidrase carbônica (Figura 4.8). O ácido carbônico é um ácido fraco que se dissocia parcialmente em H^+ e ânion bicarbonato (HCO_3^-).

O ácido carbônico é, ao mesmo tempo, o principal ácido produzido no corpo e seu próprio tampão. O seu pK_a é apenas 3,8, de modo que, no pH do sangue (7,4), ele está quase completamente dissociado e teoricamente incapaz de produzir bicarbonato. Contudo, o ácido carbônico pode ser reposto a partir de CO_2 nos líquidos corporais e no ar, pois a concentração de CO_2 dissolvido nos líquidos corporais é aproximadamente 500 vezes maior do que a do ácido carbônico. À medida que uma base é adicionada e o H^+ é removido, o H_2CO_3 se dissocia em hidrogênio e íons bicarbonato, e o CO_2 dissolvido reage com H_2O para repor o H_2CO_3 (Figura 4.8). O CO_2 dissolvido está em equilíbrio com o CO_2 do ar nos alvéolos pulmonares, e, dessa forma, a disponibilidade de CO_2 pode ser aumentada ou diminuída por um ajuste na freqüência respiratória e na quantidade de CO_2 expirado. O pK_a para o sistema tampão do bicarbonato no corpo combina, então, a K_h (constante de hidratação para a reação da água com CO_2 para formar H_2CO_3) com o pK_a químico para obter o valor de pH 6,1, que é utilizado na equação de Henderson-Hasselbalch (Equação 4.6). Para utilizar os termos dos componentes sangüíneos medidos na emergência, o CO_2 é expresso como uma fração da pressão parcial de CO_2 no sangue arterial, a $PaCO_2$.

B. Bicarbonato e Hemoglobina nos Eritrócitos

O sistema tampão do bicarbonato e a hemoglobina nos eritrócitos colaboram no tamponamento do sangue e no transporte de CO_2 para os pulmões. A maioria do CO_2 produzido pelo metabolismo dos tecidos no Ciclo de Krebs (TCA) difunde-se para o líquido intersticial e o plasma e, então, para os eritrócitos (Figura 4.9, círculo 1). Embora nenhuma anidrase carbônica possa ser encontrada no plasma sangüíneo ou no líquido intersticial, os eritrócitos contêm grandes quantidades dessa enzima, e o CO_2 é rapidamente convertido em ácido carbônico (H_2CO_3) dentro dessas células (círculo 2). À medida que o ácido carbônico se dissocia (círculo 3), o H^+ liberado é também tamponado pela combinação com hemoglobina (Hb, círculo 4). A cadeia lateral do aminoácido histidina na hemoglobina tem um pK_a de 6,7 e, portanto, é capaz de captar um próton. O ânion bicarbonato é transportado para fora do eritrócito, mas permanece no sangue, em troca do ânion cloreto, e, dessa forma, o bicarbonato fica relativamente alto no plasma (círculo 5) (ver Tabela 4.1).

À medida que os eritrócitos se aproximam dos pulmões, a direção do equilíbrio se inverte. O CO_2 é liberado dos eritrócitos, causando uma maior dissociação de ácido carbônico em CO_2 e água e mais íons hidrogênio para combinar com bicarbonato. A

A pressão parcial do CO_2 ($PaCO_2$) no sangue arterial de **Di Abietes** era 28 mm Hg (valores de referência = 37-43), e seu nível de bicarbonato sérico era 8 mEq/L (valores de referência = 24-28). Níveis elevados de corpos cetônicos produziram uma cetoacidose, e Di Abietes estava expirando quantidades elevadas de CO_2 através de respiração profunda e freqüente (respiração de Kussmaul) para compensar. Por que isso ocorre? Corpos cetônicos são ácidos fracos que se dissociam parcialmente, aumentando os níveis de H^+ no sangue e no líquido intersticial que circunda o centro "metabólico" da respiração no hipotálamo, o qual controla a freqüência da respiração. Como resultado da diminuição do pH, sua freqüência respiratória aumenta, causando uma queda na $PaCO_2$. À medida que o bicarbonato e os prótons aumentados se combinam para formar ácido carbônico e mais CO_2, sua concentração de bicarbonato diminui ($HCO_3^- + H^+ \rightarrow H_2CO_3 \rightarrow CO_2 + H_2O$). Como observado em Di pelo seu pH sangüíneo arterial baixo de 7,08, a respiração de Kussmaul foi incapaz de compensar totalmente a alta taxa corporal de produção de corpos cetônicos.

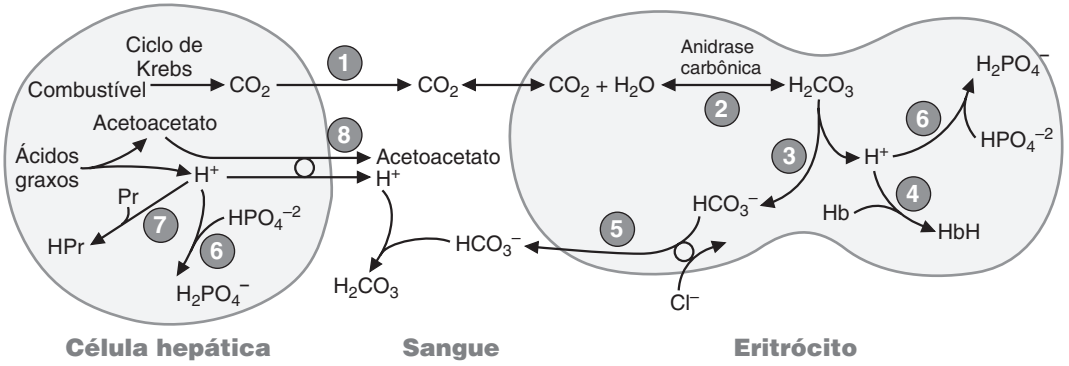


Figura 4.9 Sistemas-tampões do corpo. O CO_2 produzido pelo metabolismo celular é convertido em bicarbonato e H^+ nos eritrócitos. No interior desses, o H^+ é tamponado pela hemoglobina (Hb) e pelo fosfato (HPO_4^{-2}). O bicarbonato é transportado para dentro do sangue para tamponar o H^+ gerado pela produção de outros ácidos metabólicos, como o corpo cetônico ácido acetoacético. Outras proteínas (Pr) também servem como tampões intracelulares.

hemoglobina perde alguns de seus íons hidrogênio, uma característica que lhe permite ligar oxigênio mais rapidamente (ver Capítulo 7). Assim, o sistema tampão do bicarbonato está intimamente relacionado com o fornecimento de oxigênio para os tecidos.

O centro respiratório no hipotálamo, o qual controla a freqüência respiratória, é sensível a alterações no pH. À medida que o pH diminui, a respiração se torna mais rápida, e mais CO_2 é expirado. Já, quando ele se eleva, a respiração se torna mais superficial. Portanto, a freqüência respiratória contribui para a regulação do pH por seu efeito sobre o conteúdo de CO_2 dissolvido no sangue.

O bicarbonato e o ácido carbônico, o qual se difunde através da parede capilar do sangue para o líquido intersticial, constituem um importante tampão tanto para o plasma quanto para o líquido intersticial. Contudo, o sangue difere do líquido intersticial porque tem um alto conteúdo de proteínas extracelulares, como a albumina, as quais contribuem para sua capacidade tamponante por meio das cadeias laterais dos aminoácidos, que são capazes de captar e liberar prótons. O conteúdo de proteínas do líquido intersticial é baixo demais para servir como um tampão efetivo.



Di Abietes e **Percy Veere** estavam hiperventilando quando chegaram na emergência: a Srta. Abietes, em resposta à acidose metabólica primária, e o Sr. Veere, em resposta à ansiedade. A hiperventilação eleva o pH sangüíneo em ambos os casos; no primeiro, ela age contra a acidose de forma parcial e, no segundo, produz alcalose respiratória (pH sangüíneo anormalmente alto).

C. pH Intracelular

Ânions fosfato e proteínas são os principais tampões envolvidos na manutenção de um pH constante nos líquidos intracelulares. O ânion fostato inorgânico $H_2PO_4^-$ se dissocia para gerar H^+ e a base conjugada HPO_4^{-2} com um pK_a de 7,2 (ver Figura 4.9, círculo 6). Assim, ânions fosfato desempenham um papel importante como tampões intracelulares nos eritrócitos e em outros tipos de células, onde sua concentração é muito mais alta do que no sangue e no líquido intersticial (ver Tabela 4.1, líquido extracelular). Ânions fosfato orgânicos, como glicose-6-fosfato e ATP, também agem como tampões. O líquido intracelular tem um alto conteúdo de proteínas que contêm histidina e outros aminoácidos que podem aceitar prótons, de um modo semelhante à hemoglobina (ver Figura 4.9, círculo 7).



O ácido fosfórico (H_3PO_4) se dissocia em íons H^+ e diidrogênio fosfato ($H_2PO_4^-$) com um pK_a de 2,15. A dissociação $H_2PO_4^-$ em H^+e íons monoidrogenados (HPO_4^{-2}) ocorre em um pK_a de 7,20. Monoidrogênio fosfato se dissocia em H^+ e ânions fosfato (PO_4^{-3}) em um pK_a de 12,4.

O transporte de íons hidrogênio para fora das células também é significativo para manter constante o pH intracelular. O metabolismo produz outros ácidos além de CO_2, como, por exemplo, o ácido acetoacético e o ácido β-hidroxibutírico, produzidos pela oxidação de ácidos graxos até corpos cetônicos, no fígado, e o ácido lático, produzido pela glicólise no músculo e em outros tecidos. O pK_a para a maioria dos ácidos carboxílicos é menor do que 5, portanto eles estão completamente dissociados no pH sangüíneo e no líquido celular. Ânions metabólicos são transportados para fora da célula junto com H^+ (ver Figura 4.9, círculo 8). Se a célula se torna muito ácida, mais H^+ é transportado para fora em troca de íons Na^+ por transportador diferente. Se a célula se torna muito alcalina, mais bicarbonato é transportado para fora em troca de íons Cl^-.

D. Hidrogênio, Amônia e Íons Fosfato Urinários

O ácido não-volátil produzido pelo metabolismo corporal não pode ser excretado pela respiração como CO_2 e, portanto, é excretado na urina. A maioria dos íons hidrogênio de ácidos não-voláteis é excretada como ácido não-dissociado, que, em geral, tampona o pH urinário entre 5,5 e 7,0. Um pH de 5,0 é o pH urinário mínimo. A secreção ácida inclui ácidos inorgânicos, como íons fosfato e amônio, bem como ácido úrico e ácidos tricarboxílicos, como ácido cítrico (ver Tabela 4.2). Uma das maiores fontes de ácidos não-voláteis no corpo é o ácido sulfúrico (H_2SO_4), que é gerado a partir de compostos que contêm sulfato ingeridos nos alimentos e do metabolismo de aminoácidos que contêm enxofre, cisteína e metionina. Ele é um ácido forte que está dissociado em H^+ e ânion sulfato (SO_4^{-2}) no sangue e na urina (ver Figura 4.6). A excreção urinária de $H_2PO_4^-$ auxilia na remoção de ácidos. Para manter a homeostase metabólica, deve ser excretada na urina a mesma quantidade de fosfato que é obtida dos alimentos na forma de ânions fosfato ou fosfatos inorgânicos, como fosfolipídeos. A forma na qual o fosfato está presente na urina ($H_2PO_4^-$ ou HPO_4^{-2}) depende do pH urinário e do pH do sangue.

Íons amônio são os principais contribuintes para o tamponamento do pH urinário, mas não do pH sangüíneo. A amônia (NH_3) é uma base que se combina com prótons para produzir íons amônio (NH_4^+) ($NH_3 + H^+ \rightarrow NH_4^+$), uma reação que ocorre com um pK_a de 9,25. Ela é produzida a partir do catabolismo de aminoácidos ou absorvida pelo intestino e é mantida em concentrações muito baixas no sangue devido à sua toxicidade para os tecidos neurais. Células nos rins geram NH_4^+ e a excretam para urina na proporção da acidez (concentração de prótons) do sangue. A medida que as células tubulares transportam H^+ para urina, elas retornam ânions bicarbonato para o sangue.

Q: Íons amônio são ácidos que se dissociam para formar a base conjugada amônia e íons hidrogênio. Qual é a forma presente no sangue? E na urina?

E. Ácido Clorídrico

O ácido clorídrico (HCI), também chamado de ácido gástrico, é secretado pelas células parietais do estômago para o lúmen estomacal, onde a acidez forte desnatura proteínas ingeridas para que elas possam ser degradadas por enzimas digestivas. Quando os conteúdos do estômago são liberados para o lúmen do intestino delgado, o ácido gástrico é neutralizado pelo bicarbonato secretado pelas células pancreáticas e pelas células da parede intestinal.

O diabetes melito é diagnosticado pela concentração de glicose plasmática (plasma é o sangue do qual os eritrócitos foram removidos por centrifugação). Como, em geral, a glicose plasmática se eleva após uma refeição, os valores de referência normais e o nível diagnóstico são definidos em relação ao momento de consumo de alimentos ou consumo de uma quantidade de glicose específica durante um teste oral de tolerância à glicose. Após uma noite de jejum, os valores de glicose abaixo de 110 mg/dL são considerados normais e acima de 126 mg/dL definem diabetes melito. Valores de glicose plasmática em jejum maiores ou iguais a 110 e menores do que 126 mg/dL definem uma condição intermediária denominada tolerância diminuída à glicose em jejum. Os níveis de glicose plasmática ao acaso (qualquer momento do dia sem considerar quando ocorreu a última refeição) não devem ser maiores do que 200 mg/dL. Um nível de glicose plasmática duas horas pós-prandial (após uma refeição ou após uma carga de glicose) entre 140 e 199 mg/dL define uma condição conhecida como tolerância diminuída à glicose. Um nível acima de 200 mg/dL define diabetes melito.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Dianne Abietes. Di Abietes tem diabetes melito tipo 1(previamente chamada de juvenil ou diabetes melito insulino-dependente, DMID). Ela mantém seu nível de insulina por meio de duas injeções subcutâneas diárias de insulina. Se seus níveis sangüíneos de insulina ficam muito baixos, ácidos graxos livres saem dos seus adipócitos (células gordurosas) e são convertidos pelo fígado nos corpos cetônicos ácido acetoacético e ácido β-hidroxibutírico. À medida que esses ácidos acumulam no sangue, uma acidose metabólica conhecida como cetoacidose diabética (CAD) se desenvolve. Até que a insulina seja administrada para reverter essa tendência, diversos mecanismos compensatórios são acionados para minimizar a extensão da acidose. Um desses mecanismos é a estimulação do centro respiratório no hipotálamo induzido pela acidose, a qual torna a respiração mais profunda e mais freqüente (respiração de Kussmaul). O CO_2 é expirado mais rapidamente do que o normal, e o pH sangüíneo se eleva. Os resultados da avaliação laboratorial realizada em **Di Abietes** na emergência foram consistentes com uma CAD moderadamente grave. Seu pH sangüíneo arterial estava muito baixo, e corpos cetônicos estavam presentes em seu sangue e sua urina (em geral, corpos cetônicos não estão presentes na urina). Além disso, seu nível de glicose sangüínea era 648 mg/dL (valores de referên-

cia = 80-110 em jejum e não maior que 200 em uma amostra de glicose aleatória). Sua hiperglicemia, a qual induz uma diurese osmótica, contribui para sua desidratação e a hiperosmolaridade em seus líquidos corporais.

O tratamento foi iniciado com soluções fisiológicas intravenosas para repor a perda de líquidos por diurese osmótica e hiperventilação. A diurese osmótica resultou de um volume urinário de água elevado para diluir as grandes quantidades de glicose e os corpos cetônicos excretados na urina. A hiperventilação aumentou a perda de água pela respiração (no ar expirado). Foi introduzida uma dose de ataque de insulina regular como "bolo" intravenoso seguido de insulina adicional a cada hora conforme necessário. A resposta metabólica da paciente ao tratamento foi atentamente monitorizada.

Dennis Veere. Dennis permaneceu desperto na emergência. Enquanto aguardava os resultados de seu nível de salicilato sérico inicial, foi realizada uma lavagem estomacal, e diversos comprimidos brancos foram encontrados no aspirado estomacal. Ele foi repetidamente examinado e não mostrou nenhum sinal de toxicidade por salicilato, como estimulação respiratória, desconforto no abdômen superior, náusea ou cefaléia.

Seu salicilato sérico foi de 92 µg/mL (em geral, o nível em um adulto recebendo dosagem terapêutica de 4 a 5 g/dia é de 120 a 350 µg/mL, e um nível de 800 µg/mL é considerado potencialmente letal). O paciente foi internado para ser observado durante a noite e continuou bem. A dosagem de salicilato sérico na manhã seguinte foi 24 µg/mL. Ele foi liberado mais tarde durante o dia.

Percy Veere. Na emergência, o Sr. Veere se queixou de tontura e "agulhadas" (parestesias) em suas mãos e em torno de seus lábios. Esses sintomas resultaram de alteração respiratória, causada, nesse caso, pelo "comportamento", e não pelo controle "metabólico" respiratório central (como visto em Di Abietes quando ela estava em cetoacidose diabética). O sistema comportamental do Sr. Veere foi ativado em função de sua ansiedade pelo potencial envenenamento de seu neto. A hiperventilação alveolar levou sua $PaCO_2$ a diminuir abaixo da variação normal de 37 a 43 mm Hg. A alcalemia causou os sintomas neurológicos. Após informar o Sr. Veere de que seu neto estava bem, pediu-se que ele respirasse lentamente em um pequeno saco de papel posicionado em torno de seu nariz e sua boca, deixando que ele inalasse o CO_2 expirado através de sua hiperventilação. Dentro de 20 minutos, seus sintomas desapareceram.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Água corporal e desidratação. Desidratação, ou perda de água, ocorre quando a ingesta de sal e água é menor do que a combinação das taxas de perda de volume renal e extra-renal (Figura 4.10). Em um estado hipovolêmico verdadeiro, a água total, o volume LEC e o volume LIC estão diminuídos. Uma das causas de hipovolemia é uma ingesta de água inadequada para repor o volume de excreção diário (manutenção da homeostase de líquidos). A quantidade de perda de água pelos rins é determinada pela quantidade de água necessária para diluir os íons, ácidos e outros solutos excretados. A excreção urinária de solutos e a perda de água no ar expirado, a qual atinge quase 400 mL/dia, ocorre tanto durante o jejum quanto em períodos de ingesta normal de alimentos. Assim, pessoas que estão perdidas no deserto ou náufragos continuam a perder água pelo ar e pela urina, além da sua perda de água através da pele e das glândulas sudoríparas. Pacientes comatosos e pacientes que estão debilitados e incapazes de engolir também perdem água e se tornam desidratados. A anorexia (perda do apetite), tal como **Percy Veere** vivenciou durante sua depressão (ver Capítulos 1 e 3), pode resultar em desidratação devido ao fato de a ingesta de alimentos ser normalmente uma fonte de líquidos. Lesões cerebrais que causam uma perda da sede podem levar a desidratação.

R: O pK_a para dissociação de íons amônio é 9,25. Assim, a forma não-dissociada de ácido conjugado, NH_4^+, predomina no pH fisiológico de 7,4 e no pH urinário de 5,5 a 7,0. A amônia é uma base conjugada incomum porque ela não é um ânion.



Figura 4.10 Homeostase de líquidos corporais (balanço hídrico corporal constante). A ingesta é influenciada por disponibilidade de líquidos e alimentos, sede, fome e habilidade de engolir. A freqüência e a evaporação respiratórias e o volume urinário influenciam a perda de água. O corpo ajusta o volume de excreção urinária para compensar as variações nos outros tipos de perda de água e na ingesta. Os hormônios aldosterona e antidiurético (ADH) auxiliam o monitoramento do volume sangüíneo e da osmolalidade por meio de mecanismos regulatórios da sede e do equilíbrio de sódio e água.

A desidratação também pode ocorrer secundária à perda excessiva de água através dos rins, dos pulmões e da pele. A perda renal excessiva pode ser o resultado de função renal diminuída ou resposta diminuída a hormônios que regulam o balanço hídrico (p. ex., hormônio antidiurético [ADH] e aldosterona). Contudo, em indivíduos como **Di Abietes**, com função renal normal, a desidratação pode ocorrer como resposta a diluições de altas concentrações de corpos cetônicos, glicose e outros solutos excretados na urina (diurese osmótica). Se a perda urinária estiver associada a uma acidose, ocorre hiperventilação, aumentando a quantidade de água perdida no ar expirado (perda pulmonar de água, que pode ocorrer também como resultado de uma traqueostomia ou lesão cerebral). Uma perda excessiva de água e eletrólitos através da pele pode ser o resultado de queimaduras extensas.

Perdas de água gastrintestinais também podem levar a desidratação. São secretados cerca de 8 a 10 L de líquidos por dia no lúmen intestinal. Em geral, mais de 90% desse líquido é reabsorvido nos intestinos. A porcentagem reabsorvida pode ser reduzida por vômitos, diarréia, drenagem de conteúdos gástricos ou perda de água para os tecidos vizinhos ao intestino através de fístulas.

Leituras Sugeridas

Muitos livros-texto de Fisiologia apresentam descrições detalhadas do equilíbrio ácido-base. Uma referência muito útil para estudantes de Medicina é: Brensilver J, Goldberger, E. A Primer of Water, Electrolyte, and AcidBase Syndromes. 8th ed. Philadelphia: EA. Davis, 1996.

Para informações adicionais sobre os efeitos tóxicos da Aspirina®, ver Roberts LJ II, Morrow JD. Analgesicantipyretic and antiinflammatory agents and drugs employed in the treatment of gout. In: Hardman JG, Limbird LE, Goodman AG, eds. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. New York: McGraw-Hill, 7001:697-701.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 4

1. Uma diminuição do pH sangüíneo de 7,5 para 6,5 seria acompanhada de qual das seguintes alterações na concentração de íons?

   (A) Um aumento de 10 vezes na concentração de íon hidrogênio.
   (B) Um aumento de 10 vezes na concentração de íon hidroxil.
   (C) Um aumento na concentração de íon hidrogênio por um fator de 7,5/6,5.
   (D) Uma diminuição na concentração de íon hidrogênio por um fator 6,5/7,5.
   (E) Um desvio na concentração de ânions tamponantes, sem alteração na concentração de íons hidrogênio.

2. Qual das respostas seguintes descreve uma propriedade universal dos tampões?

   (A) Tampões são, em geral, compostos por uma mistura de ácidos e bases fortes.
   (B) Tampões funcionam melhor em um pH no qual eles estejam completamente dissociados.
   (C) Tampões funcionam melhor em um pH no qual eles estejam 50% dissociados.
   (D) Tampões funcionam melhor em um pH uma unidade mais baixo do que o pK_a.
   (E) Tampões funcionam igualmente em todas as concentrações.

3. Um paciente com enteropatia (doença intestinal) produz grandes quantidades de amônia (NH_3) por causa do crescimento bacteriano no intestino. A amônia foi absorvida através do intestino para a veia porta e entrou na circulação. Qual das seguintes afirmações é uma provável conseqüência da absorção de amônio?

   (A) Uma diminuição no pH sangüíneo.
   (B) Conversão de amônia em amônio no sangue.
   (C) Uma concentração diminuída de bicarbonato no sangue.

(D) Respiração de Kussmaul.
(E) Expiração aumentada de CO_2.

4. Qual das seguintes condições fisiológicas/patológicas tem maior probabilidade de resultar em uma alcalose se não for completamente compensada pelo corpo?

(A) Produção de ácido lático pelos músculos durante o exercício.
(B) Produção de corpos cetônicos por um paciente com diabetes melito.
(C) Vômitos repetidos dos conteúdos estomacais, incluindo HCl.
(D) Diarréia com perda de ânions bicarbonato secretados no intestino.
(E) Uma infecção resultando em febre e hipercatabolismo.

5. Testes laboratoriais na urina de um paciente identificaram a presença de metilmalonato ($^{-}OOC\text{-}CH(CH_3)\text{-}COO^{-}$). Metilmalonato

(A) é um ácido forte.
(B) é a base conjugada de um ácido fraco.
(C) está 100% dissociado no seu pK_a.
(D) está 50% dissociado no pH sangüíneo.
(E) é um importante tampão intracelular.

5 Estruturas dos Principais Compostos do Corpo

O corpo contém compostos de grande diversidade estrutural, variando de carboidratos simples e aminoácidos a polímeros bastante complexos, como proteínas e ácidos nucleicos. Muitos desses compostos têm características estruturais relacionadas a seus nomes, sua solubilidade na água, as vias nas quais participam ou sua função fisiológica. Assim, aprender a terminologia utilizada para descrever compostos individuais e classes de compostos pode facilitar muito o aprendizado de bioquímica.*

Neste capítulo, são descritas as principais classes de carboidratos e lipídeos e algumas classes de compostos contendo nitrogênio. As estruturas de aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos e vitaminas são estudadas em mais detalhes nos capítulos subseqüentes.

Grupos funcionais nas moléculas. *As moléculas orgânicas são compostas principalmente de carbono e hidrogênio. Contudo, suas características únicas estão relacionadas a estruturas denominadas grupos funcionais envolvendo* ***oxigênio, nitrogênio, fósforo*** *ou* ***enxofre****.*

Carboidratos. *Os carboidratos, comumente conhecidos como açúcares, podem ser classificados por seu grupo carbonila (****aldo*** *ou* ***cetoglicídeos****), o número de carbonos que eles contêm (p. ex., pentoses, hexoses) ou as posições dos grupos hidroxila nos átomos de carbono assimétrico (****carboidratos D ou L, estereoisômeros*** *ou* ***epímeros****). Eles podem também ser categorizados de acordo com seus substituintes da cadeia lateral (p. ex.,* ***aminoglicídeos****) ou o número de monossacarídeos (como glicose) unidos por* ***ligações glicosídicas*** *(****dissacarídeos, oligossacarídeos*** *e* ***polissacarídeos****).* ***Glicoproteínas*** *e* ***proteoglicanos*** *têm carboidratos ligados aos seus componentes protéicos.*

Lipídeos*. Os lipídeos são um grupo de componentes estruturalmente diversos definidos por sua* ***hidrofobicidade****; eles não são muito solúveis em água. Os principais lipídeos do corpo humano são os* ***ácidos graxos****, os quais são esterificados pelo* ***glicerol****, formando os* ***triacilgliceróis*** *(triglicerídeos) ou* ***fosfoacilgliceróis*** *(fosfoglicerídeos). Nos* ***esfingolipídeos****, um ácido graxo é ligado à esfingosina, a qual é derivada de serina e outro ácido graxo. Os* ***glicolipídeos*** *contêm carboidratos ligados a um grupo hidroxila de lipídeo. Os* ***ácidos graxos poliinsaturados*** *específicos são precursores de* ***eicosanóides****. O lipídeo* ***colesterol*** *é um componente das membranas e o precursor de outros compostos que contêm núcleos esteróides, como* ***sais biliares*** *e* ***hormônios esteróides****. O colesterol é um dos compostos sintetizados a partir de um precursor com cinco carbonos chamado de unidade de* ***isopreno****.*

Compostos contendo nitrogênio*. O nitrogênio nos* **grupos amino** *ou nas estruturas* **heterocíclicas** *em anel com freqüência têm carga positiva no pH neutro. Os* **aminoácidos** *contêm um grupo carboxila, um grupo amino e um ou mais carbonos adicionais. As* **purinas**, **pirimidinas** *e* **piridinas** *têm estruturas heterocíclicas em anel contendo nitrogênio. Os* **nucleosídeos** *incluem uma dessas estruturas em anel ligadas a um açúcar. A adição de um fosfato produz um* **nucleotídeo**.



CH_3CH_2OH Etanol
CH_3OH Metanol
Os nomes dos grupos químicos com freqüência são incorporados ao nome comum de cada composto e indicam diferenças importantes na estrutura química. Por exemplo, no nome etanol, o "et" indica o grupo etil (CH_3CH_2–), o "ol" indica o grupo álcool (OH) e o "ano" indica as ligações simples entre os átomos de carbono. O metanol contém um grupo metil (CH_3) no lugar do grupo etil. Também chamado álcool da madeira, o metanol é muito mais tóxico para humanos do que o etanol, o álcool das bebidas alcoólicas. A ingestão de metanol resulta em distúrbios visuais, bradicardia, coma e convulsões.



As moléculas hidrofóbicas são transportadas no sangue ligadas a proteínas carreadoras ou incorporadas a lipoproteínas complexas que têm um núcleo lipídico hidrofóbico e uma superfície mais polar.

* N. de T. Na Reunião Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular em Genebra, ficou estabelecido o uso dos termos glicídeos, diolosídeos, triolosídeos, poliolosídeos, etc., como nomeclatura. No entanto, os anglo-saxônicos, como os autores deste livro, usam carboidratos, sacarídeos, monossacarídeos, dissacarídeos, polissacarídeos, etc.

SALA DE ESPERA

Di Abietes se recuperou de seu episódio de cetoacidose diabética e foi liberada do hospital (ver Capítulo 4). Ela retornou para uma consulta de seguimento como paciente ambulatorial. Ela relata que está fazendo a dieta recomendada e que administra a insulina por injeção subcutânea duas vezes ao dia. Os níveis de glicose sérica são monitorados no laboratório do hospital aproximadamente a cada duas semanas, e ela mesma monitora os níveis sangüíneos de glicose a cada dois dias.

Lotta Topaigne é uma mulher de 47 anos que chega ao consultório médico se queixando de uma dor pulsátil grave no dedão do pé direito que começou há oito horas. O dedo não sofreu trauma, mas parece vermelho e inchado. Ele está mais quente do que o tecido circunjacente e está bastante sensível mesmo a uma pressão leve. A Srta. Topaigne é incapaz de flexionar ou estender voluntariamente as articulações do dedo, e movimento passivo das articulações causa muita dor.

I. GRUPOS FUNCIONAIS DE COMPOSTOS BIOLÓGICOS

A. Compostos Biológicos

As moléculas orgânicas do corpo consistem principalmente em carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, enxofre e fósforo ligados por ligações covalentes. O elemento-chave é o carbono, o qual forma quatro ligações covalentes com outros átomos. Os átomos de carbono são unidos por ligações duplas ou simples para formar o esqueleto carbonado em estruturas de tamanho e complexidade variados (Figura 5.1). Os grupos contendo 1, 2, 3, 4 e 5 carbonos mais hidrogênio são chamados de grupos metila, etila, propionila, butila e pentila, respectivamente. Se a cadeia de carbono é ramificada, o prefixo "iso" é utilizado. Se o composto contém uma ligação dupla, "ene" algumas vezes é incorporado ao nome. As estruturas de carbono que são lineares ou ramificadas com ligações simples ou duplas, mas que não contêm um anel, são chamadas de alifáticas.

Os anéis contendo carbono são encontrados em inúmeros compostos biológicos. Um dos mais comuns é o anel de benzeno contendo seis carbonos, algumas vezes chamado de grupo fenila (ver Figura 5.1). Esse anel tem três ligações duplas, mas os elétrons são compartilhados igualmente por todos os seis carbonos deslocados para planos acima e abaixo do anel. Os compostos contendo o anel de benzeno, ou uma estrutura em anel similar com propriedades semelhantes ao benzeno, são chamados de aromáticos.

B. Grupos Funcionais

As moléculas bioquímicas são definidas por seu esqueleto de carbono e por estruturas chamadas de grupos funcionais que, em geral, envolvem ligações entre carbono e oxigênio, carbono e nitrogênio, carbono e enxofre, carbono e grupos fosfato (Figura 5.2). Em ligações carbono-carbono e carbono-hidrogênio, os elétrons são compartilhados igualmente entre os átomos, e as ligações são não-polares e relativamente não-reativas. Em ligações carbono-oxigênio e carbono-nitrogênio, os elétrons são compartilhados de modo desigual, e as ligações são polares e mais reativas. Assim, as propriedades funcionais dos grupos, em geral, determinam os tipos de reações que ocorrem e o papel fisiológico da molécula.

Os nomes dos grupos funcionais, com freqüência, são incorporados ao nome do composto. Por exemplo, uma cet**ona** pode ter um nome que termina em "ona", como acet**ona**, e o nome de um composto que contém uma hidroxila (álco**ol** ou grupo OH) pode terminar em "ol" (p. ex., etan**ol**). O grupo acila é a porção da molécula que for-

Di Abietes teve uma acidose metabólica resultante de uma produção hepática aumentada de corpos cetônicos. Sua resposta à terapia foi acompanhada com testes de rastreamento para corpos cetônicos na urina. Esses testes empregaram uma tira de papel contendo nitroprussiato, um composto que reage com grupos ceto. A glicose sangüínea foi medida por um ensaio enzimático que é específico para o carboidrato D-glicose e não reagirá com outros açúcares.

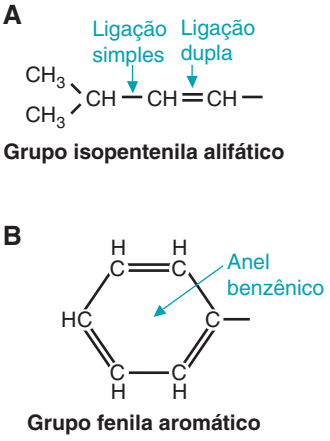
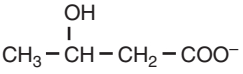
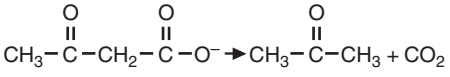


Figura 5.1 Exemplos de compostos alifáticos e aromáticos. **A.** Um grupo **iso**pr**eno**, o qual é um grupo alifático. O prefixo "iso" indica ramificação, e o "eno" indica uma ligação dupla. **B.** Um anel benzênico (ou grupo fenila), o qual é um grupo aromático.

Os corpos cetônicos sintetizados no fígado são β-hidroxibutirato e acetoacetato. Um terceiro corpo cetônico, acetona, é formado pela descarboxilação não-enzimática do acetoacetato.



β-Hidroxibutirato



Acetoacetato **Acetona**

A acetona é volátil e é responsável pelo odor adocicado na respiração de pacientes que têm cetotacidose como **Di Abietes**. Quais grupos funcionais estão presentes em cada um desses corpos cetônicos?

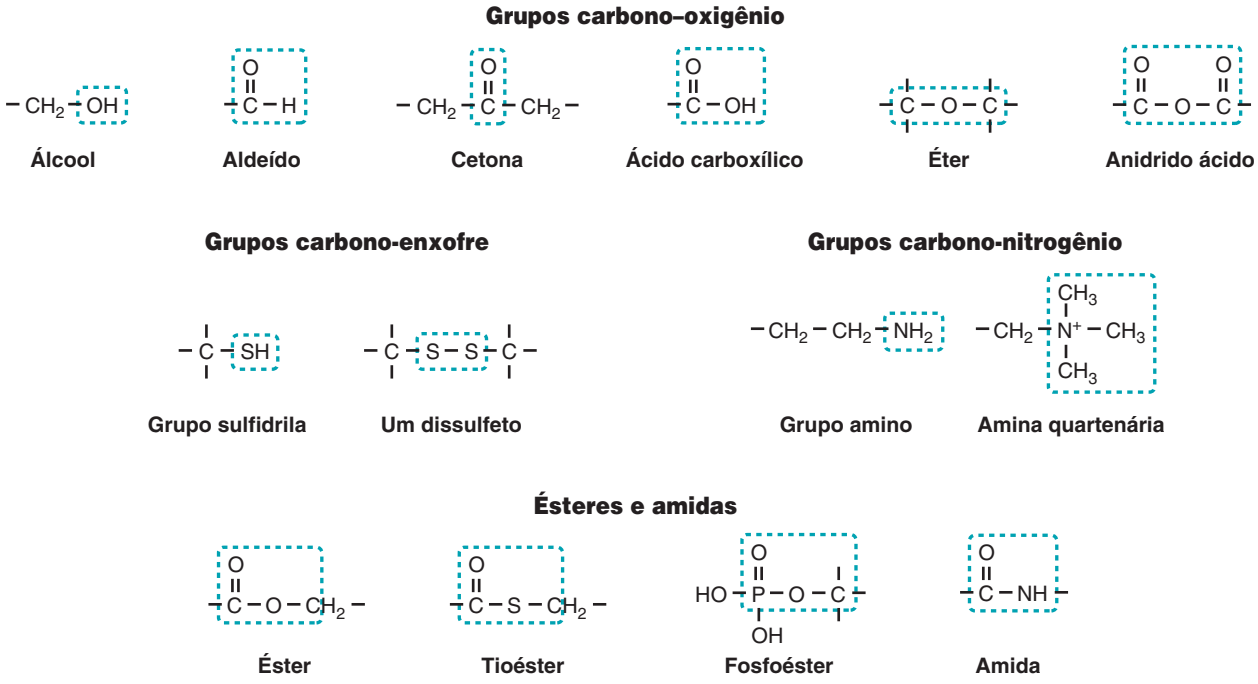
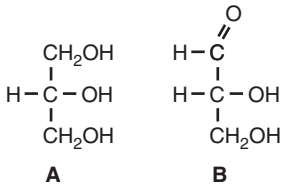


Figura 5.2 Principais tipos de grupos funcionais encontrados em compostos bioquímicos do corpo humano.

Q:



A B

Qual dos compostos é glicer**ol** e qual é glicer**aldeído**?

Q: Julgando a partir das estruturas mostradas na questão na página 55, qual composto é mais oxidado, β-hidroxibutirato ou acetoacetato? Qual é mais reduzido?

R: β-Hidroxibutir**ato** e acetoacet**ato** são carboxil**atos** (ácidos carboxílicos dissociados). Acet**o**acetato e acet**ona** contêm grupos cet**o**/cet**ona**. Devido ao fato de β-**hidroxi**butirato conter um grupo álcool (**hidroxila**) e não um grupo ceto, o nome geral dos corpos cetônicos para esses compostos é, na verdade, um nome inadequado.

nece o grupo carbonila (–C=O) em uma ligação éster ou amida. Ele é indicado em um nome por uma terminação "il". Por exemplo, as reservas de gordura do corpo são tri**acil**glicer**óis**. Três grupos acila (ácido graxo) são esterificados pelo glicer**ol**, um composto contendo três grupos álcool. No restante deste capítulo, serão colocadas em negrito as porções dos nomes dos compostos que se referem a uma classe de compostos ou uma característica estrutural.

1. GRUPOS OXIDADOS E REDUZIDOS

Os grupos carbono-carbono e carbono-oxigênio são descritos como "oxidados" ou "reduzidos" de acordo com o número de elétrons em torno do átomo de carbono. Oxidação é a perda de elétrons e resulta na perda de átomos de hidrogênio juntamente com um ou dois elétrons, ou no ganho de um átomo de oxigênio ou grupo hidroxila. Redução é o ganho de elétrons e resulta no ganho de átomos de hidrogênio ou na perda de um átomo de oxigênio. Assim, o carbono torna-se progressivamente mais oxidado (e menos reduzido) à medida que se vai de um álcool para um aldeído ou de uma cetona para um grupo carboxila (ver Figura 5.2). Ligações duplas carbono-carbono são mais oxidadas (e menos reduzidas) do que ligações simples carbono-carbono.

2. GRUPOS QUE POSSUEM UMA CARGA

Os grupos ácidos contêm um próton que se pode dissociar, em geral deixando o restante da molécula como um ânion com uma carga negativa (ver Capítulo 4). Nas biomoléculas, os principais substituintes aniônicos são grupos carboxil**ato**, grupos fosf**ato** ou grupos sulf**ato** (o sufixo "ato" indica uma carga negativa) (Figura 5.3). Os grupos fosfato ligados aos metabólitos com freqüência são abreviados por um "P" com um círculo em torno, como na glicose-6-**P**.

Compostos contendo nitrogênio em geral são básicos e podem adquirir uma carga positiva (Figura 5.4). O nitrogênio tem cinco elétrons em sua camada de valência. Se apenas três desses elétrons formarem ligações covalentes com outros átomos, o nitrogênio não tem carga. Se os dois restantes formarem ligação com um íon hidrogênio ou átomo de carbono, o nitrogênio fica com uma carga positiva. As aminas consistem em

um nitrogênio ligado por ligações simples a átomo de hidrogênio e a um ou mais átomos de carbono. Aminas primárias, como dop**amina**, têm uma ligação carbono-nitrogênio. Essas aminas são ácidos fracos com um pK_a de aproximadamente 9, de tal modo que em pH 7,4 elas têm carga positiva. Aminas secundárias, terciárias e quaternárias têm 2, 3 e 4 ligações carbono-nitrogênio, respectivamente (ver Figura 5.4).

C. Polaridade das Ligações e Cargas Parciais

As ligações polares são ligações covalentes nas quais a nuvem de elétrons é mais densa em torno de um átomo (o átomo com a maior eletronegatividade) do que de outro. O oxigênio é mais eletronegativo do que o carbono; dessa forma, uma ligação carbono-oxigênio é polar, com o átomo de oxigênio tendo uma carga parcial negativa e o átomo de carbono tendo uma carga parcial positiva (Figura 5.5). Em ligações não-polares carbono-carbono e carbono-hidrogênio, os dois elétrons na ligação covalente são compartilhados quase igualmente. O nitrogênio, quando tem apenas três ligações covalentes, também tem uma carga parcial negativa em relação ao carbono, e a ligação carbono-nitrogênio é polarizada. O enxofre pode ter uma carga parcial levemente negativa.

1. SOLUBILIDADE

Água é uma molécula dipolar na qual o átomo de oxigênio tem uma carga parcial negativa, e os átomos de hidrogênio têm cargas parciais positivas (ver Capítulo 4). Para as moléculas serem solúveis em água, elas devem conter grupos com cargas ou polares que possam se associar às cargas parciais positivas ou negativas da água. Assim, a solubilidade de moléculas orgânicas na água é determinada tanto pela razão de grupos polares e apolares ligados ao esqueleto de carbono-hidrogênio quanto por sua posição relativa na molécula. Grupos ou moléculas polares são chamados de hidrofílicos (amam a água), e grupos ou moléculas apolares (não-polares) são hidrofóbicos (temem a água). Os glicídeos como a glicose-6-fosfato, por exemplo, por conterem tantos grupos polares, são muito hidrofílicos e quase infinitamente solúveis em água (Figura 5.6). As moléculas de água interagindo com um composto polar ou iônico formam uma camada de hidratação em torno do composto.

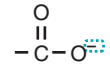
Os compostos que têm grandes regiões apolares são relativamente insolúveis em água. Eles tendem a se agrupar juntos no ambiente aquoso e formar associações fracas por forças de van der Waals, com freqüência chamadas de ligações hidrofóbicas. Os compostos hidrofóbicos são essencialmente agrupados juntos à medida que as moléculas de água maximizam o número de ligações de hidrogênio que podem formar entre si na "rede de água". Assim, os lipídeos formam gotas ou camadas separadas em ambiente aquoso (p. ex., óleos vegetais em um molho de salada).

2. REATIVIDADE

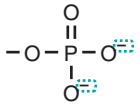
Outra conseqüência da polaridade das ligações é que átomos que têm uma carga parcial (ou total) negativa são atraídos por átomos que têm carga parcial (ou total) positiva e vice-versa. Essas cargas parciais ou totais definem o curso das reações bioquímicas, as quais seguem os mesmos princípios de ataque eletrofílico e nucleofílico característicos das reações orgânicas em geral. A carga positiva parcial do carbono-carboxila atrai mais grupos carregados negativamente e é responsável por muitas das reações dos ácidos carboxílicos. Um éster é formado quando um ácido carboxílico e um álcool se combinam, liberando água (Figura 5.7). De maneira semelhante, um tioéster é formado quando um ácido se combina com um grupo sulfidrila, e uma amida é formada quando um ácido se combina com uma amina. Reações similares resultam na formação de um fosfoéster a partir de ácido fosfórico e um álcool e na formação de um anidrido a partir de dois ácidos.

D. Nomenclatura

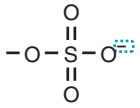
Os bioquímicos utilizam dois sistemas para a identificação dos carbonos em uma cadeia. No primeiro sistema, os carbonos em um composto são numerados, iniciando com o carbono do grupo mais oxidado (p. ex., o grupo carboxila). No segundo sistema,



Grupo carboxilato

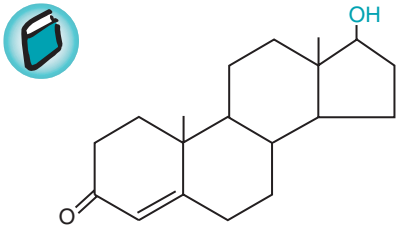


Grupo fosfato



Grupo sulfato

Figura 5.3 Exemplos de ânions formados por dissociação de grupos ácidos. Em pH fisiológico, ácidos carboxílicos, ácido fosfórico e ácido sulfúrico estão dissociados em íons hidrogênio e ânions carregados negativamente.

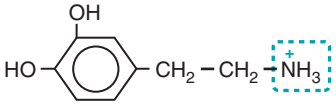


Testosterona

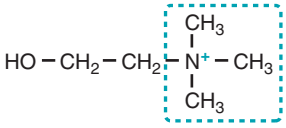
Em medicina e bioquímica, o nome comum ou trivial dos compostos é utilizado no lugar da nomenclatura sistemática preferida pelos químicos. Algumas vezes, tais nomes refletem grupos funcionais, classes de compostos ou a fonte da qual o composto foi isolado pela primeira vez. O composto testosterona é um exemplo. Ele foi isolado pela primeira vez do testículo de macaco; o "ster" em seu nome indica a estrutura esteróide em anel e o "ona" indica um grupo cetônico.

R: "A" contém três grupos **álcool** e é chamado de glicer**ol**. O composto B contém um **grupo aldeído** e é chamado de glicer**aldeído**.

R: O acetoacetato é mais oxidado do que o β-hidroxibutirato. O carbono no grupo ceto contém um hidrogênio a menos do que o carbono ao qual o OH está ligado. Ele perdeu um elétron.



Dopamina (uma amina primária)



Colina (uma amina quaternária)

Figura 5.4 Exemplos de aminas. Em pH fisiológico, muitas aminas têm cargas positivas.

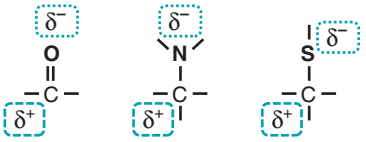
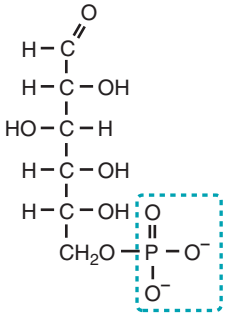


Figura 5.5 Cargas parciais nas ligações carbono-oxigênio, carbono-nitrogênio e carbono-enxofre.



Glicose–6-fosfato

Figura 5.6 Glicose-6-fosfato, uma molécula muito polar e solúvel em água.

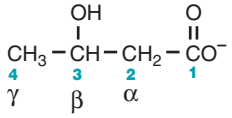


Figura 5.8 Dois sistemas para identificação de átomos de carbono em um composto. Esse composto é chamado de 3-hidroxibutirato ou β-hidroxibutirato.

os carbonos recebem letras gregas, iniciando com o carbono próximo ao grupo mais oxidado. Assim, o composto apresentado na Figura 5.8 é conhecido como 3-hidroxibutirato ou β-hidroxibutirato.

II. CARBOIDRATOS

A. Monossacarídeos

Os monossacarídeos simples consistem em uma cadeia linear de três ou mais átomos de carbono, um dos quais forma um grupo carbonila por uma ligação dupla com oxigênio (Figura 5.9). Os outros carbonos de um monossacarídeo não-modificado contêm grupos hidroxila, resultando na fórmula geral para um glicídeo não-modificado $C_nH_{2n}O_n$. O sufixo "ose" é utilizado para o nome dos glicídeos. Se o grupo carbonila é um aldeído, o carboidrato é uma aldose; se o grupo carbonila é uma cetona, o carboidrato é uma cetose. Os monossacarídeos também são classificados por seus números de carbonos: carboidrato contendo 3, 4, 5, 6 e 7 carbonos são chamados de trioses, tetroses, pentoses, hexoses e heptoses, respectivamente. A frutose é, portanto, uma ceto-hexose (ver Figura 5.9), e a glicose é uma aldo-hexose (ver Figura 5.6).

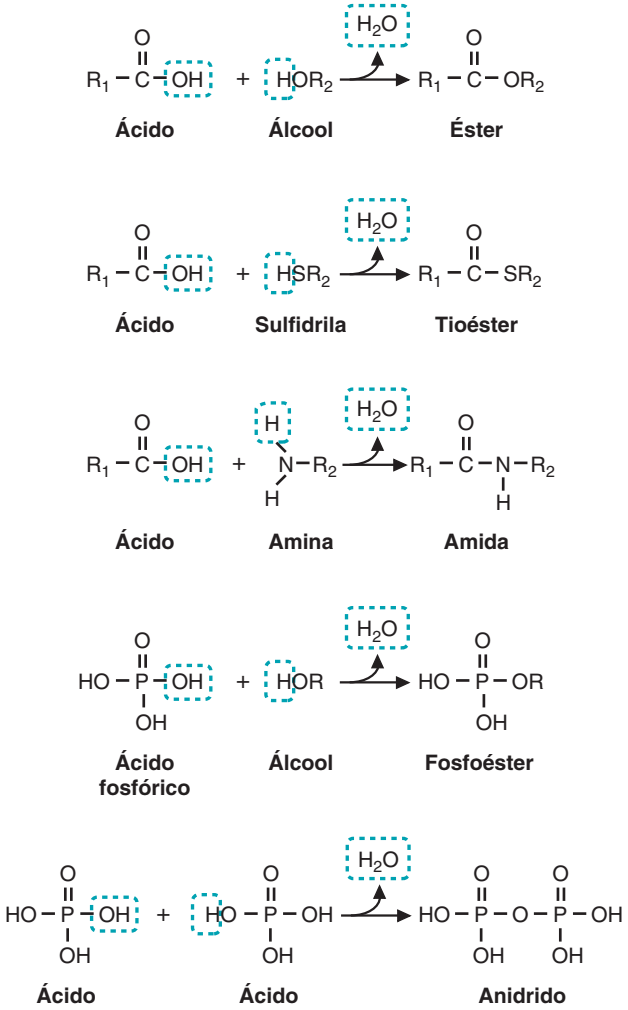


Figura 5.7 Formação de ésteres, tioésteres, amidas, fosfoésteres e anidridos.

1. CARBOIDRATOS D E L

Um átomo de carbono que contém quatro grupos químicos diferentes forma um centro assimétrico (quiral) (Figura 5.10). Os grupos ligados ao carbono assimétrico podem ser distribuídos para formar dois isômeros diferentes que são imagens em espelho um do outro e não-sobreponíveis. Os monossacarídeos estereoisômeros são designados D ou L, considerando se a posição do grupo hidroxila mais distante do grupo carbono-carbonila combina com o gliceraldeído D ou L (Figura 5.11). Embora um sistema mais sofisticado de nomenclatura utilizando designação (R) e (S) em geral seja utilizado para descrever as posições de grupos em moléculas complexas como fármacos, a designação D e L ainda é utilizada em medicina para descrever carboidratos e aminoácidos. Devido ao fato de a glicose (o principal açúcar no sangue humano) e a maioria dos outros carboidratos nos tecidos humanos pertencerem à série D, os carboidratos são considerados D, a menos que L seja especificamente adicionado ao nome.

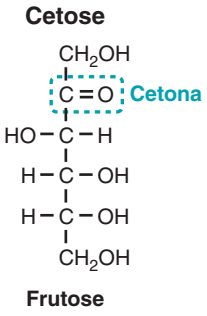


Figura 5.9 A frutose é uma ceto-hexose.

2. ESTEREOISÔMEROS E EPÍMEROS

Os estereoisômeros têm a mesma fórmula química, mas diferem na posição do grupo hidroxila em um ou mais carbonos assimétricos (Figura 5.12). Um carboidratos com ***n*** centros assimétricos tem 2^n estereoisômeros, a menos que tenha um plano de simetria. Os epímeros são estereoisômeros que diferem na posição do grupo hidroxila em um de seus carbonos assimétricos. D-glicose e D-galactose são epímeras uma da outra, diferindo apenas na posição quatro, e podem ser interconvertidas nas células humanas por enzimas chamadas de epimerases. D-manose e D-glicose também são epímeras uma da outra.

A estereoespecificidade de D-glicose com freqüência é indicada em medicina pelo uso de seu nome antigo, dextrose. Uma solução utilizada para infusão intravenosa em pacientes é a solução de dextrose a 5% (5 g/100 mL).

D-manose e D-galactose são estereoisômeros? Elas são epímeras uma da outra? (ver Figura 5.12)

3. ESTRUTURAS EM ANEL

Os monossacarídeos existem em solução principalmente como estruturas em anel nas quais o grupo carbonila (aldeído ou cetona) reagiu com um grupo hidroxila na mesma molécula para formar um anel de cinco ou seis membros (Figura 5.13). O oxigênio que estava no grupo hidroxila é agora parte do anel, e o carbono originário do grupo carbonila, o qual contém agora um grupo –OH, tornou-se o átomo de carbono anomérico. Um grupo hidroxila no carbono anomérico representado abaixo do anel está na posição α; representado acima do anel, está na posição β. Na estrutura tridimensional, o anel não é plano, mas em geral assume a conformação em "cadeira" na qual os grupos hidroxila estão localizados em uma distância máxima uns dos outros.

Em solução, o grupo hidroxila no carbono anomérico espontaneamente (de forma não-enzimática) se modifica da posição α para a β por um processo chamado de mutarrotação. Quando o anel se abre, é formada uma cadeia de aldeído ou cetona linear. Quando o anel se fecha, o grupo hidroxila pode estar na posição α ou β (Figura 5.14). Esse processo ocorre mais rapidamente na presença de enzimas celulares chamadas de mutarrotases. Contudo, se o carbono anomérico forma uma ligação com uma outra molécula, essa ligação é fixada na posição β, e o carboidrato não pode sofrer mutarrotação. As enzimas são específicas para ligações α ou β entre os carboidratos e outras moléculas e reagem apenas com um tipo.

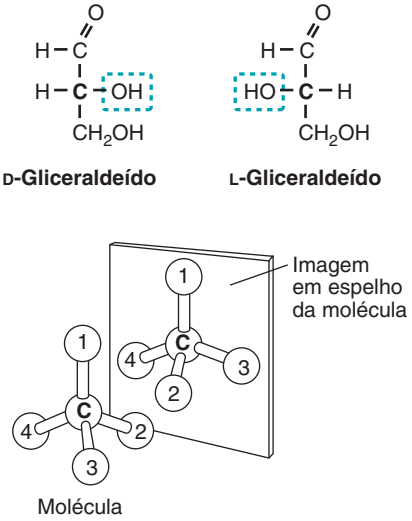


Figura 5.10 D- e L-Gliceraldeído. O carbono no centro contém quatro diferentes grupos substituintes dispostos na forma de um tetraedro. Um arranjo diferente cria um isômero que é uma imagem em espelho que não é possível de ser sobreposta ao composto original. Se você rota a estrutura de imagem em espelho de tal modo que os grupos 1 e 2 fiquem alinhados, o grupo 3 ficará na posição do grupo 4, e o grupo 4 ficará na posição do grupo 3.

4. CARBOIDRATOS COM SUBSTITUIÇÕES

Os carboidratos freqüentemente contêm grupos fosfato, grupos amino, grupos sulfato ou grupos *N*-acetil. A maioria dos monossacarídeos livres dentro das células é fosforilada na sua extremidade de carbono, o que previne seu transporte para fora da célula (ver glicose-6-fosfato na Figura 5.6). Os carboidratos aminados como galacto**samina** e glico**samina** contêm um grupo amino em vez de um grupo hidroxila em um dos átomos de carbono, em geral no carbono dois (Figura 5.15). Freqüentemente, esse grupo amino foi acetilado para formar um carboidrato *N*-acetilado. Em moléculas complexas denominadas proteoglicanos, muitos dos carboidratos *N*-acetilados também contêm grupos sulfato negativamente carregados ligados a um grupo hidroxila do carboidrato.

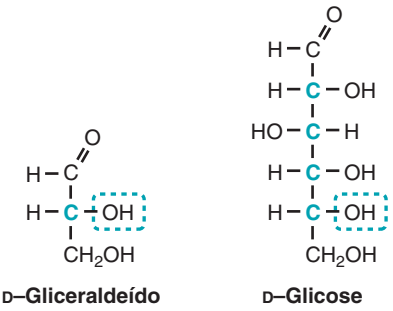


Figura 5.11 D-Gliceraldeído e D-glicose. Esses carboidratos têm a mesma configuração no carbono assimétrico mais distante do grupo carbonila. Ambos pertencem à série D. Carbonos assimétricos são representados em azul.

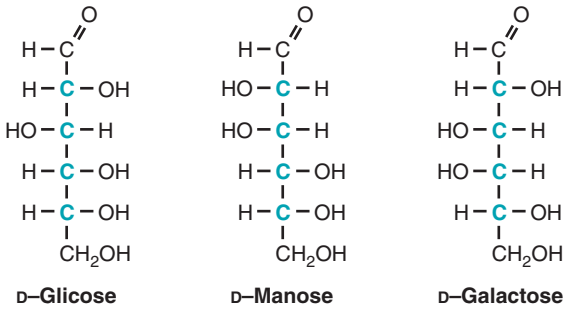


Figura 5.12 Exemplos de estereoisômeros. Esses compostos têm a mesma fórmula química ($C_6H_{12}O_6$), mas diferem nas posições dos grupos hidroxila nos seus carbonos assimétricos (em azul).

R: Eles são estereoisômeros, mas não epímeros um do outro. Eles têm a mesma fórmula química, mas diferem na posição de dois grupos hidroxila.

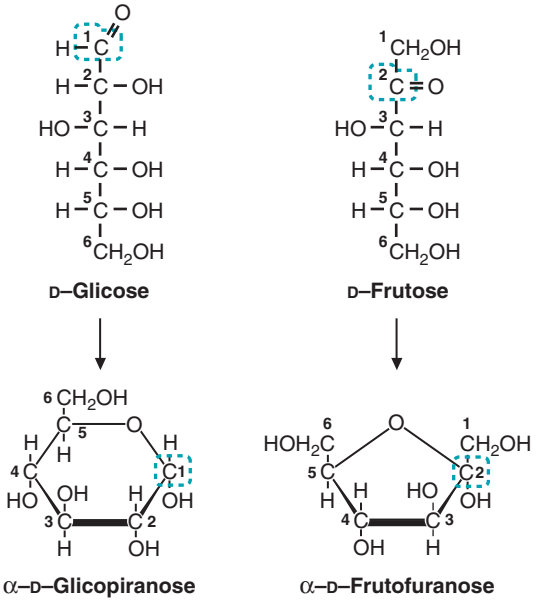


Figura 5.13 Anéis de piranose e furanose formados a partir de glicose e frutose. Os carbonos anoméricos estão assinalados.

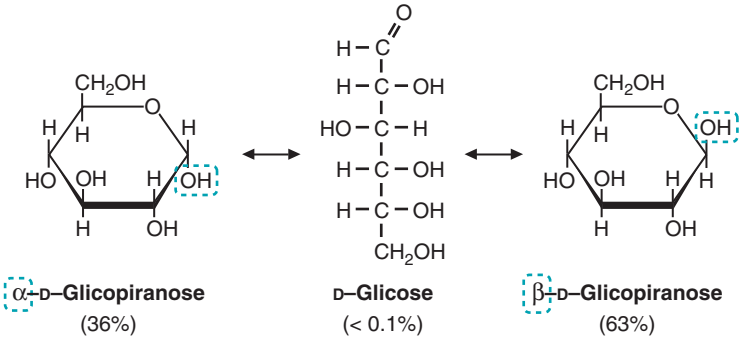
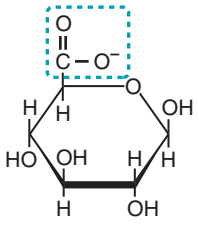


Figura 5.14 Mutarrotação da glicose em solução, com porcentagens de cada forma em equilíbrio.

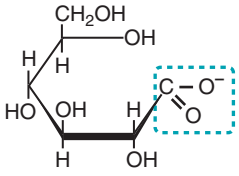
5. CARBOIDRATOS OXIDADOS E REDUZIDOS

Os carboidratos podem ser oxidados no carbono aldeído para formar um ácido. Tecnicamente, o composto não é mais um carboidrato, e a terminação de seu nome é trocada de "-ose" para "ácido...-ônico" (p. ex., ácido glic**ônico**, Figura 5.16). Se o carbono contendo o grupo hidroxila terminal está oxidado, o carboidrato é chamado de ácido urônico (p. ex., ácido glic**urônico**).

Carboidratos oxidados

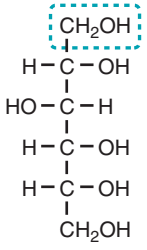


β–D–Glicuronato

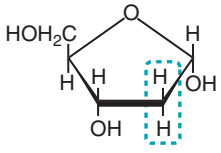


D–Gluconato

Carboidratos reduzidos

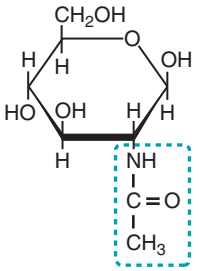


D–Sorbitol



Desoxirribose

Figura 5.16 Carboidratos oxidados e reduzidos. O grupo afetado é mostrado em azul. O ácido glicônico (D-gluconato) é formado pela oxidação do carbono aldeído da glicose. O ácido glicurônico é formado pela oxidação do grupo OH terminal da glicose. O sorbitol, um álcool derivado de carboidrato, é formado pela redução do grupo aldeído da glicose. A desoxirribose é formada pela redução de ribose.



N–Acetil–β–D–glicosamina

Figura 5.15 Um carboidrato aminado *N*-acetilado. O *N* indica o grupo amino ao qual o grupo acetila foi ligado, mostrado na caixa azul.

Os proteoglicanos contêm muitas cadeias longas de polissacarídeos ligadas a uma proteína central. As cadeias polissacarídicas, chamadas de glicosaminoglicanos, são compostas de unidades de dissacarídeos repetidas contendo carboidratos ácidos oxidados (como ácido glicurônico), carboidratos sulfatados e carboidratos amino *N*-acetilados. O grande número de cargas negativas faz com que as cadeias de glicosaminoglicanos se projetem para fora da proteína, de tal modo que a estrutura geral lembra uma escova de limpar garrafas. Os proteoglicanos são partes essenciais da matriz extracelular, do humor aquoso do olho, de secreções das células produtoras de muco e da cartilagem.

Se o aldeído de um carboidrato está reduzido, todos os átomos de carbono contêm grupos álcool (hidroxila), e o carboidrato é um poli**ol** (p. ex., sorbit**ol**) (ver Figura 5.16). Se um dos grupos hidroxila de um carboidrato é reduzido de tal modo que o carbono contém apenas hidrogênio, o carboidrato é um desoxicarboidrato, como a **desoxi**rribose no DNA.

B. Glicosídeos

1. LIGAÇÕES N– E O-GLICOSÍDICAS

O grupo hidroxila no carbono anomérico de um monossacarídeo pode reagir com um grupo –OH ou um grupo –NH de um outro composto para formar uma ligação glic**osídica**. A ligação pode ser α ou β, dependendo da posição do átomo ligado ao carbono anomérico do carboidrato. Ligações *N*-glicosídicas são encontradas em nucle**osídeos** e nucle**otídeos**. Por exemplo, na porção adenosina do ATP, a base nitrogenada adenina está ligada ao carboidrato ribose por uma ligação β-*N*-glicosídica (Figura 5.17). Em contraste, ligações *O*-glicosídicas, como aquelas encontradas na lactose, ligam os carboidratos uns aos outros ou ligam os carboidratos ao grupo hidroxila de um aminoácido ou uma proteína.

2. DISSACARÍDEOS, OLIGOSSACARÍDEOS E POLISSACARÍDEOS

Um dissacarídeo contém dois monossacarídeos ligados por uma ligação *O*-glicosídica. A lactose, a qual é o açúcar do leite, consiste em galactose e glicose ligadas por uma ligação β(1 → 4) formada entre o grupo –OH β do carbono anomérico da galactose e o grupo hidroxila no carbono 4 da glicose (ver Figura 5.17). Os oligossacarídeos

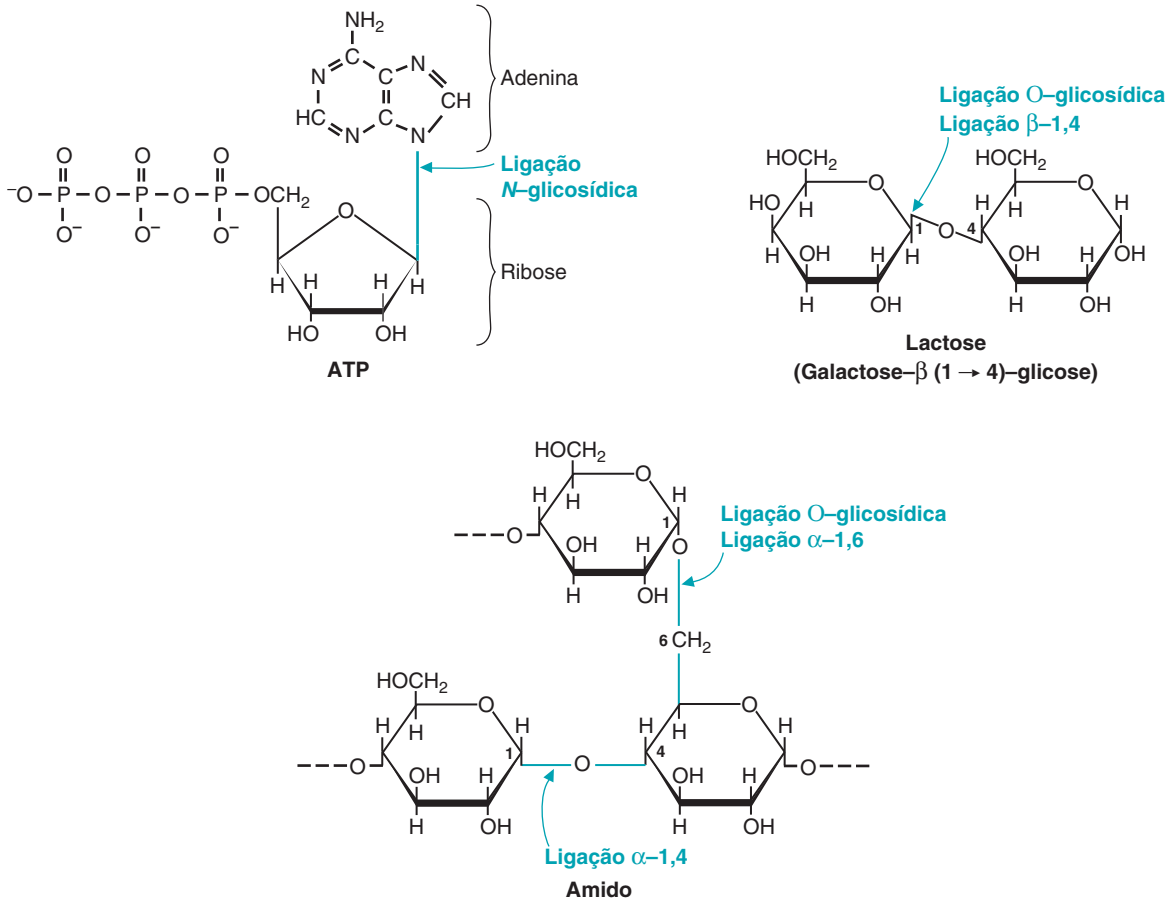


Figura 5.17 Ligações *N*– e *O*-glicosídicas. O trifosfato de adenosina (ATP) contém uma ligação β *N*-glicosídica. A lactose contém uma ligação *O*-glicosídica β(1→4). O glicogênio contém ligações *O*-glicosídicas α-1,4 e α-1,6.

contêm de 3 a aproximadamente 12 monossacarídeos ligados juntos. Eles com freqüência são encontrados ligados por ligações *N*– ou *O*-glicosídicas a proteínas para formar **glico**proteínas (ver Capítulo 6). Os polissacarídeos contêm dezenas a milhares de monossacarídeos unidos por ligações glicosídicas para formar estruturas de cadeias lineares ou ramificadas. A amilopectina (uma forma de amido) e o glicogênio (a forma de armazenamento da glicose nas células humanas) são polímeros ramificados de resíduos glicosil ligados por ligação α (1→4) e α (1→6).

III. LIPÍDEOS

A. Ácidos Graxos

Os ácidos graxos em geral são cadeias alifáticas retas com um grupo metila em uma das extremidades (chamada de carbono ω) e um grupo carboxila na outra (Figura 5.18). A maioria dos ácidos graxos nos humanos tem um número par de átomos de carbonos, em geral entre 16 e 20. Os ácidos graxos saturados têm ligações simples entre os carbonos na cadeia, e os ácidos graxos insaturados contêm uma ou mais ligações duplas. Os ácidos graxos saturados mais comuns presentes nas células são o ácido palmítico (C16) e o ácido esteárico (C18). Embora em geral ambos sejam chamados por seus nomes comuns, os ácidos graxos mais curtos com freqüência são chamados pela palavra em latim para o número de carbonos, como ácido octanóico (8 carbonos) e ácido decanóico (10 carbonos).

Os ácidos graxos monossaturados contêm uma ligação dupla, e os ácidos graxos polissaturados contêm duas ou mais ligações duplas (ver Figura 5.18). A posição da ligação dupla é designada pelo número do carbono na ligação dupla que está mais próximo do grupo carboxila. Por exemplo, o ácido olêico, o qual contém 18 carbonos e



O ponto de fusão de um ácido graxo aumenta com o comprimento da cadeia e diminui com o grau de saturação. Assim, ácidos graxos com muitas ligações duplas, como aqueles em óleos vegetais, são líquidos em temperatura ambiente, e ácidos graxos saturados, como aqueles na gordura da manteiga, são sólidos. Os lipídeos com pontos de fusão mais baixos são mais líquidos em temperatura ambiente e contribuem para a fluidez das membranas celulares.

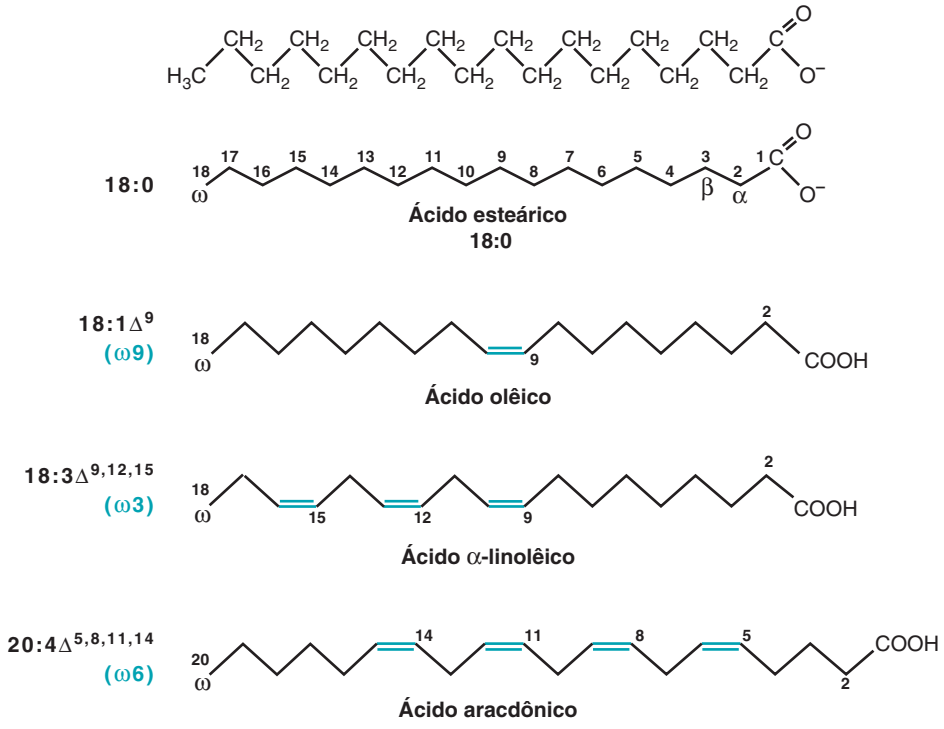


Figura 5.18 Ácidos graxos saturados e ácidos graxos insaturados. No ácido esteárico, o ácido graxo saturado no topo da figura, todos os átomos são mostrados. Uma maneira mais comum de detalhar a mesma estrutura é mostrada acima. Os carbonos ou são numerados iniciando no grupo carboxila ou recebem letras gregas iniciando no carbono próximo ao grupo carboxila. O carbono do grupo metila (ou ω) no final da cadeia é sempre chamado de carbono ω, independentemente do comprimento da cadeia. 18:0 se refere ao número de átomos de carbono (18) e ao número de ligações duplas (0). No ácido graxo insaturado mostrado, nem todos os carbonos são numerados, mas pode-se notar que as ligações duplas são *cis* e espaçadas em intervalos de três carbonos. Ambos os ácidos graxos ω3 e ω6 são necessários na dieta.

Os eicosanóides são um grupo de compostos similares a hormônios produzidos por muitas células no corpo. Eles são derivados de ácidos graxos polissaturados como ácido aracdônico que contém 20 carbonos (eicosa) e tem 3, 4 ou 5 ligações duplas. As prostaglandinas, os tromboxanos e os leucotrienos pertencem a esse grupo de compostos.

Q: Ácido palmitolêico, ácido olêico e ácido aracdônico são os ácidos graxos insaturados mais comuns na célula. O ácido palmitolêico é um ácido graxo 16:1, Δ^9. Como seria chamado como ácido graxo ω?

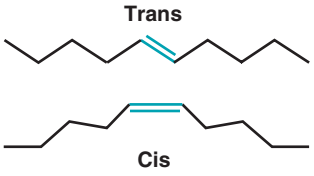


Figura 5.19 Ligações *cis* e *trans* em cadeias laterais de ácido graxo. Observe que a ligação dupla *cis* faz a cadeia se dobrar.

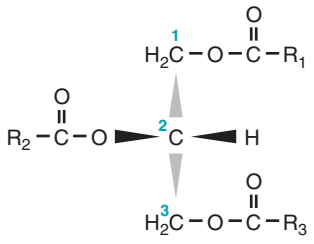


Figura 5.20 Um triacilglicerol. Observe que os carbonos 1 e 3 da porção glicerol não são idênticos. A parte mais larga da seta está mais próxima do leitor do que a porção estreita.

uma ligação dupla entre as posições 9 e 10, é designado 18:1, Δ^9. O número 18 indica o número de átomos de carbono, 1 (um) indica o número de ligações duplas, e Δ^9 indica a posição da ligação dupla entre os átomos de carbono 9 e 10. O ácido olêico também pode ser designado 18:1(9), sem o Δ. Os ácidos graxos também são classificados pela distância da ligação dupla mais próxima à terminação ω (o grupo metila na terminação mais distante do grupo carboxila). Assim, o ácido olêico é um ácido graxo ω9, e o ácido linolêico é um ácido graxo ω3. O ácido araquidônico, um ácido graxo poliinsaturado com 20 carbonos e 4 ligações duplas, é um ácido graxo ω6 que é completamente descrito como 20:4,$\Delta^{5,8,11,14}$.

As ligações duplas na maioria dos ácidos graxos que ocorrem naturalmente estão na configuração *cis* (Figura 5.19). A designação *cis* significa que os hidrogênios estão no mesmo lado da ligação dupla, e as cadeias acil estão no outro lado. Em ácidos graxos *trans,* as cadeias acil estão no lado oposto à ligação dupla. A margarina e a gordura utilizada para fritar batatas provavelmente são a maior fonte dos ácidos graxos *trans* encontrados em humanos. Ácidos graxos trans são produzidos pela hidrogenação química de ácidos graxos poliinsaturados em óleos vegetais e não são um produto alimentício natural.

C. Acilgliceróis

Um **acil**glicer**ol** compreende glicerol com um ou mais ácidos graxos (o grupo **acila**) ligados por ligação éster (Figura 5.20). Monoacilgliceróis, diacilgliceróis e triacilgliceróis contêm 1, 2 ou 3 ácidos graxos esterificados com glicerol, respectivamente. Os tri**acil**glicer**óis** raramente contêm o mesmo ácido graxo em todas as três posições e são, então, chamados de triacilgliceróis mistos. O glicerol é esterificado no carbono 2 com mais freqüência por ácidos graxos insaturadas. Na configuração tridimensional do glicerol, os carbonos 1 e 3 não são idênticos, e as enzimas são específicas para um ou outro carbono.

D. Fosfoacilgliceróis

Os **fosfoacil**gliceróis contêm ácidos graxos esterificados na posição 1 e 2 do glicerol e um fosfato (sozinho ou com um substituto) ligado ao carbono 3. Se apenas um grupo fosfato está ligado ao carbono 3, o composto é ácido **fosfa**tídico (ver Figura 5.21). O ácido fosfatídico é um precursor para a síntese dos outros fosfoacilgliceróis.

A fosfatidilcol**ina** é um dos maiores fosfatidilgliceróis encontrados em membranas (ver Figura 5.21). A am**ina** é positivamente carregada em pH neutro, e o fosfato é negativamente carregado. Assim, a molécula é anfipática; ela contém grandes regiões polares e apolares. A fosfatidilcolina também é chamada de lecitina. A remoção de um grupo acila graxo de um fosfoacilglicerol forma um lisolipídeo. Por exemplo, a remoção do grupo acila graxo da lecitina forma lisolecitina.

E. Esfingolipídeos

Os esfingolipídeos não têm um esqueleto de glicerol; eles são formados a partir de esfingosina (Figura 5.22). A esfingos**ina** é derivada de ser**ina** e um ácido graxo específico, palmitato. As cer**amidas** são **amidas** formadas a partir de esfingosina pela ligação de um ácido graxo ao grupo amino. Vários esfingolipídeos são, então, formados pela ligação de diferentes grupos ao grupo hidroxila da ceramida. Como refletido nos nomes

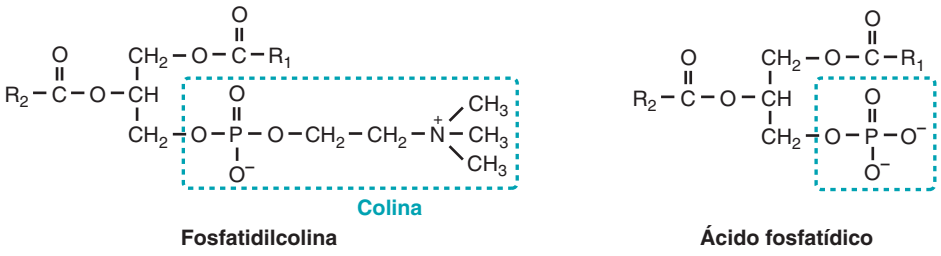


Figura 5.21 Fosfoacilgliceróis. Os fosfolipídeos encontrados nas membranas, como a fosfatidilcolina, têm um grupo polar ligado ao fosfato.

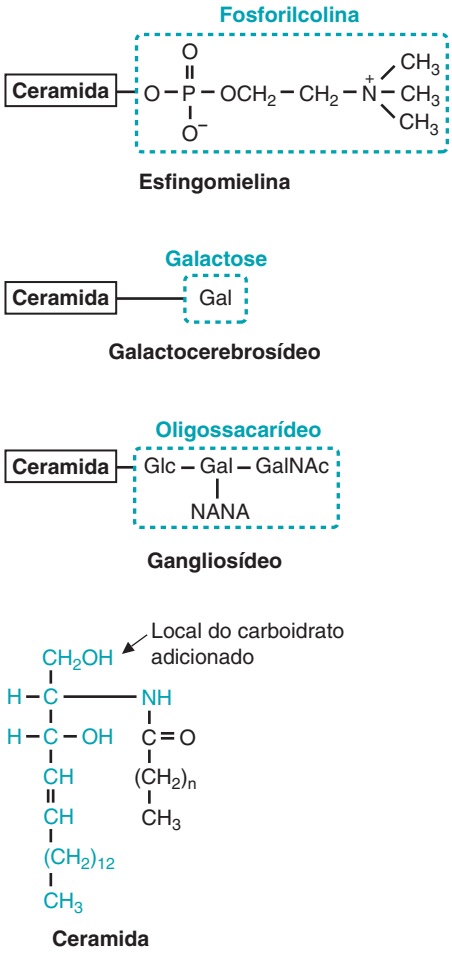


Figura 5.22 Esfingolipídeos, derivados de ceramida. A estrutura da ceramida é mostrada na parte de baixo da figura. A porção ceramida mostrada em azul é a esfingosina. O NH e o OH foram cedidos pela serina. Grupos diferentes são adicionados ao grupo hidroxila da ceramida para formar esfingomielina, galactocerebrosídeos e gangliosídeos. NANA = ácido N-acetilneuramínico, também chamado de ácido siálico; Glc = glicose; Gal = galactose; GalNAc = N-acetilgalactosamina.

dos cerebr**osídeos** e gangli**osídeos**, esses esfingolipídeos contêm carboidratos ligados ao grupo hidroxila da ceramida por ligações glicosídicas. Eles são glicolipídeos (mais especificamente, glicoesfingolipídeos). A esfingomielina, a qual contém um grupo fosforilcolina ligado à ceramida, é um componente das membranas celulares e da bainha de mielina em torno dos neurônios.

F. Esteróides

Os esteróides contêm uma estrutura de quatro anéis chamada de núcleo esteróide (Figura 5.23). O colesterol é o precursor de esteróides nas células humanas a partir do qual todos os hormônios esteróides são sintetizados por modificações no anel ou na cadeia lateral C20. Embora o colesterol não seja muito solúvel em água, ele é convertido em sais biliares anfipáticos solúveis em água, como ácido cólico. Os sais biliares alinham as superfícies das gotas lipídicas, chamadas de micelas, no lúmen do intestino, onde mantêm as gotas emulsificadas no ambiente aquoso.

O colesterol é um dos componentes sintetizados nos humanos a partir de unidades de cinco carbonos ramificados com uma ligação dupla chamadas de unidades isoprênicas (ver Figura 5.1A). As unidades isoprênicas são combinadas em cadeias longas para formar outras estruturas, como as cadeias laterais da coenzima Q em humanos e a vitamina A em plantas.

R: O ácido palmitoléico é um ácido graxo ω7. Ele tem uma ligação dupla entre os carbonos 9 e 10. Assim como o ácido palmítico, ele tem 16 carbonos, dessa forma a ligação dupla deve estar no carbono 7 da extremidade ω.

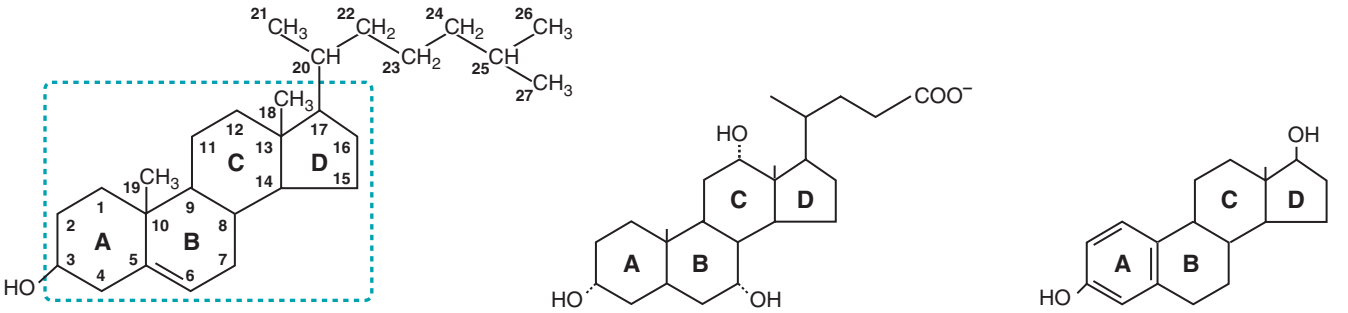


Figura 5.23 Colesterol e seus derivados. O núcleo esteróide é mostrado em azul. O sal biliar, o ácido cólico e o hormônio esteróide 17β-estradiol são derivados do colesterol e contêm a estrutura esteróide em anel.

Q: Que características estruturais importam para as diferenças em solubilidade do colester**ol**, do estradi**ol** e do **ácido** cól**ico** no corpo? (ver Figura 5.23)

IV. COMPOSTOS CONTENDO NITROGÊNIO

O nitrogênio, como descrito na Seção I.B.2, é um átomo eletronegativo com dois elétrons não-compartilhados na sua órbita de valência mais externa. Em pH neutro, o nitrogênio nos grupos amino em geral está ligado a quatro outros átomos e tem carga positiva. Contudo, a presença de átomo de nitrogênio em um composto orgânico aumentará sua solubilidade em água, se o nitrogênio estiver ou não com carga.

A. Aminoácidos

Os aminoácidos são compostos que contêm um grupo amino e um grupo ácido carboxílico. Em proteínas, os aminoácidos são sempre L-α-aminoácidos (o grupo amino está ligado ao carbono α na configuração L) (Figura 5.24). Esses aminoácidos também servem como precursores para compostos contendo nitrogênio no corpo, como a fosfatidilcolina (ver Figura 5.21), e são a base para a maior parte do metabolismo humano de aminoácidos. Contudo, as reações metabólicas ocasionalmente produzem um aminoácido que tem um grupo amino β ou γ, como o neurotransmissor ácido γ-aminobutírico (ver Figura 5.24). Contudo, apenas α-aminoácidos são incorporados a proteínas.

Embora os D-aminoácidos em geral não sejam incorporados a proteínas em seres vivos, eles têm muitas outras funções em bactérias, como a síntese de ligações cruzadas (*cross-links*) na parede celular.

B. Estruturas em Anel Contendo Nitrogênio

1. PURINAS, PIRIMIDINAS E PIRIDINAS

O nitrogênio também é um componente de estruturas em anel referidas como anéis heterocíclicos ou bases nitrogenadas. Os três tipos mais comuns de anéis contendo nitrogênio no corpo são pur**inas** (p. ex., aden**ina**), pirimid**inas** (p. ex., tim**ina**) e pirid**inas** (p.

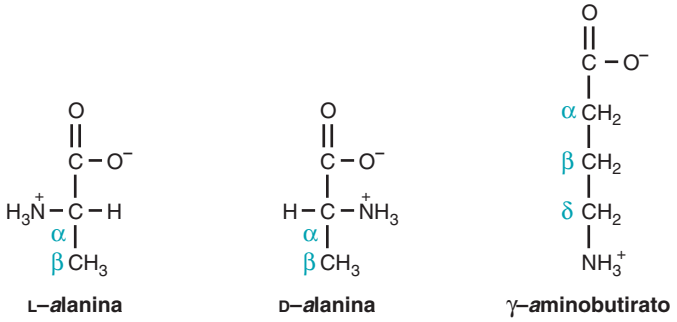


Figura 5.24 A estrutura dos aminoácidos.

ex., as vitaminas ácido nicot**ínico**, também chamadas de niac**ina**, e piridox**ina**, também chamada de vitamina B_6) (Figura 5.25). O sufixo "**ina**" indica a presença de nitrogênio (am**ina**) no anel. A pirimidina uracila é uma exceção a esse tipo geral de nomenclatura. A utilidade dessas estruturas em anel contendo nitrogênio baseia-se na habilidade do nitrogênio em formar pontes de hidrogênio e de aceitar e doar elétrons enquanto ainda é parte do anel. Em contraste, o anel aromático benzeno não-substituído, no qual os elétrons são distribuídos igualmente entre todos os seis carbonos (ver Figura 5.1), é apolar, hidrofóbico e relativamente não-reativo.

2. NUCLEOSÍDEOS E NUCLEOTÍDEOS

As bases nitrogenadas formam nucleosídeos e nucleotídeos. Um nucleosídeo consiste em uma base nitrogenada ligada a um carboidrato, em geral ribose ou desoxirribose, por uma ligação *N*-glicosídica (ver Figura 5. 17). Se grupos fosfato são ligados ao carboidrato, o composto se torna um nucleotídeo. A adição de ribose é indicada no nome do nucleotídeo trifosfato de adenosina (ATP) pela troca do nome de adenina para aden**osina** (para a ligação glic**osídica**). Monofosfato, difosfato ou trifosfato são adicionados ao nome para indicar a presença de 1, 2 ou 3 grupos fosfato no nucleotídeo. As estruturas dos nucleotídeos que servem como precursores de DNA e RNA são discutidas de forma mais detalhada na Seção III do Capítulo 12.

3. TAUTÔMEROS

Em muitos anéis contendo nitrogênio, o hidrogênio pode mudar de posição para produzir um tautômero, um composto no qual o hidrogênio e as ligações duplas mudam de posição (ou seja, –N=C–OH → –NH–C=O) (Figura 5.26). Os tautômeros são considerados o mesmo composto, e a estrutura pode ser representada das duas maneiras. Em geral, uma forma tautomérica é mais reativa do que a outra. Por exemplo, nas formas tautoméricas do ácido úrico, um próton pode se dissociar do enol para produzir urato.

Q: Os compostos que não podem ser oxidados como combustível em humanos com freqüência são excretados na urina. Modificações químicas freqüentemente ocorrem no fígado, nos rins ou em outros tecidos que inativam ou destoxificam as substâncias, tornando-as solúveis em água ou marcadas como moléculas de excreção. O ácido úrico, responsável pela dor de **Lotta Topaigne**, é excretado na urina (ver Figura 5.26). Julgando pela similaridade na estrutura, ele é derivado da degradação de purinas, pirimidinas ou piridinas?

R: O colesterol é composto quase inteiramente de grupos CH_2 e é, portanto, insolúvel em água. O estradiol também é insolúvel em água. Contudo, o ácido cólico contém um grupo carboxila e três grupos hidroxila hidrofílicos. Como mostrado pela linha tracejada, todos os três grupos hidroxila ficam em um lado da molécula, criando, assim, uma superfície hidrofílica.

A gota de **Lotta Topaigne** é causada pela deposição de cristais de urato monossódico na articulação do dedão do pé. Em um pH sangüíneo de 7,4, um próton se dissocia, e todo o ácido úrico está na forma de urato, o qual não é muito solúvel em água e forma cristais de Na^+. Na urina mais ácida gerada pelos rins, a forma acídica (o ácido úrico) pode precipitar para formar cálculos renais.

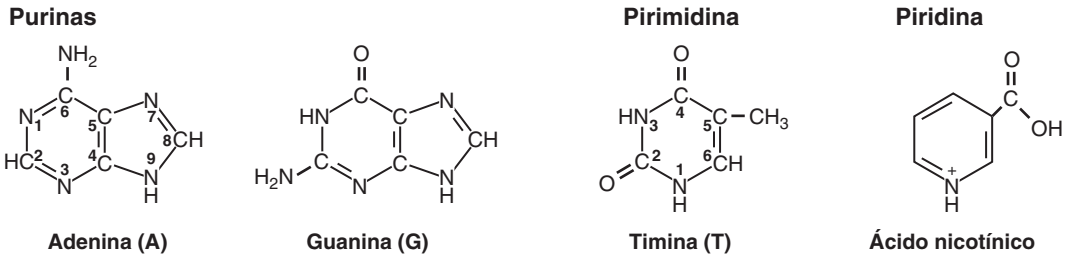


Figura 5.25 As bases nitrogenadas.

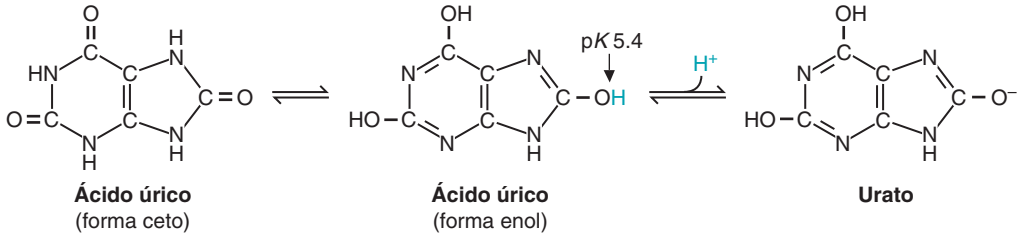


Figura 5.26 Tautômeros de ácido úrico. As formas tautoméricas afetam a reatividade. A forma enol dissocia um próton para formar urato.

Os radicais livres não são apenas reagentes esotéricos; eles são os agentes da morte e destruição celular. Eles estão envolvidos em todos os estados de doenças crônicas (p. ex., doença arterial coronariana, diabetes melito, artrite e enfisema) bem como de lesão aguda (p. ex., radiação, acidentes vasculares cerebrais, infarto do miocárdio e lesão da medula espinal). Por meio de mecanismos de defesa de radicais livres nas células humanas, a lesão atribuída ao processo de envelhecimento "normal" com freqüência pode ser restringida.

R: O ácido úrico contém dois anéis e é similar às purinas adenina e guanina (a adenina é mostrada na Figura 5.25). De fato, ele é o produto da excreção urinária formado pela oxidação dessas duas bases púricas. Ele não é muito solúvel em água, particularmente se o pH estiver próximo ao pK_a de seu grupo OH ácido. Se presente em quantidades excessivas, o urato de Na^+ tende a precipitar nas articulações, causando a dor grave de gota vivenciada pela **Srta. Topaigne**.

O teste do carboidrato redutor. O teste do carboidrato redutor era utilizado para a detecção de carboidrato na urina muito antes de testes enzimáticos específicos para glicose e galactose se tornarem disponíveis. Nesse teste, o grupo aldeído de um carboidrato é oxidado ao doar elétrons para o cobre; o cobre se torna reduzido e produz uma cor azul. Em solução alcalina, cetoglicídeos (p. ex., frutose) também reagem nesse teste, pois formam tautômeros que são aldeídos. As estruturas cíclicas de carboidrato também reagirão, mas apenas se o anel puder ser aberto (ou seja, se não estiver ligado a outro composto por uma ligação glicosídica). Até que um teste específico para frutose se torne disponível, uma doença congênita que resulte na presença de frutose na urina é indicada por um teste do carboidrato redutor positivo e por resultado negativo em ensaios enzimáticos específicos para glicose ou galactose.

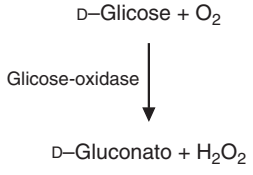


Figura 5.27 Glicose-oxidase.

V. RADICAIS LIVRES

Os radicais são compostos que têm um único elétron, em geral no orbital mais externo. Os radicais livres são radicais que existem de forma independente em solução ou em um ambiente lipídico.

Embora muitas enzimas gerem radicais como intermediários nas reações, esses em geral não são liberados nas células para se tornarem radicais livres.

Muitos desses compostos no corpo são capazes de ser convertidos em radicais livres por eventos naturais, que removem um de seus elétrons, ou por radiação. A radiação, por exemplo, dissocia água no átomo de hidrogênio no radical hidroxila.

$$H_2O \leftrightarrow H\bullet + OH\bullet$$

Em contraste, água normalmente se dissocia em um próton e no íon hidroxila carregado negativamente. O radical hidroxila forma radicais orgânicos retirando um elétron (como H•) de um composto como um lipídeo insaturado de membrana, o qual, então, tem um único elétron não-pareado e é um novo radical.

Os compostos que são radicais podem ser escritos mostrando ou não o radical. Por exemplo, o dióxido de nitrogênio, um radical potente e tóxico presente no ar poluído e na fumaça do cigarro, pode ser chamado na literatura médica e leiga como NO_2 em vez de $NO_2\bullet$. O superóxido, um radical produzido na célula e que é a fonte de muita destruição, é corretamente escrito como ânion superóxido, O_2^-. Contudo, para enfatizar sua natureza de radical livre, o mesmo composto algumas vezes é escrito como $O_2^-\bullet$. Se um composto é chamado de radical na literatura médica, certamente ele é um radical reativo, e sua natureza radical é importante para a patofisiologia em discussão (radicais livres contendo oxigênio e nitrogênio são discutidos em mais detalhes no Capítulo 24).

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Dianne Abietes. A gravidade dos sinais e sintomas clínicos em pacientes com cetoacidose diabética (CAD), como **Di Abietes**, está diretamente correlacionada com a concentração de corpos cetônicos no sangue. Métodos quantitativos diretos para medir acetoacetato e β-hidroxibutirato não se encontram sempre disponíveis. Como resultado, os clínicos em geral baseiam-se em fitas reagentes semiquantitativas (Ketostix, Bayer Diagnostics, Mishawaha, IN) ou pastilhas (Acetest, Bayer Diagnostics, Mishawaha, IN) para avaliar o nível de acetoacetato no sangue e na urina. O nitroprussiato das fitas e das pastilhas reage com o acetoacetato e, em um grau menor, com a acetona (ambos têm grupos cetona), mas não reage com o β-hidroxibutirato (o qual não tem um grupo cetona). O β-hidroxibutirato é o corpo cetônico predominante no sangue de um paciente com CAD, e sua concentração pode diminuir em uma taxa desproporcionalmente rápida comparada com a do acetoacetato e da acetona. Por isso, um teste empregando a reação do nitroprussiato para monitorar o sucesso de terapia em um paciente desses pode ser enganador.

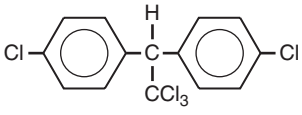
Em contraste à dificuldade de medida de corpos cetônicos, os pacientes diabéticos podem automonitorar os níveis de glicose sangüínea em casa, assim diminuindo bastante o tempo e o custo das várias determinações de glicose sangüínea de que eles necessitam. O sangue obtido de punção de um dedo é colocado sobre uma fita de plástico. A fita é impregnada com enzimas (em geral a enzima bacteriana glicose-oxidase) que especificamente convertem a glicose no sangue em um composto (peróxido de hidrogênio, H_2O_2) que reage com um corante para produzir uma cor (Figura 5.27). A intensidade da cor, a qual é diretamente proporcional à concentração de glicose no sangue do paciente, é lida em um instrumento chamado de monitor de glicose sangüínea.

Lotta Topaigne. A Srta. Topaigne tem artrite gotosa aguda envolvendo o dedão do pé direito. A microscopia de luz polarizada do líquido aspirado do espaço articular mostra cristais de urato monossódico fagocitados por células sangüíneas brancas. A presença de cristais de urato relativamente insolúveis dentro do espaço articular ativa uma cascata inflamatória, levando aos componentes clássicos de inflamação articular (dor, vermelhidão, calor, edema e limitação do movimento articular).

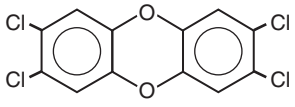
COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Toxinas Ambientais de Hidrocarbonetos Aromáticos Clorados. Como resultado da ação humana, componentes tóxicos contendo anéis de benzeno clorados têm sido amplamente distribuídos no ambiente. O pesticida DDT e a classe de compostos químicos chamada de dioxinas fornecem exemplos de hidrocarbonetos aromáticos clorados e compostos estruturalmente relacionados que são muito hidrofóbicos e pouco biodegradáveis (Figura 5.28). Como conseqüência de sua afinidade e lipossolubilidade, esses compostos químicos são concentrados no tecido adiposo de peixes, de pássaros que se alimentam de peixes e de mamíferos carnívoros, incluindo humanos.

O DDT, um bifenil clorado, foi muito utilizado nos Estados Unidos como herbicida entre 1940 e 1960 (ver Figura 5.28). Embora não tenha sido utilizado nesse país desde 1972, os anéis de benzeno clorados são resistentes à biodegradação, e o solo e a água dos Estados Unidos ainda estão contaminados com pequenas quantidades. O DDT ainda é utilizado em outras partes do mundo. Devido ao fato de essa molécula, altamente lipofílica, ser armazenada na gordura de animais, organismos acumulam progressivamente maiores quantidades de DDT a cada estágio sucessivo da cadeia alimentar. Os pássaros que se alimentam de peixes, um dos organismos no topo da cadeia alimentar, têm diminuído sua população devido ao efeito do DDT sobre a espessura da casca de seus ovos. O DDT não é tão tóxico em humanos, embora exposição por longo período ou exposição a altas doses possa causar sintomas neurológicos reversíveis, efeitos hepatotóxicos ou câncer.



DDT



Clorodibenzo-p-dioxina

Figura 5.28 Toxinas ambientais. O diclorodifenil tricloretano (DDT) é um membro de uma classe de hidrocarbonetos aromáticos que contêm dois anéis de benzeno (fenila) clorados unidos por uma molécula de etano clorada. As clorodibenzo-p-dioxinas (CDDs) são uma classe de mais de 75 hidrocarbonetos clorados relacionados na qual todos contêm uma molécula de dibenzo-p-dioxina (DD), incluindo dois anéis de benzeno ligados por duas pontes de oxigênio em carbonos adjacentes a cada um dos anéis benzênicos. 2,3,7,8 tetraclorodibenzo-p-dioxina, mostrada acima, é uma das mais tóxicas e mais extensivamente estudadas. Os dibenzofuranos clorados (CDFs) são estrutural e toxicologicamente relacionados.

A maior parte deste capítulo lidou com os nomes e as estruturas de compostos que são nutrientes para os humanos ou metabólitos que podem ser produzidos a partir de reações no corpo humano. Contudo, a saúde também é afetada por compostos xenobióticos que ocorrem naturalmente e compostos xenobióticos produzidos pelo homem (compostos que não têm valor nutricional e que não são produzidos nos humanos) que são ingeridos ou absorvidos através da pele. O DDT e as dioxinas fornecem exemplos de hidrocarbonetos aromáticos clorados, uma classe importante de compostos químicos feitos pelo homem presentes no ambiente.

O acúmulo de DDT no tecido adiposo pode ter ação de proteção nos humanos, pois diminui a quantidade de DDT disponível para passar através das membranas lipídicas apolares e chegar aos neurônios do cérebro, ou passar através das membranas placentárias e chegar ao feto. Eventualmente, o DDT é convertido em metabólitos mais polares que são excretados na urina. Contudo, alguns podem passar com os lipídeos para o leite materno de mães amamentando.

A maior parte do que é conhecido sobre a toxicidade de dioxinas nos humanos origina-se de indivíduos expostos acidental ou cronicamente a níveis mais altos (p. ex., acidentes industriais ou presença em áreas pulverizadas com o "Agente Laranja" ou outros herbicidas contaminados com dioxinas). Os efeitos de doses mais baixas provavelmente estão associados a atrofia de timo e resposta imune diminuída, cloracne e lesões de pele relacionadas e neoplasia (câncer). As dioxinas podem cruzar a placenta e causar efeitos de desenvolvimento e reprodutivo, crescimento pré-natal diminuído e mortalidade pré-natal.

As dioxinas, especificamente dibenzo-p-dioxinas cloradas (CDDs), constituem outra classe de toxinas ambientais que atualmente são de grande preocupação (ver Figura 5.28). Elas têm sido medidas em um nível chamado de basal no sangue, no tecido adiposo e no leite materno de todos os humanos testados. As CDDs são formadas como um bioproduto durante a produção de outros compostos clorados e herbicidas, e pelo processo de branqueamento clorado em fábricas de papel. Elas são liberadas durante a incineração de lixo industrial, municipal e doméstico e durante a combustão de combustíveis fósseis e são encontradas na fumaça do cigarro e na exaustão dos combustíveis gasolina e diesel. Elas também são formadas pela combustão de matéria orgânica durante incêndios florestais. Elas entram na atmosfera como partículas de matéria, são vaporizadas e podem se espalhar por grandes distâncias e entrar no solo e na água.

No topo da cadeia alimentar, os humanos adquirem os níveis de dioxinas principalmente pelo consumo de alimentos, em especial carne, produtos lácteos e peixes. Uma vez no corpo humano, as dioxinas são armazenadas no tecido adiposo e têm uma meia-vida de aproximadamente 5 a 15 anos. Elas não são reativas, são pouco degradadas e não são prontamente convertidas em compostos solúveis em água que podem ser excretados na urina. Elas são lentamente excretadas na bile e nas fezes e, junto com os lipídeos, passam para o leite materno de mães amamentando.

Leituras Sugeridas

Nomenclatura de compostos químicos. A maioria dos livros-texto para graduação fornece detalhes sobre a nomenclatura utilizada para moléculas orgânicas, incluindo a nomenclatura R,S para centros quirais.

Toxinas ambientais. Boas revisões da literatura são publicadas pelo U.S. Department of Health and Human Services: Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry, incluindo: Toxicological Profile for Chlorinated Dibenzo-p-dioxins, 1998, and the Toxicological Profile for 4,4'-DDT, 4,4'-DDE, 4,4'-DDD (Update), 1994.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 5

Orientação: selecione uma única resposta para cada questão a seguir. Fundamente suas respostas no seu conhecimento sobre nomenclatura. Você não precisa reconhecer qualquer das estruturas mostradas para responder as questões.

1. Qual das seguintes é uma característica universal dos compostos solúveis em água?

   (A) Eles são compostos por átomos de carbono e hidrogênio.
   (B) Eles devem conter um grupo que tenha uma carga negativa completa.
   (C) Eles devem conter um grupo que tenha uma carga positiva completa.
   (D) Eles contêm grupos polares que podem formar pontes de hidrogênio com a água.
   (E) Eles contêm grupos aromáticos.

2. $CH_2OH\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}COO^-$

   Uma paciente foi admitida na emergência do hospital em coma. Os testes laboratoriais encontraram em seu sangue altos níveis do composto mostrado acima. Com base na estrutura (e em seu conhecimento sobre a nomenclatura de grupos funcionais), você identifica o composto como

   (A) metanol (álcool da madeira).
   (B) etanol (álcool).
   (C) etilenoglicol (anticongelante).
   (D) β-hidroxibutirato (um corpo cetônico).
   (E) γ-hidroxibutirato (a droga ecstasy).

3. Um paciente foi diagnosticado com uma deficiência da enzima lisossômica α-glicosidase. O nome da enzima deficiente sugere que ela hidrolisa uma ligação glicosídica, a qual é uma ligação formada

   (A) por múltiplas pontes de hidrogênio entre duas moléculas de carboidrato.
   (B) entre o carbono anomérico de um carboidrato com um O-H (ou N) de outra molécula.
   (C) entre dois carbonos anoméricos em polissacarídeos.
   (D) internamente entre o carbono anomérico de um monossacarídeo e seu próprio carbono hidroxila 5.

(E) entre o carbono contendo o grupo aldol ou ceto e o carbono α.

4. Um paciente foi diagnosticado com hipertrigliceridemia. Essa condição recebe esse nome devido aos altos níveis sangüíneos de lipídeos compostos por

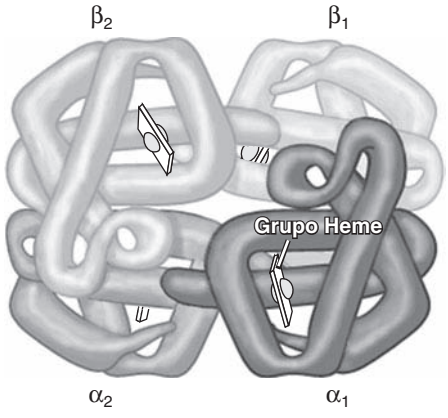
(A) 3 grupos acila de ácidos graxos ligados a um esqueleto de glicerol.
(B) um lipídeo glicerol contendo um grupo fosforilcolina.
(C) um esfingolipídeo contendo três grupos de ácidos graxos.
(D) três partes de glicerol ligadas a um ácido graxo.
(E) três partes de gliceraldeído ligadas a um ácido graxo.

5. Um paciente foi diagnosticado com esfingolipidoses, as quais são doenças congênitas envolvendo a habilidade de degradar esfingolipídeos. Todos os esfingolipídeos têm em comum

(A) um esqueleto de glicerol.
(B) ceramida.
(C) fosforilcolina.
(D) ácido N-acetilneuramínico (NANA).
(E) uma estrutura esteróide em anel à qual a esfingosina está ligada.

6 Aminoácidos em Proteínas

O código genético é a seqüência de três bases (nucleotídeos) no DNA, contendo a informação para a seqüência linear de aminoácidos em uma cadeia polipeptídica (sua estrutura primária). Um gene é a porção de DNA que codifica um produto funcional, como uma cadeia polipeptídica. As mutações, as quais são alterações nos nucleotídeos em um gene, resultam na alteração nos produtos daquele gene que pode ser herdado. Por exemplo, a anemia falciforme, uma doença geneticamente herdada, é causada por uma mutação no gene codificando uma das subunidades da hemoglobina. A hemoglobina é a proteína presente nas células vermelhas que se liga de forma reversível a O_2 e o transporta para os tecidos. A proteína hemoglobina do adulto é constituída de quatro cadeias polipeptídicas, 2α e 2β. As subunidades α e β diferem na estrutura primária (ou seja, elas têm diferentes seqüências de aminoácidos e são codificadas por genes diferentes). A anemia falciforme é causada por uma mutação no DNA que altera apenas um aminoácido nas cadeias β da hemoglobina de ácido glutâmico para uma valina.



As proteínas têm muitas funções no corpo. Elas servem como transportadores de compostos hidrofóbicos no sangue, como moléculas de adesão celular que ligam as células umas às outras e à matriz celular, como hormônios que carregam sinais de um grupo de células para outro, como canais iônicos através de membranas lipídicas e como enzimas que aumentam a taxa das reações bioquímicas. As características próprias de uma proteína são determinadas por sua seqüência linear de aminoácidos, denominada estrutura primária. A estrutura primária de uma proteína determina como ela se dobra e como ela interage com outras moléculas na célula e realiza sua função. As estruturas primárias de todas as diferentes proteínas humanas são sintetizadas a partir de 20 aminoácidos dispostos em uma seqüência linear determinada pelo código genético.

Propriedades gerais dos aminoácidos. *Cada um dos aminoácidos utilizados para a síntese de proteínas tem a mesma estrutura geral (Figura 6.1). Ele contém um* ***grupo ácido carboxílico****, um* ***grupo amino*** *ligado ao* ***carbono α*** *em uma* ***configuração L****, um* ***átomo de hidrogênio*** *e um grupo químico chamado de* ***cadeia lateral*** *que é diferente para cada aminoácido. Em solução, os aminoácidos livres existem como* ***zwitterions****, íons nos quais o grupo amino está positivamente carregado e o grupo carboxílico está negativamente carregado. Em proteínas, esses aminoácidos estão ligados em um polímero linear chamado de* ***cadeia polipeptídica*** *por* ***ligações peptídicas*** *entre o grupo ácido carboxílico de um aminoácido e o grupo amino do aminoácido seguinte.*

Classificação dos aminoácidos de acordo com as propriedades químicas da cadeia lateral*. As propriedades químicas da cadeia lateral determinam os tipos de ligações e interações que cada aminoácido em uma cadeia polipeptídica pode fazer com outras moléculas. Assim, os aminoácidos com freqüência são agrupados pela polaridade da cadeia lateral (****carregado, hidrofóbico apolar*** *ou* ***não-carregado polar****) ou por características estruturais (****alifático****,* ***cíclico*** *ou* ***aromático****). As cadeias laterais dos aminoácidos* ***hidrofóbicos apolares*** *(alanina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina e metionina) se agrupam para excluir água no* ***efeito hidrofóbico****. Os aminoácidos* ***polares não-carregados*** *(serina, treonina, tirosina, asparagina e glutamina) participam em* ***pontes de hidrogênio****. A cisteína, a qual contém um grupo sulfidrila, forma* ***pontes dissulfeto****. Os aminoácidos* ***ácidos*** *negativamente carregados (aspartato e glutamato) formam* ***ligações iônicas (eletrostáticas)*** *com moléculas positivamente carregadas, como os aminoácidos* ***básicos*** *(lisina, arginina e histidina). A carga de um aminoácido em um certo pH é determinada pelo* pK_a *de cada grupo que tem um próton dissociável.*

Substituição de aminoácidos na estrutura primária*. Mutações no código genético resultam em proteínas com uma* ***estrutura primária*** *alterada. Mutações resultando em substituições de um único aminoácido podem afetar o funcionamento de uma proteína ou podem conferir uma vantagem específica para um tecido ou para um grupo de circunstâncias. Muitas proteínas, como a* ***hemoglobina,*** *existem na população humana como* ***polimorfismos*** *(variações geneticamente determinadas na estrutura primária).*

No mesmo indivíduo, a estrutura primária de muitas proteínas varia com o estágio de desenvolvimento e está presente nas ***isoformas fetal*** *e* ***adulta****, como a hemoglobina fetal e adulta. A estrutura primária de algumas proteínas, como a* ***creatina-quinase****, pode também variar entre os tecidos (****isoenzimas tecido-específicas****) ou*

entre as localizações intracelulares no mesmo tecido. A ***separação eletroforética*** *de isoenzimas tecido-específicas tem sido útil em medicina como uma maneira de identificar locais de lesão.*

Aminoácidos modificados*. Além dos aminoácidos codificados pelo DNA que formam a estrutura primária de proteínas, muitas proteínas contêm aminoácidos específicos que foram modificados por* ***fosforilação oxidação carboxilação*** *ou outras reações. Quando essas reações são catalisadas por enzimas, elas são chamadas de* ***modificações pós-tradução****.*

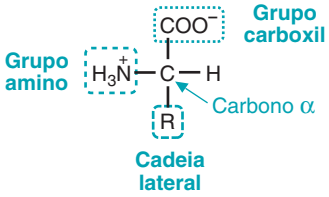


Figura 6.1 Estrutura geral dos aminoácidos encontrados em proteínas.

SALA DE ESPERA

Will Sichel é um rapaz de 17 anos que chegou à emergência do hospital com dor grave na região lombar, no abdômen e nas pernas que iniciou após dois dias de náusea e vômitos causados por gastrenterite. Ele teve o diagnóstico de anemia falciforme aos 3 anos e foi internado no hospital em várias ocasiões por crises falciformes vaso-oclusivas. Na admissão, o nível de hemoglobina no sangue periférico do paciente era de 7,8 g/dL (valores de referência = 12 a 16 g/dL). O hematócrito ou o volume de células (a porcentagem do volume de sangue total que é composta por células vermelhas) era de 23,4% (valores de referência = 41 a 53%). O nível de bilirrubina sérica total (um pigmento derivado da degradação da hemoglobina) era de 2,3 mg/dL (valores de referência = 0,2 a 1,0 mg/dL). Um raio X do abdômen mostrou cálculos radiopacos na vesícula biliar. Com hemólise crônica (destruição de células vermelhas), a quantidade de heme degradado a bilirrubina está aumentada. Esses cálculos são o resultado da excreção crônica de quantidades excessivas de bilirrubina pelo fígado para a bile, levando à deposição de cristais de bilirrubinato no lúmen da vesícula biliar.

Cal Kulis é um rapaz de 18 anos que foi levado ao hospital pela mãe devido ao início de dor grave no flanco esquerdo irradiando para a região púbica. A urina era de cor vermelho-marrom, e sua análise apresentou muitas células vermelhas. Quando a urina foi acidificada com ácido acético, agrupamentos de cristais hexagonais transparentes de cistina foram observados. Um raio X do abdômen mostrou cálculos radiopacos (pedras) em ambos os rins. Não havia história familiar de cálculos renais.

O termo cálculo é utilizado para descrever qualquer deposição anormal de sais minerais. Esses quase sempre se formam dentro da cavidade de um órgão oco, como o rim (cálculos renais) ou o lúmen de um ducto (p. ex., cálculos do ducto hepático comum).

Di Abietes, que tem diabetes melito tipo I, recebeu injeções subcutâneas de insulina regular NPH bovina duas vezes ao dia após o diagnóstico da doença (ver Capítulos 4 e 5). Subseqüentemente, seu médico trocou para insulina sintética humana. Nessa visita, o médico trocou a terapia com insulina e prescreveu Humalog mix 75/25 (Eli Lilly, Indianapolis, IN), uma mistura de Humalog em suspensão de protamina e insulina Humalog não-ligada (25%).

Ann Jeina é uma mulher de 54 anos que tem 1,70 m e pesa 89,81 kg. Ela tem uma história de pressão sangüínea alta e nível sérico de colesterol elevado. Após uma discussão com uma vizinha, a Sra. Jeina sentiu um "aperto como uma pressão e dor" no peito, associado a falta de ar, suor e tontura.

Após cinco horas de dor torácica intermitente, ela foi à emergência do hospital. Seu eletrocardiograma mostrou alterações consistentes com um infarto agudo da parede cardíaca anterior do coração. Ela foi internada na unidade de cuidados cardíacos. Uma amostra de sangue foi enviada para o laboratório para vários testes, incluindo nível de creatinina-quinase (CK, do inglês *creatine kinase*) total e da fração MB (músculo-cérebro) da CK no sangue.

O termo angina descreve uma dor em aperto ou compressiva. O termo *angina pectoris* é utilizado quando a dor está localizada no centro do peito, com freqüência irradiando para o pescoço ou os braços. O mecanismo mais comum para o último sintoma é um suprimento diminuído de oxigênio para o músculo cardíaco causado por doença arterial coronariana aterosclerótica, a qual resulta em obstrução dos vasos que suprem o músculo cardíaco de sangue arterial.

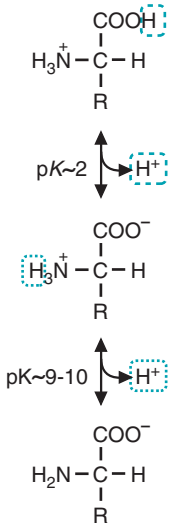


Figura 6.2 Dissociação dos grupos α-carboxila e α-amino dos aminoácidos. Em pH fisiológico (~7), predomina uma forma na qual ambos os grupos α-carboxila e α-amino estão carregados. Alguns aminoácidos também têm grupos ionizáveis nas suas cadeias laterais.



A estereoespecificidade L com freqüência é incorporada aos nomes dos fármacos derivados de aminoácidos como "L" ou "levo", a partir da direção para a qual os aminoácidos L desviam a luz polarizada. Por exemplo, os pacientes com doença de Parkinson são tratados com L-DOPA (um derivado do aminoácido L-tirosina), e os pacientes com hipotireoidismo são tratados com levotiroxina (um derivado diferente de L-tirosina).

I. ESTRUTURA GERAL DOS AMINOÁCIDOS

Vinte aminoácidos diferentes comumente são encontrados em proteínas. Todos são α-aminoácidos nos quais o grupo amino está ligado ao carbono α (o átomo de carbono próximo ao grupo carboxilato) (ver Figura 6.1). O carbono α tem dois substituintes adicionais chamados de cadeias laterais (-R). A cadeia lateral é diferente para cada aminoácido.

Em um pH fisiológico de 7,4, o grupo amino desses aminoácidos tem uma carga positiva, e o grupo carboxílico está negativamente carregado (Figura 6.2). O pK_a dos grupos carboxílicos primários de todos os aminoácidos é de cerca de 2 (1,8 a 2,4). Em valores de pH muito mais baixos do que o pK_a (concentrações maiores do íon hidrogênio), todos os grupos carboxílicos estão protonados. No pK_a, 50% das moléculas estão dissociadas em ânions carboxilato e prótons, e em um pH de 7,4, mais do que 99% das moléculas estão dissociadas (ver Capítulo 4). O pK_a de todos os grupos α-amino é de aproximadamente 9,5 (8,8 a 11,0), de tal modo que em pH mais baixo do que 7,4, a maioria dos grupos amino está totalmente protonada e tem carga positiva. A forma de um aminoácido que tem tanto uma carga positiva quanto negativa é chamada de *zwitterion*. Devido ao fato de esses grupos químicos carregados poderem formar pontes de hidrogênio com moléculas de água, todos esses aminoácidos são hidrossolúveis em pH fisiológico.

Em todos os aminoácidos, com exceção da glicina, o carbono α é um carbono assimétrico que tem quatro substituintes diferentes e pode existir em uma configuração L ou D (Figura 6.3). Os aminoácidos nas proteínas dos mamíferos são todos L-aminoácidos representados com o grupo amino para a esquerda, se o grupo carboxila está no topo das estruturas. Esses mesmos aminoácidos servem como precursores de compostos nitrogenados sintetizados no corpo. Dessa forma, o metabolismo de aminoácidos em humanos também é centrado em L-aminoácidos. O aminoácido glicina não é D ou L, pois o carbono α contém dois átomos de hidrogênio.

As propriedades químicas dos aminoácidos conferem a cada proteína suas características próprias. As proteínas são compostas de uma ou mais cadeias polipeptídicas lineares contendo centenas de aminoácidos. A seqüência de aminoácidos, chamada de

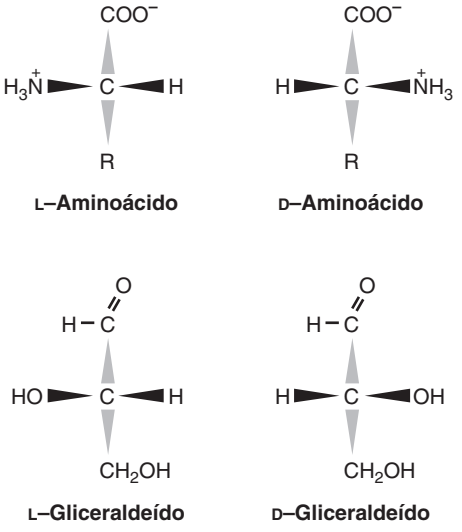


Figura 6.3 L– e D-aminoácidos. As formas L são as únicas encontradas em proteínas humanas. As ligações saindo do papel são mostradas em setas pretas; aquelas entrando no papel, em setas sombreadas. Os grupos α-amino e os átomos de H vêm em direção ao leitor, e o α-carboxila e as cadeias laterais se afastam. As formas L e D são imagens em espelho que não podem ser sobrepostas pela rotação da molécula. A referência para as formas L e D são os estereoisômeros do gliceraldeído.

estrutura primária, é determinada pelo código genético para as proteínas. Nas cadeias polipeptídicas, os aminoácidos são ligados por ligações peptídicas entre o grupo carboxílico de um aminoácido e o grupo amino do aminoácido adjacente (Figura 6.4). Assim, o grupo amino, o carbono α e os grupos carboxílicos formam o esqueleto peptídico, e as cadeias laterais dos aminoácidos se estendem para fora desse esqueleto. As cadeias laterais interagem com o esqueleto peptídico de outras regiões da cadeia ou com as cadeias laterais de outros aminoácidos na proteína para formar regiões hidrofóbicas, ligações eletrostáticas, pontes de hidrogênio ou pontes dissulfeto. Essas interações determinam o padrão de dobramento da molécula. O dobramento tridimensional da proteína forma regiões distintas chamadas de sítios de ligação, que são alinhados com as cadeias laterais de aminoácidos que interagem especificamente com outra molécula chamada de ligante (como o heme na hemoglobina). Assim, as propriedades químicas das cadeias laterais determinam como a proteína se dobra, como se liga a ligantes específicos e como interage com seu ambiente (como o meio aquoso do citoplasma).

Os nomes dos diferentes aminoácidos recebem abreviaturas de três letras e de uma letra (Tabela 6.1). As abreviaturas de três letras utilizam as duas primeiras letras do nome mais a terceira letra do nome ou a letra de um som característico, como trp para triptofano. As abreviaturas de uma letra utilizam a primeira letra do nome dos aminoácidos mais freqüentes nas proteínas (como "A" para alanina). Se a primeira letra já foi designada, a letra ou o som característico é utilizado (como "R" para arginina). As abreviaturas com uma única letra em geral são utilizadas para denominar os aminoácidos em uma seqüência polipeptídica.

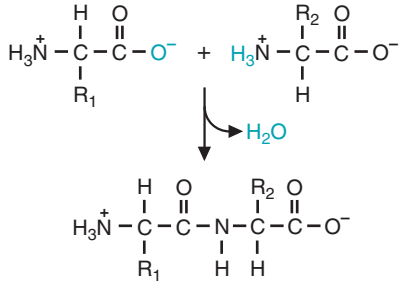


Figura 6.4 Ligações peptídicas. Os aminoácidos em uma cadeia polipeptídica são unidos por ligações peptídicas entre o grupo carboxila de um aminoácido e o grupo amino do próximo aminoácido na seqüência.



De acordo com alguns bioquímicos, "W" indica o som característico de "triptofano" (ver Tabela 6.1).

II. CLASSIFICAÇÃO DAS CADEIAS LATERAIS DOS AMINOÁCIDOS

Na Figura 6.5, os 20 aminoácidos utilizados para a síntese de proteínas estão agrupados em diferentes classificações de acordo com as características de polaridade e estruturais das cadeias laterais. Esses agrupamentos podem ser úteis para descrever funções ou vias metabólicas dos aminoácidos. Contudo, algumas cadeias laterais dos aminoácidos se encaixam em classificações diferentes e, assim, são agrupadas de forma diferente em cada livro-texto. Duas das características da cadeia lateral que são úteis para a classificação são seu pK_a e seu índice hidropático, mostrado na Tabela 6.2. O índice hidropático é um escala utilizada para indicar a hidrofobicidade da cadeia lateral; quanto mais positivo o índice hidropático, tanto maior a tendência de se agrupar com outras moléculas apolares e excluir água em efeito hidrofóbico. Quanto mais negativo o índice de hidropático de um aminoácido, tanto mais hidrofílica é sua cadeia lateral.

Tabela 6.1 Abreviaturas dos Aminoácidos

Nome	Abreviaturas*	
	Três Letras	Uma Letra
Alanina	Ala	A
Arginina	Arg	R
Asparagina	Asn	N
Aspartato	Asp	D
Cisteína	Cys	C
Glutamato	Glu	E
Glutamina	Gln	Q
Glicina	Gly	G
Histidina	His	H
Isoleucina	Ile	I
Leucina	Leu	L
Lisina	Lys	K
Metionina	Met	M
Fenilalanina	Phe	F
Prolina	Pro	P
Serina	Ser	S
Treonina	Thr	T
Triptofano	Trp	W
Tirosina	Tyr	Y
Valina	Val	V

* As abreviaturas de três letras em geral são mais utilizadas. As abreviaturas de uma letra são utilizadas principalmente para listar as seqüências de aminoácidos de cadeias protéicas longas.

A. Aminoácidos Alifáticos, Apolares

A glicina é o aminoácido mais simples e não se encaixa bem em nenhuma classificação devido ao fato de sua cadeia lateral ser apenas um átomo de hidrogênio. A alanina e os aminoácidos de cadeia ramificada (valina, leucina e isoleucina) têm cadeias laterais pesadas apolares e alifáticas. O alto grau de hidrofobicidade das cadeias laterais dos aminoácidos de cadeia ramificada é indicado por seu alto índice hidropático (ver Tabela 6.2). Os elétrons são compartilhados igualmente entre os átomos de carbono e de hidrogênio nessas cadeias laterais, de tal modo que não podem se ligar com a água por pontes de hidrogênio. Dentro das proteínas, essas cadeias laterais desses resíduos de aminoácidos irão se agrupar para formar núcleos hidrofóbicos. Sua associação também é promovida pelas forças de van der Waals entre os núcleos carregados positivamente de um átomo e a nuvem de elétrons de outro. Essa força é efetiva em distâncias curtas, quando muitos átomos estão juntos, como se estivessem "empacotados".

Os papéis de prolina e glicina na estrutura dos aminoácidos diferem daqueles dos aminoácidos apolares. O aminoácido prolina contém um anel envolvendo seu carbono α e seu grupo α-amino, os quais são parte do esqueleto peptídico. Esse anel rígido



A enzima digestiva proteolítica quimotripsina quebra as ligações peptídicas formadas pelos grupos carboxila de aminoácidos grandes, pesados, sem carga. Quais aminoácidos se encaixam nessa categoria?

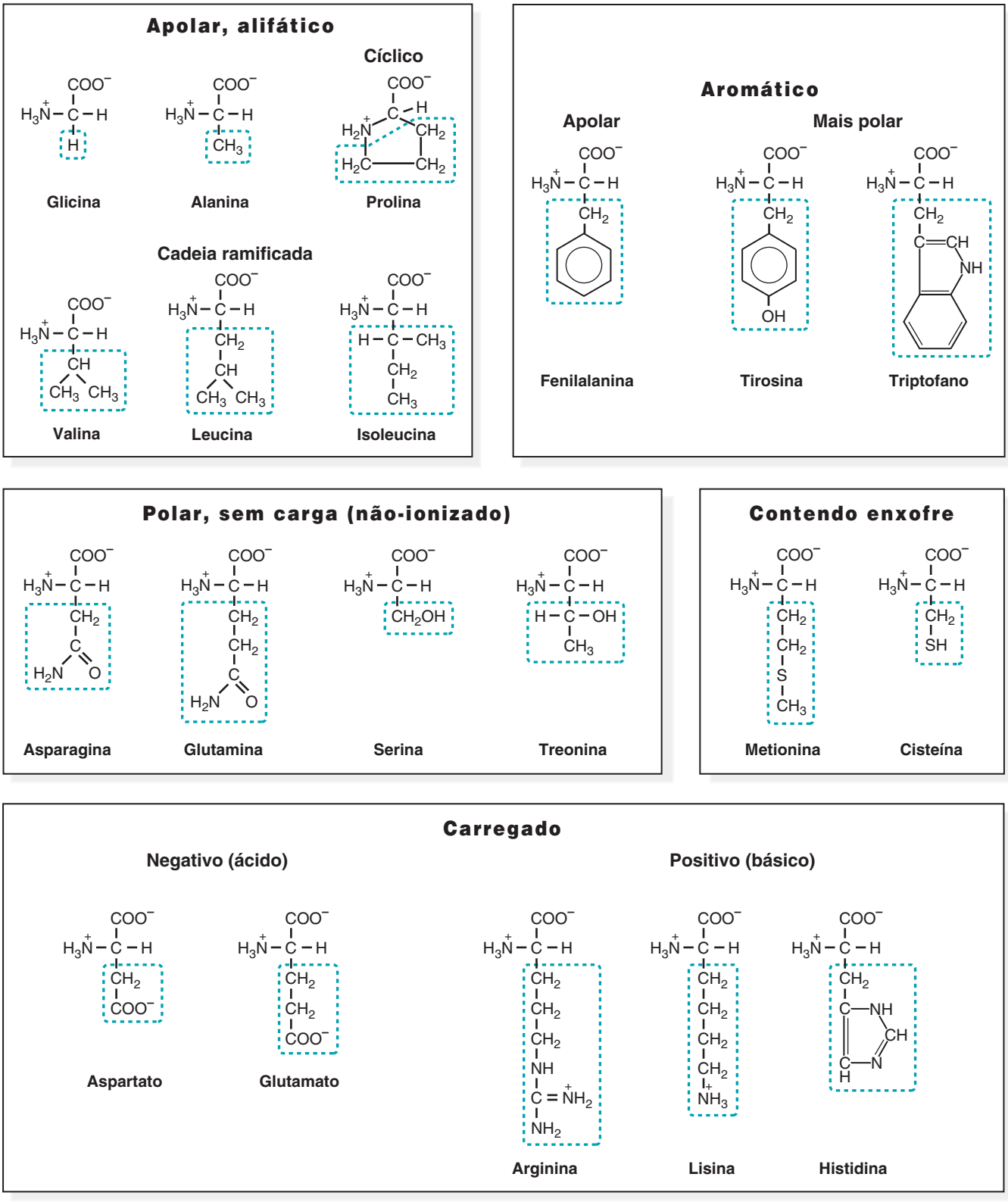


Figura 6.5 As cadeias laterais dos aminoácidos. As cadeias laterais estão destacadas. Os aminoácidos são agrupados por polaridade e características estruturais de suas cadeias laterais. Contudo, esses agrupamentos não são absolutos. Tirosina e triptofano, freqüentemente listados como aminoácidos apolares, são mais polares do que outros aminoácidos aromáticos devido aos seus anéis fenólico e indólico, respectivamente.

Tabela 6.2 Propriedade dos Aminoácidos Comuns

Aminoácido	pK_{a1}* (carboxila)	pK_{a2} (amino)	pK_{aR} (grupo R)	Índice de hidropatia **
Apolar alifático				
Glicina	2,4	9,8		–0,4
Prolina	2,0	11,0		–1,6
Alanina	2,3	9,7		1,8
Leucina	2,4	9,6		3,8
Valina	2,3	9,6		4,2
Isoleucina	2,4	9,7		4,5
Aromático				
Fenilalanina	1,8	9,1		2,8
Tirosina	2,2	9,1	10,5	–1,3
Triptofano	2,4	9,4		–0,9
Polar sem carga (não-ionizado)				
Treonina	2,1	9,6	13,6	–0,7
Serina	2,2	9,2	13,6	–0,8
Aspargina	2,0	8,8		–3,5
Glutamina	2,2	9,1		–3,5
Contendo enxofre				
Cisteína	2,0	10,3	8,4	2,5
Metionina	2,3	9,2		1,9
Carregado negativamente				
Aspartato	1,9	9,6	3,9	–3,5
Glutamato	2,2	9,7	4,1	–3,5
Carregado positivamente				
Histidina	1,8	9,3	6,0	–3,2
Lisina	2,2	9,0	10,5	–3,9
Arginina	2,2	9,0	12,5	–4,5
Média	2,2	9,5		

*Quando esses aminoácidos estão em proteínas, o pK_a para as cadeias laterais pode variar em relação ao valor para o aminoácido livre, dependendo do local do aminoácido na estrutura tridimensional da proteína.
**O índice hidropático é uma medida da hidrofobicidade do aminoácido (quanto maior o número, maior a hidrofobicidade). Valores com base em Kyte J, Doolittle RF. J Mol Biol 1982;157:105B132.

causa uma dobra no esqueleto peptídico que o impede de formar sua configuração usual. Devido ao fato de a cadeia lateral da glicina ser tão pequena comparada com a de outros aminoácidos, ela causa o menor impedimento estérico em uma proteína (ou seja, esse aminoácido não tem um efeito significante sobre o espaço ocupado por outros átomos ou grupos químicos). Assim, a glicina com freqüência é encontrada em dobras ou nas cadeias estreitamente empacotadas de proteínas fibrosas.

B. Aminoácidos Aromáticos

Os aminoácidos aromáticos foram agrupados juntos, pois eles todos contêm estruturas em anel com propriedades similares, mas suas polaridades diferem muito. O anel aromático é um anel de carbono-hidrogênio com seis elementos com três ligações duplas conjugadas (o anel benzeno ou o grupo fenila). Os substitutos desse anel determinam se a cadeia lateral do aminoácido se envolve em interações polares ou hidrofóbicas. No aminoácido fenilalanina, o anel não contém substitutos, e os elétrons são igualmente compartilhados entre os carbonos no anel, resultando em uma estrutura muito apolar e hidrofóbica, na qual os anéis podem se empilhar uns sobre os outros (Figura 6.6). Na tirosina, um grupo hidroxila no anel fenil forma pontes de hidrogênio, e, assim, a cadeia lateral é mais polar e mais hidrofílica. A estrutura em anel mais complexa no triptofano é um anel indol com um nitrogênio que pode formar pontes de hidrogênio. O triptofano é, portanto, mais polar do que a fenilalanina.

C. Aminoácidos Alifáticos, Polares, Sem Carga (Não-ionizados)

Os aminoácidos com cadeias laterais que contêm um grupo amida (asparagina e glutamina) ou um grupo hidroxila (serina e treonina) podem ser classificados como aminoácidos alifáticos, polares, sem carga. Asparagina e glutamina são amidas dos aminoá-

R: A maior atividade da quimotripsina é em ligações peptídicas formadas pelos grupos carboxila de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina, triptofano). As cadeias laterais desses aminoácidos são todas grandes e sem carga. Uma das isoenzimas da quimotripsina também exibe atividade para leucina e metionina, as quais são similares em polaridade.

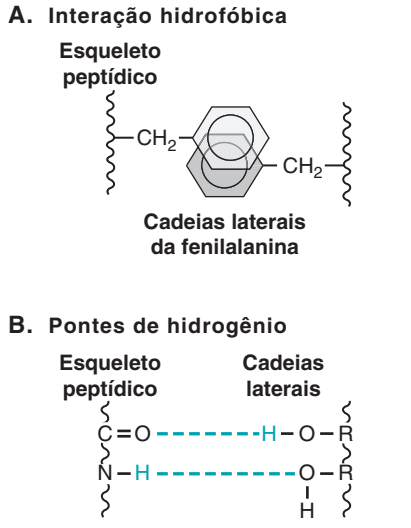


Figura 6.6 Ligações hidrofóbicas e pontes de hidrogênio. **A.** Interações hidrofóbicas fortes ocorrem com o empilhamento de grupos aromáticos nas cadeias laterais da fenilalanina. **B.** Exemplos de pontes de hidrogênio nas quais um átomo de hidrogênio é compartilhado por um nitrogênio no esqueleto peptídico e um átomo de oxigênio em uma cadeia lateral de um aminoácido ou entre um oxigênio no esqueleto peptídico e um oxigênio na cadeia lateral de um aminoácido.

Cal Kulis eliminou um cálculo renal logo após sua internação, com alívio imediato da dor no flanco. A análise do cálculo mostrou que o maior componente era cistina. Normalmente, os aminoácidos são filtrados pelos capilares glomerulares renais para a urina tubular, mas são quase inteiramente absorvidos desse líquido de volta para o sangue por proteínas transportadoras nas células tubulares proximais dos rins. Cal Kulis tem cistinúria, uma substituição de aminoácido na proteína transportadora geneticamente herdada, que normalmente reabsorve cistina, arginina e lisina do lúmen renal de volta para as células tubulares renais. Portanto, sua urina contém grandes quantidades desses aminoácidos. A cistina, a qual é menos solúvel do que os outros aminoácidos, precipita na urina para formar cálculos renais.

Will Sichel tem anemia falciforme causada por um ponto de mutação no DNA que troca o sexto aminoácido na cadeia β-globina da hemoglobina de glutamato para valina. Que diferença poderia ser encontrada nas ligações químicas formadas por esses dois aminoácidos?

cidos aspartato e glutamina. Os grupos hidroxila e os grupos amida nas cadeias laterais permitem a esses aminoácidos formar pontes de hidrogênio com a água, um com o outro e com o esqueleto peptídico, ou com outros compostos nos sítios de ligação das proteínas (ver Figura 6.6). Como conseqüência de suas hidrofobicidades, esses aminoácidos com freqüência são encontrados na superfície de proteínas globulares hidrossolúveis. A cisteína, a qual algumas vezes é incluída nessa classe de aminoácidos, tem sido separada na classe de aminoácidos que contém enxofre.

D. Aminoácidos Contendo Enxofre

A cisteína e a metionina contêm enxofre. A cadeia lateral da cisteína contém um grupo sulfidrila que tem um pK_a de cerca de 8,4 para dissociação de seu hidrogênio, de tal modo que a cisteína está predominantemente não-dissociada e sem carga em pH fisiológico de 7,4. A molécula de cisteína livre em solução pode formar uma ponte dissulfeto com outra molécula de cisteína por oxidação espontânea (não-enzimática) de seus grupos sulfidrila. O aminoácido resultante, cistina, está presente no sangue e nos tecidos e não é muito hidrossolúvel. Em proteínas, a formação de uma ligação dissulfeto de cistina entre dois grupos sulfidrila de cisteína posicionados de forma apropriada com freqüência tem um papel importante em manter juntas duas cadeias polipeptídicas ou duas regiões diferentes de uma cadeia (Figura 6.7). A metionina, embora contenha um grupo enxofre, é um aminoácido apolar com uma cadeia lateral grande e pesada que é hidrofóbica. Ela não contém um grupo sulfidrila e não pode formar ligações dissulfídicas. Sua função importante e central no metabolismo está relacionada com sua habilidade de transferir o grupo metila ligado ao átomo de enxofre para outros compostos.

E. Os Aminoácidos Ácidos e Básicos

Os aminoácidos aspartato e glutamato têm grupos carboxílicos que possuem carga negativa em pH fisiológico (ver Figura 6.5). Os aminoácidos básicos histidina, lisina

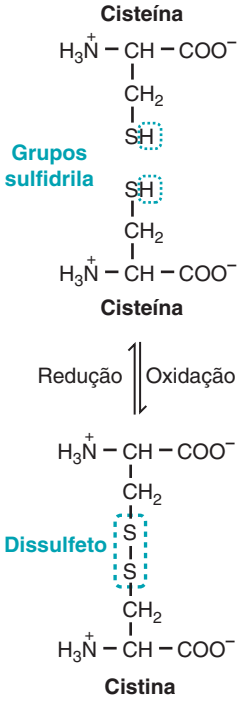


Figura 6.7 Uma ligação dissulfídica. As ligações covalentes dissulfídicas podem ser formadas entre duas moléculas de cisteína ou entre dois resíduos de cisteína em uma proteína. O composto dissulfeto é chamado de cistina. Os hidrogênios do grupo sulfidrila da cisteína são removidos durante a oxidação.

e arginina têm cadeias laterais contendo nitrogênio, que pode ser protonado e carregado positivamente em valores de pH fisiológico ou mais baixos. A histidina tem um anel imidazol que contém nitrogênio como cadeia lateral. A lisina tem um grupo amino primário no carbono 6 ou ε (da seqüência α, β, γ, δ, ε), e a arginina tem um grupo guanidina.

As cargas positivas nos aminoácidos básicos permitem que eles formem ligações iônicas (ligações eletrostáticas) com grupos carregados negativamente, como as cadeias laterais de aminoácidos ácidos ou os grupos fosfato de coenzimas (Figura 6.8). Além disso, as cadeias laterais de lisina e arginina com freqüência formam ligações iônicas com compostos carregados negativamente ligados a sítios de ligação de proteínas, como os grupos fosfato no ATP. As cadeias laterais dos aminoácidos ácidos e básicos também participam de pontes de hidrogênio e na formação de pontes salinas (como a ligação de um íon inorgânico como Na^+ entre dois grupos parcial ou totalmente carregados negativamente).

A carga desses aminoácidos em pH fisiológico é uma função de seus pK_as para a dissociação de prótons dos grupos α-carboxílicos, dos grupos α-amino e das cadeias laterais. A curva de titulação da histidina ilustra as alterações que ocorrem na estrutura do aminoácido à medida que o pH da solução é alterado de menos de 1 para 14 pela adição de íons hidróxido (Figura 6.9). Em pH baixo, todos os grupos têm prótons; os grupos amino têm uma carga positiva, e os grupos carboxílicos têm carga zero. À medida que o pH é aumentado pela adição do àlcali (OH^-), o próton se dissocia do grupo carboxílico, e sua carga se altera de zero para negativa, com pK_a de aproximadamente 2, o pH no qual 50% dos prótons se dissociaram.

A cadeia lateral da histidina é um anel imidazol com um pK_a de aproximadamente 6 que se altera de um anel predominamente protonado positivamente carregado para um anel sem carga nesse pH. O grupo amino no carbono α é titulado em um pH muito mais alto (entre 9 e 10), e a carga se altera de positiva para zero à medida que o pH se eleva. O pH no qual a carga total das moléculas em solução é zero é chamado de ponto isoelétrico (pI). Nesse pH, as moléculas em um campo elétrico não migrarão para um pólo positivo (cátodo) ou um pólo negativo (ânodo), pois o número de cargas negativas em cada molécula é igual ao número de cargas positivas.

As cadeias laterais de aminoácidos se alteram de sem carga para negativamente carregadas, ou de positivamente carregadas para sem carga à medida que liberam prótons (Figura 6.10). Os aminoácidos ácidos perdem um próton de suas cadeias laterais dos ácidos carboxílicos em um pH de cerca de 4, e, assim, são negativamente carregados em pH 7,4. A cisteína e a tirosina perdem prótons em seus pK_as (~8,4 e 10,5, respectivamente), assim suas cadeias laterais são sem carga em pH fisiológico. As cadeias laterais de histidina, lisina e arginina se alteram de positivamente carregadas para neutras nos seus pK_as. As cadeias laterais dos dois aminoácidos básicos, arginina e lisina, têm valores de pK_a acima de 10, de tal modo que a forma positivamente carregada sempre predomina em pH fisiológico. A cadeia lateral da histidina (pK_a ~6,0) se dissocia próximo ao pH fisiológico, assim apenas uma porção das cadeias laterais da histidina tem uma carga positiva (ver Figura 6.9).

Em proteínas, apenas as cadeias laterais dos aminoácidos e o grupo amino na extremidade aminoterminal e o grupo carboxila na extremidade carboxilterminal têm prótons dissociáveis. Todos os outros grupos carboxílicos e amino nos carbonos α estão unidos em ligações peptídicas que não têm prótons dissociáveis. As cadeias laterais dos aminoácidos podem ter pK_as muito diferentes daqueles dos aminoácidos livres se eles estiverem envolvidos em pontes de hidrogênio ou ligações iônicas com cadeias laterais de outros aminoácidos. O pK_a do grupo imidazol da histidina, por exemplo, com freqüência é deslocado para um valor mais alto entre 6 e 7, de tal modo que ele capta e libera um próton no espectro do pH fisiológico.

III. VARIAÇÕES NA ESTRUTURA PRIMÁRIA

Embora quase todos os aminoácidos na estrutura primária de uma proteína contribuam para sua conformação (estrutura tridimensional), a estrutura primária de uma proteína pode variar em algum grau entre as espécies. Mesmo entre a espécie humana, a

R: O glutamato tem um carga negativa na sua cadeia lateral em pH fisiológico e, assim, pode formar ligações iônicas ou pontes de hidrogênio com água ou outras cadeias laterais. A valina é um aminoácido hidrofóbico e, portanto, tende a interagir com outras cadeias laterais hidrofóbicas para excluir água. (O efeito dessa substituição na estrutura da hemoglobina está descrito em mais detalhes no Capítulo 7.)

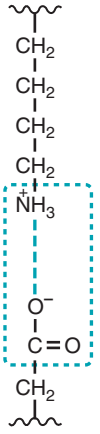


Figura 6.8 Interação eletrostática entre a cadeia lateral positivamente carregada da lisina e a cadeia lateral negativamente carregada do aspartato.

A eletroforese é uma técnica utilizada para separar proteínas com base na carga que tem sido extremamente útil em medicina para identificar proteínas com composições diferentes de aminoácidos. A carga total de uma proteína em um certo pH é uma soma de todas as cargas positivas e negativas de todas as cadeias laterais ionizáveis dos aminoácidos mais os grupos amino N-terminal e carboxil C-terminal. Teoricamente, a carga total de uma proteína em qualquer pH pode ser determinada a partir de sua composição de aminoácidos, calculando a concentração de grupos carregados positiva e negativamente pela equação de Henderson-Hasselbalch (ver Capítulo 4). Contudo, pontes de hidrogênio e ligações iônicas entre as cadeias laterais dos aminoácidos nas proteínas tornam esse cálculo irreal.

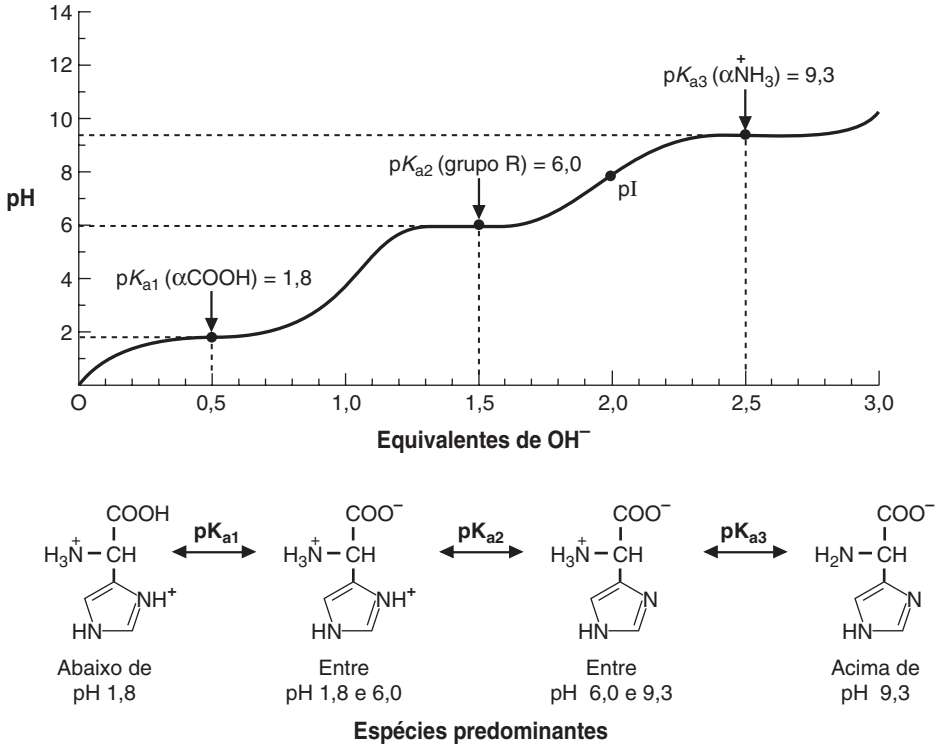


Figura 6.9 Curva de titulação da histidina. As espécies iônicas que predominam em cada região são mostradas abaixo do gráfico. O pI é o ponto isoelétrico (no qual a molécula não tem carga líquida).

	Forma que predomina abaixo do pK_a	pK_a	Forma que predomina acima do pK_a
Aspartato	$-CH_2-COOH$	3,9	$-CH_2-COO^-$ + H^+
Glutamato	$-CH_2-CH_2-COOH$	4,1	$-CH_2-CH_2-COO^-$ + H^+
Histidina	$-CH_2$ + anel imidazólico (HN^+, NH)	6,0	$-CH_2$ + anel imidazólico (N, NH) + H^+
Cisteína	$-CH_2SH$	8,4	$-CH_2S^-$ + H^+
Tirosina	$-C_6H_4-OH$	10,5	$-C_6H_4-O^-$ + H^+
Lisina	$-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}H_3$	10,5	$-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-NH_2$ + H^+
Arginina	$-CH_2-CH_2-CH_2-NH-C(=\overset{+}{N}H_2)-NH_2$	12,5	$-CH_2-CH_2-CH_2-NH-C(=NH)-NH_2$ + H^+

Figura 6.10 Dissociação das cadeias laterais dos aminoácidos. À medida que o pH se eleva, a carga da cadeia lateral vai de 0 para + ou de + para 0. O pK_a é o pH no qual metade das moléculas de um aminoácido em solução tem cadeias laterais com cargas. Metade não tem carga.

seqüência de aminoácidos de uma proteína funcional normal pode variar um pouco entre os indivíduos, os tecidos do mesmo indivíduo e o estágio de desenvolvimento. Essas variações na estrutura primária de uma proteína funcional são toleradas se são confinadas a regiões não-críticas (chamadas de regiões variantes), se são substituições conservativas (substituem um aminoácido por um de estrutura similar) ou se conferem uma vantagem. Se muitos resíduos diferentes de aminoácidos são tolerados em uma posição, a região é chamada de hipervariável. Em contraste, as regiões que formam sítios de ligação ou que são cruciais para a formação de uma estrutura tridimensional em geral são regiões não-variáveis que têm exatamente a mesma seqüência de aminoácidos de indivíduo a indivíduo, tecido a tecido ou espécie a espécie.

A. Polimorfismo na Estrutura de Proteína

Na população humana, a estrutura primária de uma proteína pode apresentar uma pequena variação entre indivíduos. As variações em geral se originam de mutações no DNA que passam para a geração seguinte. As mutações podem resultar da substituição de uma base por outra na seqüência de nucleotídeos do DNA (um ponto de mutação), de deleções ou inserções de bases no DNA ou de alterações maiores (ver Capítulo 14). Para muitos alelos, a variação tem conseqüências fenotípicas distintas que contribuem para as características individuais, produzem uma disfunção evidente (uma doença de herança congênita ou genética) ou aumentam a suscetibilidade a certas doenças. Uma proteína defeituosa difere dos alelos mais comuns por tão pouco quanto um único aminoácido que é uma substituição não-conservativa (substituição de um aminoácido por outro de uma polaridade diferente ou um tamanho muito diferente) em uma região variante. Tais mutações podem afetar a habilidade da proteína de realizar sua função, catalisar uma reação específica, chegar ao sítio apropriado em uma célula ou ser degradada. Para outras proteínas, as variações parecem não ter significância.

As variantes de um alelo que ocorrem com uma freqüência significativa na população são referidas como polimorfismos. Até esse ponto nos estudos do genoma humano, quase um terço dos *loci* genéticos parece ser polimórfico. Quando uma variação específica de um alelo, ou polimorfismo, aumenta na população geral para um freqüência

Q: A substituição de um glutamato por uma valina na hemoglobina falciforme é uma substituição conservativa? E a substituição de aspartato por glutamato?

Em sua maioria, os cromossomos humanos ocorrem como pares homólogos, com cada membro do par contendo a mesma informação genética. Um membro do par é herdado da mãe e o outro do pai. Os genes são dispostos linearmente ao longo de cada cromossomo. Um *locus* genético é uma posição ou localização específica em um cromossomo. Os alelos são versões alternadas de um gene em um determinado *locus*. Para cada *locus* (sítio), existem dois alelos de cada gene, um da mãe e um do pai. Se ambos os alelos de um gene são idênticos, o indivíduo é homozigoto para esse gene; se os alelos são diferentes, ele é heterozigoto para esse gene. **Will Sichel** tem dois alelos idênticos para a variante falciforme do gene da globina β, o que resulta na substituição de um resíduo de glutamato por um resíduo de valina na sexta posição da cadeia da globina β. Ele é, portanto, homozigoto e tem anemia falciforme. Indivíduos com um gene normal e um alelo falciforme são heterozigotos. Eles são portadores da doença e têm traço falciforme.

A hemoglobina de **Will Sichel**, HbS, é composta de duas cadeias α normais e duas cadeias de globina β com a variante de anemia falciforme ($\alpha_2\beta_2^S$). A alteração na composição de aminoácidos pela substituição de um glutamato por uma valina na cadeia β permite que a hemoglobina falciforme seja separada da hemoglobina adulta normal (HbA ou [$\alpha_2\beta_2^A$]) por eletroforese. Na eletroforese, uma alíquota de sangue ou outra solução contendo proteínas é aplicada a uma matriz de suporte, como papel ou gel. Quando um campo elétrico é aplicado, as proteínas migram em uma distância em direção ao ânodo (pólo negativo) ou cátodo (pólo positivo) que reflete pequenas diferenças em sua carga total. A eletroforese do sangue de **Will Sichel** mostra que ele é homozigoto para a variante falciforme, HbS, e tem quantidades aumentadas de hemoglobina fetal, HbF. Indivíduos com traço falciforme são heterozigotos e têm ambas HbA e HbS, mais pequenas quantidades de ($\alpha_2\gamma_2$).

Em indivíduos heterozigotos com traço falciforme, o alelo falciforme fornece alguma proteção contra malária. A malária é causada pelo parasita *Plasmodium falciparum*, o qual passa parte de seu ciclo vital nas células sangüíneas vermelhas. As células sangüíneas vermelhas de indivíduos com hemoglobina normal (HbA) desenvolvem protusões que se ligam ao revestimento dos capilares. Essas ligações ocluem os vasos e impedem o oxigênio de chegar a células na região afetada, resultando em morte celular. Em indivíduos heterozigotos, HbS nas células infectadas se agregam em longas fibras que fazem com que a célula se torne distorcida. Essas células distorcidas contendo os parasitas são preferencialmente reconhecidas pelo baço e são destruídas de forma rápida, terminando, assim, a vida do parasita.

Em **Will Sichel** e outros indivíduos homozigotos com anemia falciforme, as células sangüíneas vermelhas alteram sua forma de foice com mais freqüência, especialmente sob condições de baixa pressão de oxigênio (ver Capítulo 7). O resultado é uma crise vaso-oclusiva na qual as células falciformes formam trombos nos capilares e impedem a chegada de oxigênio nas células (isquemia), causando, assim, dor. A destruição aumentada de células falciformes pelo baço resulta em anemia. Conseqüentemente, o alelo falciforme é de pouca vantagem para indivíduos homozigotos.

Uma vez que indivíduos heterozigotos ocorrem com mais freqüência em uma população do que indivíduos homozigotos, uma vantagem seletiva do estado heterozigoto pode suplantar uma desvantagem em um estado homozigoto, tornando a mutação um polimorfismo estável em uma população. Como conseqüência, a freqüência de anemia falciforme em partes da África equatorial nas quais a malária era endêmica no passado é de 1 em 25 nascimentos. A migração da África é responsável pela alta freqüência de anemia falciforme entre negros nos Estados Unidos, a qual é de aproximadamente 1/400 nascimentos.

R: A substituição de um glutamato por uma valina é uma substituição não-conservativa devido ao fato de um aminoácido carregado negativamente ser substituído por um aminoácido de cadeia ramificada hidrofóbica alifática. Contudo, a substituição de um aspartato por um glutamato é uma substituição conservativa, pois os dois aminoácidos têm a mesma polaridade e aproximadamente o mesmo tamanho.

de mais de 1%, ela é considerada estável. O alelo falciforme é um exemplo de um ponto de mutação que é estável na população humana. Sua persistência provavelmente é atribuível à pressão seletiva para o fenótipo heterozigoto mutante, a qual confere alguma proteção contra a malária.

B. Famílias e Superfamílias de Proteínas

Uma família de proteínas homólogas é composta de proteínas relacionadas à mesma proteína ancestral. Proteínas com estrutura e funções similares, mas não idênticas, que evoluíram do mesmo gene após ele ter sido duplicado são chamadas de parálogas e são consideradas membros da mesma família de proteínas. Uma vez que o gene tenha sido duplicado, um gene pode continuar a realizar a função original, e a segunda cópia pode mutar em uma proteína com outra função ou outro tipo de regulação. Esse processo é chamado de evolução divergente. Famílias muito grandes de proteínas homólogas são chamadas de superfamílias, que são subdivididas por nome em famílias de proteínas com a maior similaridade na estrutura.

Os parálogos de uma família de proteínas são considerados proteínas diferentes e têm nomes diferentes, pois diferem em suas funções. Eles estão presentes no mesmo indivíduo. A mioglobina e as diferentes cadeias de hemoglobina, por exemplo, são parálogos e membros da mesma família de globinas que têm estruturas e funções semelhantes, mas não idênticas. A mioglobina, uma proteína heme intracelular presente na maioria das células que armazena e transporta O_2 para a mitocôndria, é uma cadeia polipeptídica única contendo um sítio heme de ligação de oxigênio. Em contraste, a hemoglobina é composta de quatro cadeias de globinas, cada uma com um sítio heme de ligação de oxigênio que está presente nas células sangüíneas vermelhas e transporta O_2 dos pulmões para os tecidos. Assume-se que o gene da mioglobina evoluiu da duplicação da cadeia α da hemoglobina, a qual evoluiu da duplicação da cadeia β. A Figura 6.11 compara uma região da estrutura da mioglobina e as cadeias α e β da hemoglobina. Entre essas três proteínas, apenas 15 resíduos invariantes (idênticos) estão presentes, mas muitos dos outros resíduos de aminoácidos são substituições conservativas.

Famílias de proteínas homólogas são proteínas que têm a mesma proteína ancestral e se originam a partir do mesmo gene. O termo *homólogo* inclui ortólogos e parálogos. Os ortólogos são genes de diferentes espécies que evoluíram de um gene ancestral comum à medida que diferentes espécies se desenvolveram (p. ex., insulina humana e porcina). Em contraste, os parálogos são genes relacionados por duplicação dentro do genoma de uma única espécie (p. ex., mioglobina e hemoglobina). Normalmente, os ortólogos retêm a mesma função no curso da evolução, enquanto os parálogos desenvolvem novas funções que podem ou não estar relacionadas com a função original.

Para comparar a estrutura primária de duas cadeias polipeptídicas homólogas, as seqüências são escritas da esquerda para a direita da extremidade aminoterminal para a extremidade carboxilterminal. As seqüências são alinhadas por programas de computador que maximizam a identidade dos aminoácidos e minimizam as diferenças causadas pelos segmentos que estão presentes em uma proteína e não na outra.

A estrutura primária das proteínas globinas humanas

	1				5				10				15			
Mioglobina	gly	-----	leu	ser	asp	gly	glu	trp	gln	leu	val	leu	asn	val	trp	gly	lys	val
Cadeia β da hemoglobina	val	his	leu	thr	pro	glu	glu	lys	ser	ala	val	thr	ala	leu	trp	gly	lys	val
Cadeia α da hemoglobina	val	-----	leu	ser	pro	ala	asp	lys	thr	asn	val	lys	ala	ala	trp	gly	lys	val
Cadeia ζ da hemoglobina	met	ser	leu	thr	lys	thr	glu	arg	thr	ile	ile	val	ser	met	trp	ala	lys	ile
Cadeia γ da hemoglobina	met	gly	his	phe	thr	glu	glu	asp	lys	ala	thr	ile	thr	ser	leu	trp	gly	lys	val

Figura 6.11 As estruturas primárias de uma região nas proteínas globinas humanas. Lacunas na estrutura, indicadas por traços, são introduzidas para maximizar o alinhamento entre as proteínas na comparação de estruturas. Assume-se que elas coincidem com mutações que causaram uma deleção. As regiões de similaridade da seqüência (substituições de identidade e conservativas) estão indicadas em azul. Dentro dessas regiões, existem regiões menores de resíduos invariáveis que são exatamente os mesmos de proteína para proteína. A mioglobina é uma cadeia polipeptídica única. As cadeias α e β são partes da hemoglobina A ($\alpha_2\beta_2$). A cadeia ζ é parte da hemoglobina embrionária ($\zeta_2\varepsilon_2$). A cadeia γ é parte da hemoglobina fetal (HbF), $\alpha_2\gamma_2$.

C. Variações Teciduais e de Desenvolvimento na Estrutura de Proteínas

Dentro do mesmo indivíduo, diferentes isoformas ou isoenzimas de proteínas podem ser sintetizadas durante diferentes estágios do desenvolvimento fetal e embrionário, podem estar presentes em diferentes tecidos ou podem residir em diferentes localizações intracelulares. As isoformas de uma proteína têm a mesma função. Se elas são isoenzimas (isoformas de enzima), elas catalisam as mesmas reações. Contudo, as isoformas têm propriedades e estrutura de aminoácidos um pouco diferentes.



O termo *isoenzima* foi originalmente definido como significando enzimas com uma estrutura primária diferente, catalisando a mesma reação, codificada por genes diferentes. Contudo, o termo atualmente é utilizado de forma mais ampla. Algumas isoenzimas atualmente são conhecidas por se originarem de *splice* alternativo de pré-mRNA para formar diferentes mRNAs (mRNA é o molde de ácido nucleico final utilizado para a síntese de proteínas).

1. VARIAÇÃO DE DESENVOLVIMENTO

As isoformas de hemoglobina fornecem um exemplo de variação durante o desenvolvimento. A hemoglobina é expressa como a isoenzima fetal HbF durante o último trimestre de gestação até após o nascimento, quando ela é substituída por HbA. A HbF é composta por duas cadeias de hemoglobina α e duas de hemoglobina γ, em contraste com a hemoglobina do adulto, a hemoglobina A, a qual tem duas cadeias α e duas β. Durante os estágios embrionários de desenvolvimento, cadeias com uma composição diferente de aminoácidos, as cadeias embrionárias ζ e ε, são produzidas (ver Figura 6.11). Acredita-se que essas diferenças ocorram evolutivamente da mutação de uma duplicação do gene α para produzir ζ e da mutação da duplicação do gene α para produzir ε. As formas embrionária e fetal da hemoglobina têm uma afinidade muito maior com o O_2 do que as formas adultas e, assim, conferem uma vantagem nas baixas pressões de O_2 a que o feto está exposto. Em diferentes estágios do desenvolvimento, os genes da globina específicos para aquele estágio são expressos e traduzidos.

2. ISOFORMAS TECIDUAIS ESPECÍFICAS

As proteínas que diferem um pouco na estrutura primária e nas propriedades de um tecido para outro, mas mantêm essencialmente a mesma função, são chamadas de isoformas ou isoenzimas. A enzima creatina-quinase é um exemplo de uma proteína que existe como isoenzimas tecido-específicas, cada uma composta de duas subunidades com 60 a 72% de homologia de seqüência. Das duas creatina-quinases que se ligam ao sarcômero muscular, a forma M é produzida no músculo esquelético, e as cadeias polipeptídicas B são produzidas no cérebro. A proteína é formada por duas subunidades; dessa forma, o músculo esquelético produz uma creatina-quinase MM, e o cérebro produz uma forma BB. O coração produz ambos os tipos de cadeias e, assim, forma um heterodímero, MB, bem como um dímero MM. Duas outras isoenzimas da creatina-quinase são encontradas na mitocôndria, uma creatina-quinase mitocondrial cardíaca e a isoforma "universal" encontrada em outros tecidos. (Geralmente, a maioria das proteínas presentes na mitocôndria e no citosol estará presente como isoformas diferentes.) A vantagem conferida a diferentes tecidos por terem sua própria isoforma de quinase é desconhecida. Contudo, isoenzimas tecido-específicas como a creatina-quinase MB são úteis para testes diagnósticos de lesão tecidual e morte celular.

A estrutura das proteínas envolvidas na resposta a hormônios tem sido mais estudada do que muitos outros tipos de proteínas. A maioria dessas proteínas está presente como diversas isoformas tecido-específicas que auxiliam diferentes tecidos a responder de maneira diferente ao mesmo hormônio. Uma dessas proteínas presente nas membranas celulares é a adenil-ciclase, uma enzima que catalisa a síntese intracelular de 3',5' monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) (Figura 6.12). Em tecidos humanos, pelo menos nove isoformas diferentes de adenil-ciclase são codificadas por genes diferentes em tecidos diferentes. Embora elas tenham uma seqüência homóloga geral de 50%, as duas regiões intracelulares envolvidas na síntese de AMPc são um consenso invariável com 93% de semelhança. As diferentes isoformas auxiliam as células a responder de maneira diferente ao mesmo hormônio.



Um infarto do miocárdio (ataque cardíaco) é causado por uma obstrução ateromatosa ou um espasmo grave em uma artéria coronária que impede o fluxo de sangue para uma área do músculo cardíaco. Assim, as células cardíacas nessa região sofrem de uma falta de oxigênio e de substratos energéticos do sangue. Devido ao fato de essas células não poderem gerar ATP, as membranas se tornam lesadas, e as enzimas escapam das células para o sangue.

A creatina-quinase (CK ou CPK) é uma dessas enzimas. A proteína é composta por duas subunidades, as quais podem ser do tipo muscular (M) ou cerebral (B, **brain**). A forma MB, contendo uma subunidade M e uma B, é encontrada primariamente no músculo cardíaco. Ela pode ser separada por eletroforese de outras isoenzimas CK, e sua concentração no sangue é utilizada para determinar se ocorreu um infarto do miocárdio. Ao ser internada no hospital, **Ann Jeina** tinha CK total de 182 unidades/L (valores de referência = 38 a 174 U/L). Sua fração de MB era de 6,8% (valores de referência = 5% ou menos da CK total). Embora esses valores estejam apenas levemente elevados, são tipicamente da fase intermediária seguinte a um infarto do miocárdio. Informação adicional foi fornecida pelas medidas de mioglobina e troponina T (Tn-T).

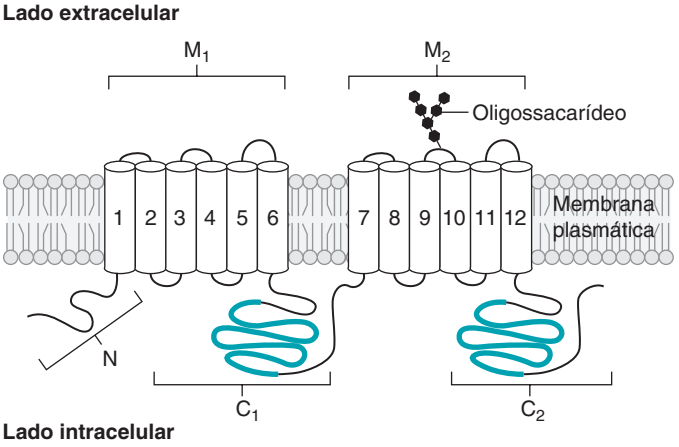


Figura 6.12 Regiões invariáveis nas isoformas da adenil-ciclase. As regiões invariáveis estão no lado citosólico da membrana nas alças C1 e C2 mostradas em azul. Esses resíduos de aminoácidos participam da função catalítica da enzima, a síntese de 3',5'-AMP acíclico. A proteína também tem várias regiões helicoidais que tensionam a membrana (hélices M1 e hélices M2), representadas como tubos. Uma cadeia de oligossacarídeo está ligada a um domínio extracelular. N é a extremidade amino terminal. (Impressa com a permissão de Taussig R, Gilman AG. J Biol Chem Mammalian membrane-bound adenilyl cyclases 1995;270:1–4.)

Variações na estrutura da proteína entre espécies têm sido utilizadas para se desenvolver uma árvore filogenética de relações ancestrais entre as espécies mostrando o progresso da evolução. De acordo com a teoria evolucionária, as espécies relacionadas evoluíram de um ancestral comum, e todas as proteínas podem ser reunidas em agrupamentos de proteínas (chamadas de proteínas ortólogas) que evoluíram de uma proteína ancestral comum. Quanto mais similar a seqüência de aminoácidos de uma proteína ortóloga de espécies diferentes, mais próxima a relação entre as espécies.

Embora a insulina bovina seja idêntica à insulina humana naqueles resíduos de aminoácidos essenciais para atividade, os resíduos de aminoácidos que estão nas regiões variáveis podem agir como antígenos e estimular a formação de anticorpos contra insulina bovina. Conseqüentemente, técnicas de DNA recombinante têm sido utilizadas para a síntese de insulina, idêntica em estrutura à insulina nativa, como Humulin (insulina de ação intermediária) (ver Capítulo 17 ou informação sobre tecnologia de DNA recombinante). Embora **Di Abietes** ainda não tenha tido resposta alérgica a sua insulina bovina, o custo de Humulin atualmente é tão baixo que a maioria dos pacientes está trocando a insulina bovina para as formas de insulina humana sintética.

Os 20 aminoácidos codificados por DNA formam a seqüência linear de aminoácidos, conhecida como estrutura primária das proteínas, e determinam o padrão de dobra para a conformação tridimensional da proteína. Modificações pós-transcricionais em geral ocorrem quando a proteína já se dobrou em seu padrão característico. Elas são como acessórios (jóias, gravatas, etc.) que fornecem variações adicionais para o vestuário básico.

D. Variações entre Espécies na Estrutura Primária da Insulina

As variações entre espécies na estrutura primária também são importantes em medicina, como ilustrado pela comparação entre as insulinas humana, bovina e porcina. A insulina é um dos hormônios altamente conservados entre espécies, com poucas substituições de aminoácidos e nenhuma nas regiões que afetam atividade. A insulina é um hormônio polipeptídico de 51 aminoácidos que é composto por duas cadeias polipeptídicas (Figura 6.13). Ela é sintetizada como cadeia polipeptídica única, mas é quebrada em três locais antes da secreção para formar o peptídeo C e a molécula ativa de insulina contendo as cadeias A e B. O dobramento das cadeias A e B na estrutura tridimensional correta é promovido pela presença de uma ponte dissulfeto intracadeia e duas pontes dissulfeto intercadeia formadas por resíduos de cisteína. Os resíduos invariáveis são compostos por resíduos de cisteína envolvidos em pontes dissulfeto e por resíduos que formam a superfície da molécula de insulina que se liga ao receptor de insulina. As substituições de aminoácidos nas insulinas bovina e porcina (mostradas em azul na Figura 6.13) não ocorrem em aminoácidos que afetam sua atividade. Conseqüentemente, as insulinas bovina e porcina foram utilizadas por muitos anos para o tratamento de diabetes melito. Contudo, mesmo com poucos aminoácidos diferentes, alguns pacientes desenvolviam uma resposta imune a essas insulinas.

IV. AMINOÁCIDOS MODIFICADOS

Após a síntese de uma proteína ter sido completada, alguns poucos resíduos de aminoácidos na seqüência primária podem ser modificados por reações catalisadas por enzimas que adicionam grupos químicos, oxidam ou modificam de outra forma aminoácidos específicos na proteína. Devido ao fato de a síntese de proteína ocorrer por um processo conhecido como tradução, essas alterações são chamadas de modificações pós-tradução. Mais de 100 resíduos de aminoácidos modificados pós-tradução foram encontrados em proteínas humanas. Essas modificações alteram a estrutura de um ou mais aminoácidos específicos em uma proteína de modo que podem ter uma função regulatória, dirigir ou ancorar a proteína nas membranas, aumentar a associação de uma proteína com outras, ou marcá-la para sua degradação (Figura 6.14).

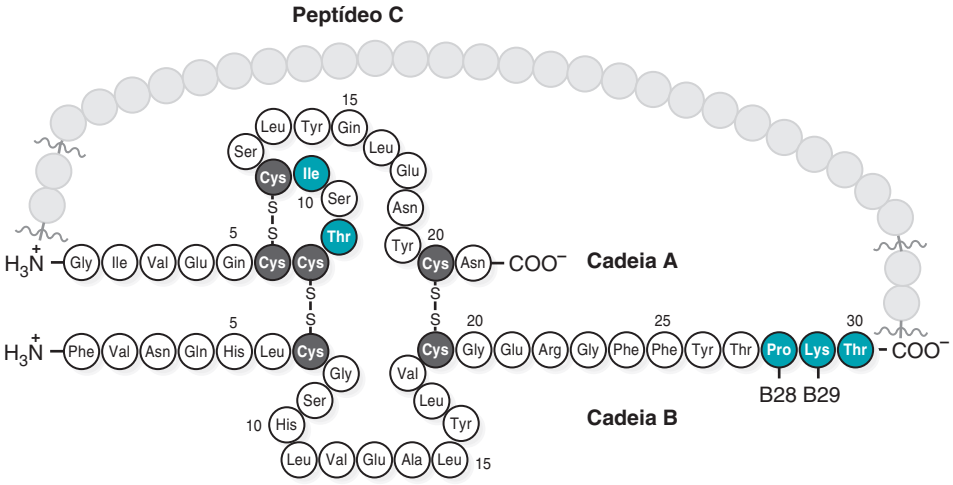


Figura 6.13 A estrutura primária da insulina humana. Os aminoácidos substituídos nas insulinas bovina e porcina são mostrados em azul. A treonina 30 na extremidade carboxilterminal da cadeia B é substituída por alanina tanto na insulina bovina como na porcina. Na insulina bovina, a treonina 8 na cadeia A também está susbtituída por alanina, e a isoleucina 10, por valina. Os resíduos de cisteína, os quais formam as pontes dissulfeto que unem as cadeias, são invariáveis. Na insulina Humalog criada por bioengenharia (*lispro insulin*), as posições de prolina em B28 e lisina em B29 estão trocadas. A insulina é sintetizada como uma molécula precursora mais longa, pró-insulina, a qual é uma cadeia polipeptídica. A pró-insulina é convertida em insulina pela quebra proteolítica de certas ligações peptídicas (linhas onduladas na figura). A quebra remove uns poucos aminoácidos e o peptídeo C de 31 aminoácidos que conecta as cadeias A e B. A molécula de insulina ativa, então, tem duas cadeias não-idênticas.

B. Glicosilação

Os oligossacarídeos (pequenas cadeias de carboidratos) são ligados a proteínas por ligações com *N* ou *O* (ver Figura 6.14). Os oligossacarídeos ligados a *N* são encontrados ligados a proteínas da superfície celular, onde protegem as células de proteólise ou de ataques imunes. Em contraste, uma ligação *O*-glicosídica é uma maneira comum de ligar oligossacarídeos a grupos hidroxila de serina ou treonina em proteínas secretadas. O polissacarídeo intracelular glicogênio é ligado a uma proteína por uma ligação *O*-glicosídica a uma tirosina.

C. Acilação ou Prenilação de Lipídeos

Muitas proteínas de membrana contêm um grupo lipídico covalentemente ligado que interage hidrofobicamente com lipídeos na membrana. Os grupos palmitoil (C16) com freqüência são ligados a proteínas da membrana plasmática, e o grupo miristil (C14) com freqüência é ligado a proteínas nas membranas lipídicas das vesículas intracelulares (ver Figura 1.14). Os grupos farnesil (C15) ou geranil-geranil (C20) são sintetizados a partir da unidade isopreno de cinco carbonos (isopentenil pirofosfato, ver Figura 5.1A) e são, assim, chamados de isoprenóides. Eles são unidos por ligação éster a um resíduo específico de cisteína de certas proteínas de membrana, particularmente proteínas envolvidas em regulação.



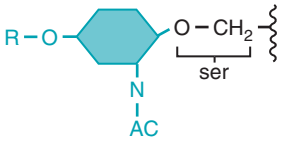
A adenilil-ciclase é modificada pós-tradução (ver Figura 6.12). Ela tem uma cadeia oligossacarídica ligada na porção externa da proteína. Algumas das isoenzimas contêm resíduos de serina na porção intracelular da cadeia que podem ser fosforiladas por um proteína-quinase.

D. Modificações Regulatórias

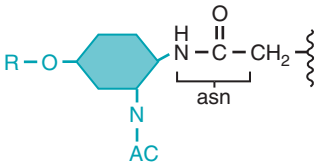
Fosforilação, acetilação e (ADP)-ribosilação com difosfato de adenosina de resíduos de aminoácidos específicos em uma cadeia polipeptídica podem alterar a ligação naquele resíduo e alterar a atividade da proteína (ver Figura 6.14). A fosforilação de um grupo OH de serina, treonina ou tirosina por uma proteína-quinase (uma enzima que transfere um grupo fosfato do ATP para uma proteína) introduz um grupo grande, pesado e negativamente carregado que pode alterar a atividade de uma proteína. A acetilação reversível ocorrendo em resíduos de lisina das proteínas histonas no cromos-

Adição de carboidrato

O-glicosilação: OH de ser, thr, tyr

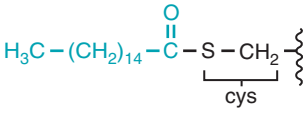


N-glicosilação: NH_2 de asn

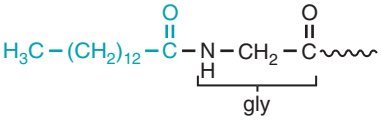


Adição de lipídeo

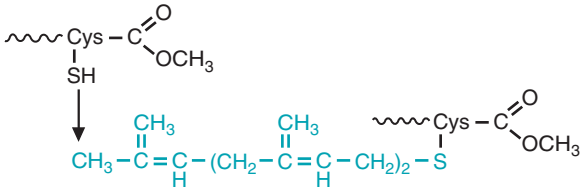
Palmitoilação: SH interno de cys



Miristilação: NH do N-terminal da gly

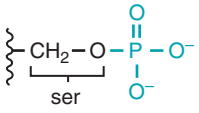


Prenilação: SH de cys

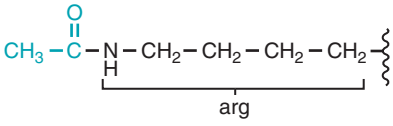


Regulação

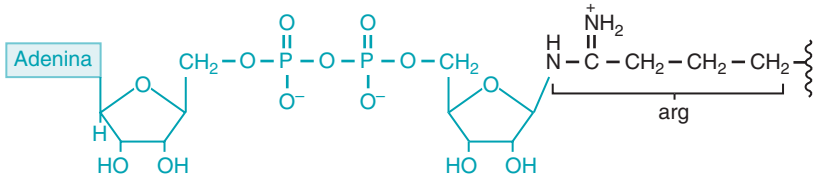
Fosforilação: OH de ser, thr, tyr



Acetilação: NH_2 de lys, terminal

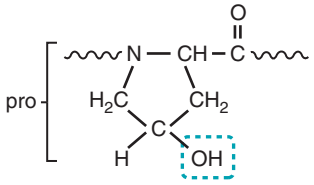


ADP-ribosilação: N de arg, gln; S de cys



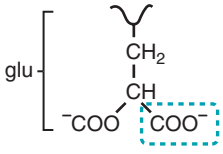
Aminoácidos modificados

Oxidação: pro, lys



4-Hidroxiprolina

Carboxilação: glu



Resíduo γ-carboxiglutamato

Figura 6.14 Modificações pós-tradução de aminoácidos em proteínas. Algumas dessas modificações de aminoácidos comuns e os sítios de ligação estão ilustrados. O grupo adicionado é mostrado em azul. Devido ao fato de essas modificações serem catalisadas por enzimas, apenas uma seqüência específica de aminoácidos na estrutura primária está alterada. O hexágono R-O se refere a um oligossacarídeo. Na *N*-glicosilação, o glicídeo ligado é usualmente *N*-acetilglicosamina (N-Ac).

somo altera sua interação com os grupos fosfato negativamente carregados do DNA. A ADP-ribosilação é a transferência de uma ADP-ribose do NAD^+ para um resíduo de arginina, glutamina ou cisteína em uma proteína-alvo na membrana (principalmente em leucócitos, músculo esquelético, cérebro e testículos). Essa modificação pode regular a atividade dessas proteínas.



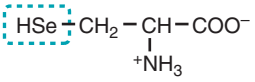
Diversas bactérias patogênicas produzem toxinas que são ADP-ribosil-transferases (NAD^+-glico-hidrolases). Essas enzimas hidrolisam a ligação *N*-glicosídica do NAD^+ e transferem a porção ADP-ribose para um resíduo de aminoácido específico em uma proteína na célula humana afetada. A toxina do cólera A-B, a toxina (pertussis) da coqueluche e a toxina diftérica são todas ADP-ribosil-transferases.

E. Outras Modificações Pós-tradução de Aminoácidos

Diversas outras modificações pós-tradução das cadeias laterais de aminoácidos alteram a atividade da proteína na célula (ver Figura 6.14). A carboxilação do carbono γ do glutamato (carbono 4) em certas proteínas da coagulação sangüínea é importante para a ligação do coágulo a uma superfície. Os íons cálcio medeiam essa ligação ligando-se aos dois grupos carboxila negativamente carregados do glutamato e a dois grupos adicionais negativamente carregados fornecidos por fosfolipídeos da membrana celular. O colágeno, uma proteína fibrosa extracelular abundante, contém o aminoácido oxidado hidroxiprolina. A adição do grupo hidroxila à cadeia lateral da prolina fornece um grupo polar extra que pode se envolver nas pontes de hidrogênio entre as fitas polipeptídicas da proteína fibrosa.

F. Selenocisteína

O aminoácido incomum selenocisteína é encontrado em poucas enzimas e é necessário para suas atividades (Figura 6.15). Entretanto, sua síntese não é uma modificação pós-tradução, mas uma modificação de serina que ocorre enquanto essa permanece ligada a um tRNA único. A selenocisteína é, então, inserida na proteína quando ela está sendo sintetizada.



Selenocisteína

Figura 6.15 Selenocisteína.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS



Will Sichel. Will Sichel foi tratado por três dias com narcóticos parenterais (intravascular), hidratação e inalação nasal de oxigênio para sua crise vaso-oclusiva. A dor difusa grave das crises falciformes resulta de oclusão de pequenos vasos em uma variedade de tecidos, causando, assim, lesão de células por isquemia (baixo fluxo sangüíneo) ou hipoxia (baixos níveis de oxigênio). A vaso-oclusão ocorre quando moléculas HbS nas células sangüíneas vermelhas polimerizam nos capilares, onde a pressão parcial de O_2 (pO_2) é baixa. Essa polimerização faz as células sangüíneas vermelhas se modificarem de um disco bicôncavo para uma forma de foice que não pode se deformar para passar através do lúmen estreito de capilares. As células se agregam nos capilares e obstruem o fluxo sangüíneo.

Além disso, **Will Sichel** foi tratado com terapia com hidroxiuréia, a qual aumenta a produção de células sangüíneas vermelhas contendo hemoglobina fetal. As moléculas de HbF não sofrem alterações na forma. Os sintomas agudos de **Will Sichel** gradualmente diminuíram. Caso sua dor grave tivesse persistido, transfusão sangüínea poderia ser considerada devido ao fato de não haver atualmente outra terapia efetiva disponível. Pacientes com anemia falciforme têm crises falciformes periodicamente; por essa razão, o médico de Will o orientou a procurar assistência médica sempre que os sintomas reaparecerem.



Cal Kulis. Sr. Kulis tem cistinúria, uma doença relativamente rara, com uma prevalência que varia entre 1 em 2.500 e 1 em 15.000 nascimentos, dependendo da população estudada. Ela é uma doença geneticamente determinada com um modo complexo de herança recessiva resultante de mutações alélicas. Essas mutações levam a uma redução na atividade de proteínas de transporte dos túbulos renais que normalmente transportam cistina do lúmen tubular para as células renais. O transporte dos aminoácidos (lisina, arginina e ornitina, um aminoácido encontrado no ciclo da uréia, mas não em proteínas) também é freqüentemente comprometido, e eles aparecem na urina.

Devido ao fato de a cistina ser produzida pela oxidação de cisteína, o tratamento conservador na cistinúria inclui diminuição da quantidade de cisteína no corpo e, conseqüentemente, da quantidade de cistina eventualmente filtrada pelos rins. A redução dos níveis de cisteína é conseguida pela restrição na dieta de metionina, a qual contribui com seu enxofre para a via de formação da cisteína. Para aumentar a quantidade de cistina que permanece em solução, o volume de líquidos ingerido diariamente é aumentado. A cristalização da cistina é, ainda, prevenida pela alcalinização crônica da urina. Finalmente, fármacos podem ser administrados para aumentar a conversão da cistina urinária em compostos mais solúveis. Se essas medidas conservadoras falham em prevenir a formação continuada de cálculos de cistina, os cálculos existentes são removidos por uma técnica cirúrgica que envolve quebra sônica dos cálculos. Os cálculos fragmentados podem, então, passar de forma espontânea ou podem ser facilmente extraídos por cirurgia devido ao seu pequeno tamanho.

A troca na posição de aminoácidos na lispro não afeta a ação dessa insulina sintética nas células, pois ela não está em uma região invariável crítica, mas ela afeta a habilidade da insulina em se ligar ao zinco. Normalmente, a insulina humana é secretada pelo pâncreas como um zinco-hexâmero, no qual seis moléculas de insulina estão ligadas ao átomo de zinco. Quando a zinco-insulina é injetada, a ligação ao zinco diminui a absorção do sítio de injeção subcutâneo (sob a pele). A lispro não pode se ligar ao zinco para formar um hexâmero, e, assim, ela é absorvida de forma muito mais rápida do que as outras insulinas.

Di Abietes. O tratamento de Di Abietes foi primeiro trocado para injeções diárias de Humulin em vez de insulina bovina. Humulin é atualmente produzido em massa por técnicas de DNA recombinante que inserem a seqüência de DNA humana das cadeias A e B da insulina em *Escherichia coli* ou genoma de levedura (ver Capítulo 17). As cadeias de insulina que são produzidas são, então, extraídas do meio e tratadas para formar as pontes dissulfeto apropriadas entre as cadeias. Como os custos de produção diminuíram para a insulina humana sintética, ela tem substituído a insulina porcina e a insulina bovina altamente antigênica.

O médico de Di recomendou, então, que ela use Humalog, uma preparação de insulina contendo lispro, um análogo criado por bioengenharia de insulina de ação ultra-rápida, no qual a lisina em B29 foi trocada para a posição B28, e a prolina em B28 para B29 (por isso, lispro) (ver Figura 6.13). Com lispro, Di será capaz de fazer suas injeções minutos antes do consumo de refeições contendo carboidratos, em vez de ter que lembrar de fazer uma injeção de insulina uma hora antes de uma refeição.

Ann Jeina. A Sra. Jeina continuou a ser monitorada na unidade de cuidados cardíacos. Na internação, os níveis de CK estavam elevados (182 unidades/L comparadas com valores de referência de 38 a 174 U/L), e a fração MB estava alta em 6,8% do total (referência = < 5% do total). A CK continuou a aumentar (228 unidades/L 12 horas após a internação e 266 unidades/L em 24 horas), como também sua fração MB (8% em 12 horas e 10,8% em 24 horas). Dentro de duas horas do início de um infarto do miocárdio, a forma MB da CK começa a escapar das células cardíacas que foram lesadas pelo processo isquêmico. Essas elevações nos níveis séricos da fração MB (e, assim, da CK total) alcançam seu pico 12 a 36 horas mais tarde e em geral retornam ao normal dentro de 3 a 5 dias do início do infarto (Figura 6.16). Além das medidas de CK, os níveis sangüíneos de mioglobina e da forma cardíaca da troponina T, uma proteína envolvida na contração muscular, foram analisados (ver Capítulo 7).

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Bancos de Dados de Enzimas e Proteínas. Grandes bancos de dados de estrutura de proteínas foram organizados para agrupar informações de vários laboratórios pelo mundo. A National Library of Medicine mantém uma página na internet, PubMed, a qual cataloga a literatura médica e possui uma ferramenta de busca que permite procurar artigos por tópico ou autor (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed). A partir do menu, pode-se entrar diretamente em um banco de dados de proteína ou banco de dados de estrutura. Esses bancos de dados são interligados, de tal modo que se digita o nome de uma proteína, como a cadeia A da hemoglobina humana, e obtém-se uma lista daqueles que contribuíram para os dados

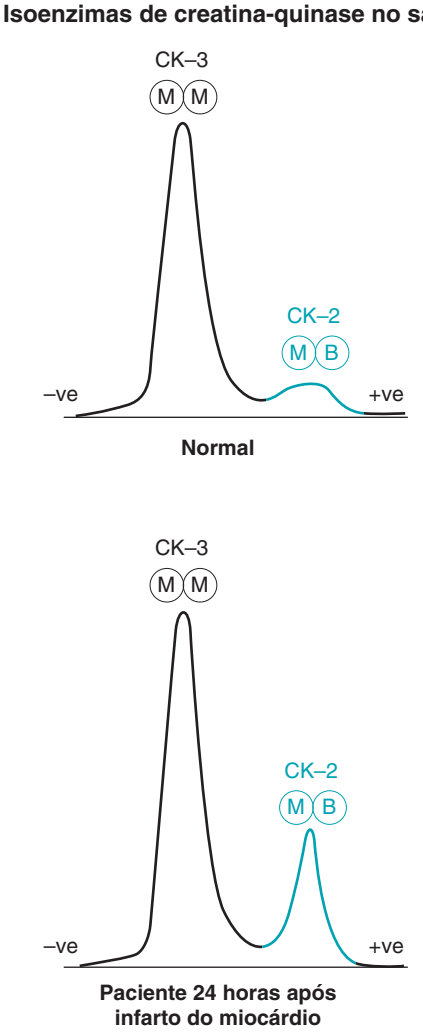


Figura 6.16 Separação eletroforética de enzimas creatina-quinases séricas de um adulto normal e de um paciente que teve um infarto do miocárdio típico há 24 horas. A creatina-quinase catalisa a transferência reversível de um fosfato de ATP para creatina para formar fosfocreatina e ADP. A reação é uma parte importante do metabolismo energético no músculo cardíaco, no músculo esquelético e no cérebro. Existem três formas diferentes do dímero: BB (ou CK-1), encontrada no cérebro; MB (ou CK-2), encontrada apenas no coração, e MM (ou CK-3), encontrada apenas nos músculos esquelético e cardíaco (cátodo, –ve; ânodo, +ve).

da seqüência, e recebe-se uma seqüência de aminoácidos completa de muitas proteínas. É possível conectar-se ao PubMed para encontrar artigos recentes sobre a proteína, ou conectar-se ao banco de dados de estrutura. Um programa chamado de Cn3D pode ser baixado dessa página que permite a visualização das versões tridimensionais das estruturas da proteína.

Esses bancos de dados são apenas pouco mais de 500 bancos de dados que têm sido organizados para agrupar e trocar informação biológica nas áreas de DNA, RNA, genômica, mapeamento de genes e estrutura de proteínas. A primeira edição de cada ano do *Journal of Nucleic Acid Research* fornece uma descrição dos bancos de dados biológicos atualmente disponíveis.

Seu objetivo é fornecer informação que possa relacionar uma seqüência particular ou uma mutação de DNA a uma proteína envolvida, com sua função e com as conseqüências patológicas de uma substituição específica de aminoácido, pela comparação de proteínas que têm elementos funcionais similares.

Esses bancos de dados serão de utilidade para o médico clínico ou para o estudante de medicina orientado para a prática? Poucos estudantes vão querer modelar proteínas. Contudo, estudantes e médicos podem querer usar a pesquisa de literatura no PubMed como parte de sua abordagem de medicina com base em evidências. Eles podem também querer utilizá-los para rastrear definições ou conhecimento fundamental sobre determinados tópicos. Assim, um movimento foi iniciado para conectar livros-texto de biomedicina e ciência básica com o PubMed.

Leitura Sugerida

Tatusov RL, Koonin EV, Lipman, DJ. A genomic perspective on protein families. Science 1997;278:631-637.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 6

1. Pontes de hidrogênio podem ocorrer em um polipeptídeo, em pH fisiológico, entre

   (A) as cadeias laterais de um resíduo de leucina e um resíduo de lisina.
   (B) as cadeias laterais de um resíduo aspartil e um resíduo glutamil.
   (C) o grupo α-aminoterminal e o grupo α-carboxilterminal.
   (D) o grupo amida na ligação peptídica e uma cadeia lateral aspartil.
   (E) os grupos SH de dois resíduos de cisteína.

2. Qual das seguintes respostas mostra a seqüência linear de átomos unidos por ligações peptídicas em um esqueleto peptídico?

   (A) –N–C–C–N–C–C–N–C–C
   (B) –N–C–O–N–C–O–N–C–O
   (C) –N–C–C–O–N–C–C–O–N–C–C–O
   (D) –N–H–C–C–N–H–C–C–N–H–C–C
   (E) –N–H–C–O–H–N–H–C–O–H–N–H–C–C

3. As diferentes preparações de insulina de **Di Abietes** contêm insulina em complexo com protamina que é absorvida lentamente após injeção. A protamina é uma preparação de proteína de sêmen de truta contendo peptídeos ricos em arginina que se ligam à insulina. Qual das seguintes respostas fornece a melhor explicação para a formação de complexo entre protamina e insulina?

   (A) A arginina é um aminoácido básico que se liga a cadeias laterais de aminoácidos carregados negativamente na insulina.
   (B) A arginina é um aminoácido que se liga aos grupos α-carboxílico a no N-terminal das cadeias de insulina.
   (C) A arginina é um aminoácido grande e pesado que forma complexos com leucina e fenilalanina na insulina.
   (D) A arginina forma pontes dissulfeto com os resíduos de cisteína que mantêm as cadeias A e B juntas.
   (E) A arginina tem uma cadeia lateral que forma ligações peptídicas com os terminais carboxil das cadeias de insulina.

4. As proteína-quinases fosforilam proteínas apenas em certos grupos hidroxila das cadeias laterais de aminoácidos. Qual dos seguintes grupos contém todos os aminoácidos que possuem grupos hidroxila como cadeia lateral?

   (A) aspartato, glutamato e serina
   (B) serina, treonina e tirosina
   (C) treonina, fenilalanina e arginina
   (D) lisina, arginina e prolina
   (E) alanina, asparagina e serina

5. Em um único indivíduo, as estruturas primárias das enzimas que catalisam a mesma reação

   (A) são exatamente iguais de tipo celular para tipo celular, embora a quantidade de enzima possa variar.
   (B) permanecem iguais durante toda a vida do indivíduo.
   (C) são idênticas se as enzimas são parálogas.
   (D) são idênticas para todos os membros de uma família de homólogas.
   (E) podem diferir entre diferentes compartimentos celulares da mesma célula.

7 Relações Estrutura-Função nas Proteínas



Doenças podem ser causadas por alterações na estrutura da proteína, afetando a habilidade da proteína de se ligar a outras moléculas e realizar sua função. Elas também podem ser causadas por alterações conformacionais nas proteínas que afetam a solubilidade e a degradação. Na amiloidose AL, cadeias de imunoglobulina formam um agregado protéico insolúvel chamado de amilóide nos órgãos e nos tecidos. A doença de Alzheimer e a polineuropatia amilóide familiar são doenças degenerativas caracterizadas pela deposição de amilóide. As doenças causadas por príons são resultantes dos dobramentos irregulares e da agregação de uma proteína celular normal. Mesmo na anemia falciforme, a mutação na hemoglobina afeta principalmente a estrutura quaternária da hemoglobina e sua solubilidade, e não sua habilidade de se ligar ao oxigênio.

Um número enorme de proteínas diferentes pode ser formado a partir de apenas 20 aminoácidos comuns, pois esses aminoácidos podem ser unidos em uma grande variedade de seqüências determinadas pelo código genético. A seqüência de aminoácidos, sua estrutura primária, determina a maneira como uma proteína se dobra em uma estrutura tridimensional única, a qual é sua conformação nativa. Uma vez dobrada, a estrutura tridimensional de uma proteína forma sítios de ligação para outras moléculas, ditando, assim, a função da proteína no corpo. Além de criar sítios de ligação, uma proteína deve se dobrar de tal maneira que seja flexível, estável, capaz de funcionar no sítio correto nas células e de ser degradada pelas enzimas celulares.

***Níveis de estrutura de proteínas**. A estrutura de proteína é descrita em termos de quatro níveis diferentes: primário, secundário, terciário e quaternário (Figura 7.1). A **estrutura primária** de uma proteína é a seqüência linear de aminoácidos na cadeia polipeptídica. A **estrutura secundária** consiste em regiões locais das cadeias polipeptídicas formadas em estrutura em geral estabilizadas por pontes de hidrogênio, como as estruturas regulares chamadas de hélices α e folhas β. A **rigidez do esqueleto peptídico** determina os tipos de estrutura secundária que podem ocorrer. A **estrutura terciária** envolve o dobramento dos elementos estruturais secundários em uma conformação tridimensional. Nas **proteínas globulares**, como a **mioglobina**, a estrutura terciária em geral forma um **núcleo hidrofóbico** densamente empacotado com cadeias laterais de aminoácidos polares para o lado de fora. Algumas proteínas têm **estrutura quaternária**, a combinação de duas ou mais **subunidades**, cada uma composta de uma cadeia polipeptídica.*

***Domínios e dobras**. A estrutura terciária de uma proteína globular é composta de **domínios** estruturais, regiões da estrutura que são reconhecidas como separadas e se ligam a outros domínios de um modo simples. Com um domínio, uma combinação de elementos estruturais secundários forma uma dobra, como a **dobra de ligação de nucleotídeo,** ou uma **dobra de actina.** As dobras são definidas por sua similaridade em diversas proteínas diferentes.*

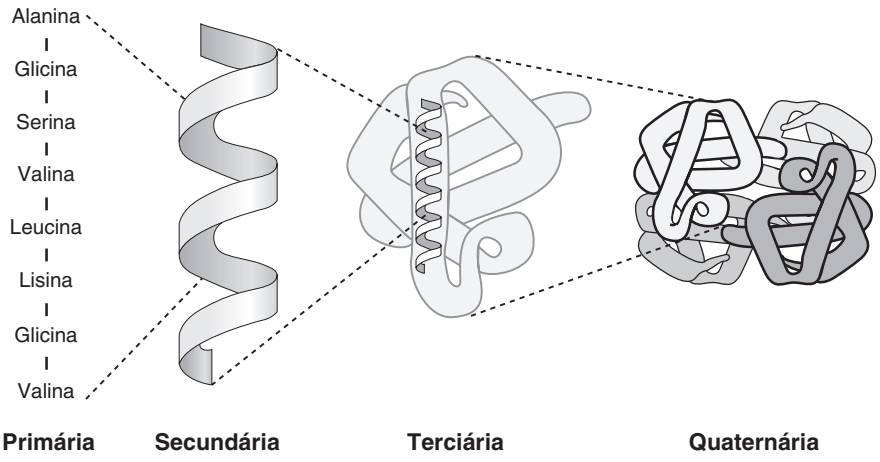


Figura 7.1 Níveis de estrutura em uma proteína.

Estrutura quaternária. *O agrupamento de subunidades polipeptídicas globulares em um complexo de múltiplas subunidades pode fornecer a oportunidade de* ***ligação cooperativa*** *de ligantes (p. ex., ligação de O_2 à hemoglobina), formar* ***sítios de ligação*** *para moléculas complexas (p. ex., ligação de antígeno à imunoglobulina) e aumentar a* ***estabilidade*** *de uma proteína. As cadeias polipeptídicas de* ***proteínas fibrosas,*** *como o* ***colágeno****, são alinhadas ao longo de um eixo, têm elementos repetidos e estão extensivamente ligadas a outras por pontes de hidrogênio.*

Ligação de ligantes*. As proteínas formam sítios de ligação para uma molécula específica, chamada de* ***ligante*** *(p. ex., ATP ou O_2) ou para outra proteína. A afinidade de um sítio de ligação por seu ligante é quantitativamente caracterizada por uma* ***constante de associação*** *ou* ***de afinidade****, K_a (ou sua* ***constante de dissociação,*** *K_d).*

Dobramento de proteínas*. A estrutura primária de uma proteína determina a maneira pela qual ela se dobra em sua estrutura terciária, a qual é uma* ***conformação estável*** *que é idêntica à forma de outras moléculas da mesma proteína (isto é, sua* ***conformação nativa****). As* ***chaperoninas*** *agem como moldes para vencer a barreira cinética para atingir uma conformação estável. As* ***proteínas príons*** *causam doenças neurodegenerativas, agindo como molde para dobramento errado. Calor, ácido e outros agentes causam* ***desnaturação*** *de proteínas, isto é, desdobram ou redobram e desfazem sua conformação tridimensional nativa.*



SALA DE ESPERA



Will Sichel, que tem anemia falciforme, foi reinternado no hospital com sintomas indicando que ele está tendo outra crise falciforme (ver Capítulo 6).



Anne Jeina é uma senhora de 54 anos que chegou ao hospital há quatro dias, aproximadamente cinco horas após ela ter começado a sentir dor no peito (ver Capítulo 6). Na sala de emergência, o médico retirou sangue para medir mioglobina, CK-MB (creatina-quinase, fração músculo-cérebro, do inglês *creatine kinase, muscle brain fraction*) e cTN-T (subunidade T da troponina cardíaca, do inglês *cardiac troponin T subunit*). Os resultados desses testes apoiaram o diagnóstico de um IAM (infarto agudo do miocárdio), e a Sra. Jeina foi hospitalizada.



Amy Lloyd é uma mulher de 62 anos que apresenta fraqueza, fadiga, língua aumentada (macroglossia) e edema. Ela tem sinais e sintomas de insuficiência cardíaca, incluindo anormalidades no eletrocardiograma. Exames laboratoriais iniciais mostraram uma creatinina sérica de 1,9 mg/dL (valores de referência [mulheres] = 0,5 a 1,1), indicando insuficiência renal moderada. Uma análise da urina indicou a presença de uma proteinúria moderada e numerosos leucócitos no sedimento urinário. Ela foi subseqüentemente diagnosticada com amiloidose/AL secundária a uma discrasia de células plasmáticas.



Di Abietes retornou ao consultório de seu médico para uma visita de rotina para monitorar seu tratamento (ver Capítulos 4, 5, e 6). O médico coletou sangue para uma dosagem de HbA_{1C} (pronunciada hemoglobina A-1-c). O laboratório relatou um valor de 8,5%, comparado com um valor de referência normal de 5,8 a 7,2%.



Amiloidose é um termo que engloba muitas doenças que compartilham uma característica em comum – o depósito extracelular patológico de proteínas fibrilares insolúveis chamado de amilóide em órgãos e tecidos. Na doença de **Amy Lloyd**, amiloidose/AL, o amilóide é derivado das cadeias leves das imunoglobulinas (AL = amiloidose, relacionada à cadeia leve).

I. CARACTERÍSTICAS GERAIS DA ESTRUTURA TRIDIMENSIONAL

A conformação geral de uma proteína, a posição particular das cadeias laterais dos aminoácidos no espaço tridimensional, confere a uma proteína sua função.

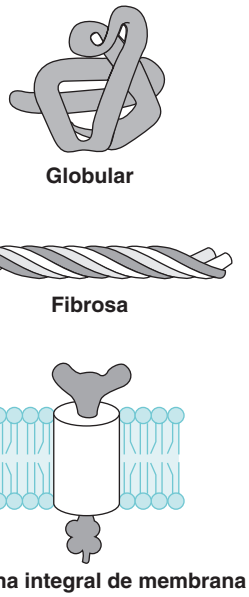


Figura 7.2 Formas gerais das proteínas.

Pré-requisitos de uma Estrutura de Proteína

Função
Ligação específica
Flexibilidade
Solubilidade ou lipofilicidade
Estabilidade
Degradabilidade

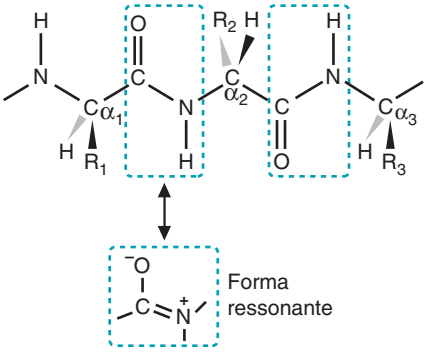


Figura 7.3 O esqueleto peptídico. Devido à natureza ressonante da ligação peptídica, o C e o N das ligações peptídicas formam uma série de planos rígidos. Rotação dentro de ângulos de torção permitidos pode ocorrer em torno das ligações ligadas ao carbono α. As cadeias laterais são *trans* entre si e se alternam acima ou abaixo da cadeia peptídica. A ligação peptídica real é um híbrido entre as formas ressonantes mostradas, resultando em uma carga parcial negativa no oxigênio do grupo carbonila, uma carga parcial positiva no nitrogênio e um caráter de ligação dupla para a própria ligação peptídica.

A. Descrições de Estrutura Protéica

As proteínas em geral são agrupadas em classificações estruturais maiores: proteínas globulares, proteínas fibrosas, proteínas transmembrana e proteínas de ligação de DNA (Figura 7.2). As proteínas globulares em geral são solúveis em meio aquoso e se parecem com bolas irregulares. As proteínas fibrosas são geometricamente lineares, arranjadas em torno de um único eixo e têm uma unidade de estrutura que se repete. Outra classe geral, as proteínas transmembrana, consiste em proteínas que têm uma ou mais regiões alinhadas através da membrana lipídica. As proteínas ligadoras de DNA, em geral classificadas separadamente, são consideradas no Capítulo 16.

A estrutura dessas proteínas com freqüência é descrita de acordo com níveis de estrutura chamados de primário, secundário, terciário e quaternário (ver Figura 7.1). A estrutura primária é a seqüência linear de resíduos de aminoácido ligados por ligações peptídicas para formar uma cadeia polipeptídica. A estrutura secundária se refere a estruturas recorrentes (como a estrutura regular da hélice α) que se formam em pequenas regiões localizadas da cadeia polipeptídica. A conformação tridimensional geral de uma proteína é sua estrutura terciária. A estrutura quaternária é a associação de subunidades polipeptídicas de uma maneira geométrica específica.

B. Pré-Requisitos da Estrutura Tridimensional

A estrutura tridimensional geral de uma proteína deve ter certos pré-requisitos para permitir que a proteína funcione na célula ou em meio extracelular do corpo. O primeiro pré-requisito é a criação de um sítio de ligação que é específico para apenas uma molécula, ou um grupo de moléculas com propriedades estruturais similares. Os sítios de ligação específicos de uma proteína, em geral, definem seu papel. A estrutura tridimensional também deve exibir graus de flexibilidade e rigidez apropriados para sua função. Alguma rigidez é essencial para a criação de sítios de ligação e para uma estrutura estável (ou seja, uma proteína que se dobra em todos os lugares não pode realizar nenhuma função). Contudo, flexibilidade e mobilidade na estrutura tornam a proteína capaz de se dobrar à medida que é sintetizada e se adaptar à medida que se liga a outras proteínas e moléculas menores. A estrutura tridimensional deve ter uma superfície externa apropriada ao ambiente (p. ex., as proteínas citoplasmáticas necessitam manter seus aminoácidos polares na superfície para permanecerem solúveis em um meio aquoso). Além disso, a conformação deve também ser estável, com pequena tendência de sofrer dobramentos novamente em uma forma que não possa realizar sua função ou que precipite na célula. Finalmente, a proteína deve ter uma estrutura que pode ser degradada quando ela é lesada ou não é mais necessária na célula. Quase toda a região na seqüência de aminoácidos, a estrutura primária, participa completando um ou mais desses pré-requisitos pelas propriedades químicas das ligações peptídicas e das cadeias laterais individuais dos aminoácidos.

II. A ESTRUTURA TRIDIMENSIONAL DO ESQUELETO PEPTÍDICO

Os aminoácidos em uma cadeia polipeptídica são seqüencialmente unidos por ligações peptídicas entre o grupo carboxila de um aminoácido e o grupo amino do próximo aminoácido na seqüência (Figura 7.3). Em geral as ligações peptídicas assumem uma configuração *trans* na qual sucessivos carbonos α e seus grupos R estão localizados em lados opostos da ligação peptídica.

O esqueleto polipeptídico pode ser dobrado apenas de modo muito limitado. A própria ligação peptídica é um híbrido de duas estruturas ressonantes, uma das quais tem caráter de ligação dupla, de tal modo que os grupos carboxila e amina que formam a ligação devem, portanto, permanecer em um plano (ver Figura 7.3). Como conseqüência, o esqueleto peptídico consiste em uma seqüência de planos rígidos formados por grupos peptídicos (ver Figura 7.3). Contudo, a rotação dentro de certos ângulos permitidos (ângulos de torção) pode ocorrer em torno do carbono α e do grupo α amino e em torno da ligação entre o carbono α e o grupo carbonila. Essa rotação está sujeita a limitações estéricas que maximizam a distância entre os átomos em diferentes

cadeias laterais de aminoácidos e impedem ângulos de torção (rotação) que colocariam os átomos das cadeias laterais muito próximos uns dos outros. Essas limitações de dobras, as quais dependem dos aminoácidos presentes, limitam as estruturas secundária e terciária que podem ser formadas pela cadeia polipeptídica.

III. ESTRUTURA SECUNDÁRIA

As regiões dentro das cadeias polipeptídicas formam estruturas localizadas, recorrentes conhecidas como estruturas secundárias. As duas estruturas secundárias regulares chamadas de hélice α e folha β contêm elementos repetidos formados por pontes de hidrogênio entre os átomos das ligações peptídicas. Outras regiões da cadeia polipeptídica formam estruturas secundárias não-regulares, não-repetidas conhecidas como alças e enrolamento em hélice.

A. A hélice α

A hélice α é um elemento da estrutura secundária comum de proteínas globulares, domínios transmembrana e proteínas ligadoras de DNA. Ela tem uma conformação rígida que maximiza as pontes de hidrogênio enquanto permanece dentro dos ângulos de rotação permitidos do esqueleto peptídico. O esqueleto peptídico de uma hélice α é formado por pontes de hidrogênio fortes entre cada oxigênio carbonila e hidrogênio da amina (N-H) de um resíduo de aminoácido localizado quatro resíduos adiante na cadeia. Assim, cada ligação peptídica é conectada por pontes de hidrogênio a uma ligação peptídica quatro resíduos de aminoácidos adiante e quatro resíduos de aminoácidos anteriores na seqüência. O núcleo da hélice é muito compactado, maximizando, assim, associações de energia entre os átomos. As cadeias laterais *trans* dos aminoácidos se projetam para trás e para fora da hélice, evitando, assim, a obstrução estérica com o esqueleto peptídico e umas com as outras (Figura 7.5).

B. Folhas β

As folhas β são um segundo tipo regular de estruturas secundárias que maximizam as pontes de hidrogênio entre os esqueletos peptídicos enquanto mantêm os ângulos de torção permitidos. Nas folhas β, as pontes de hidrogênio em geral ocorrem entre regiões de fitas polipeptídicas separadas vizinhas alinhadas paralelamente entre si (Figura 7.6). Assim, o oxigênio carbonila de uma ligação peptídica está ligado ao nitrogênio de uma ligação peptídica na fita adjacente. (Esse padrão contrasta com a hélice α na qual as pontes de hidrogênio do esqueleto peptídico estão dentro da mesma fita.) Pontes de hidrogênio otimizadas ocorrem quando a folha está dobrada para formar folhas β pregueadas.

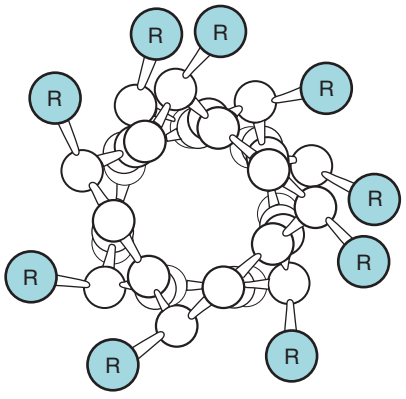


Figura 7.5 Uma visão de cima do eixo de uma hélice α. As cadeias laterais (R) se projetam para fora da hélice. A limitação estérica ocorre se elas invadem os raios de van der Waals mas das outras, e uma hélice estável não pode ser formada.

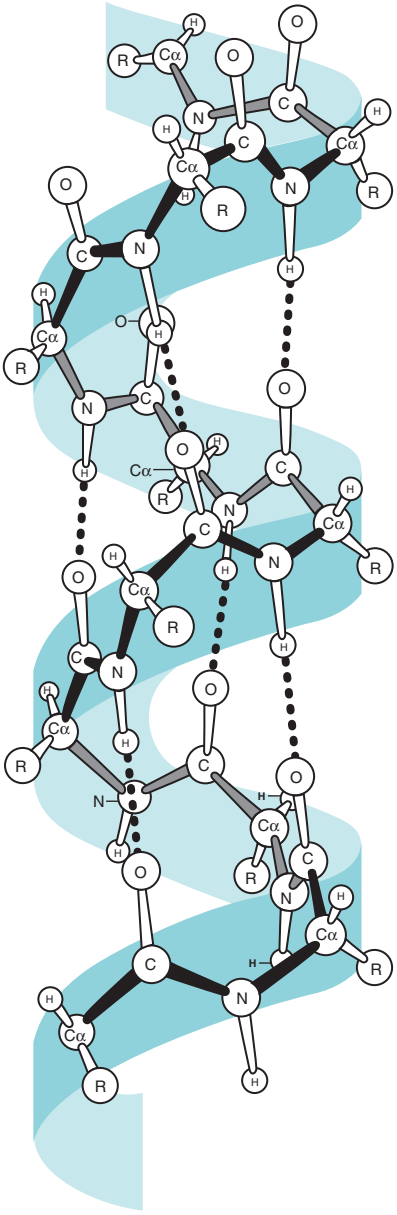


Figura 7.4 A hélice α. Cada oxigênio de grupo carbonila de uma ligação peptídica forma uma ponte de hidrogênio como o átomo de hidrogênio ligado a um átomo de nitrogênio em uma ligação peptídica quatro aminoácidos adiante na cadeia. O resultado é uma estrutura altamente rígida e compacta.

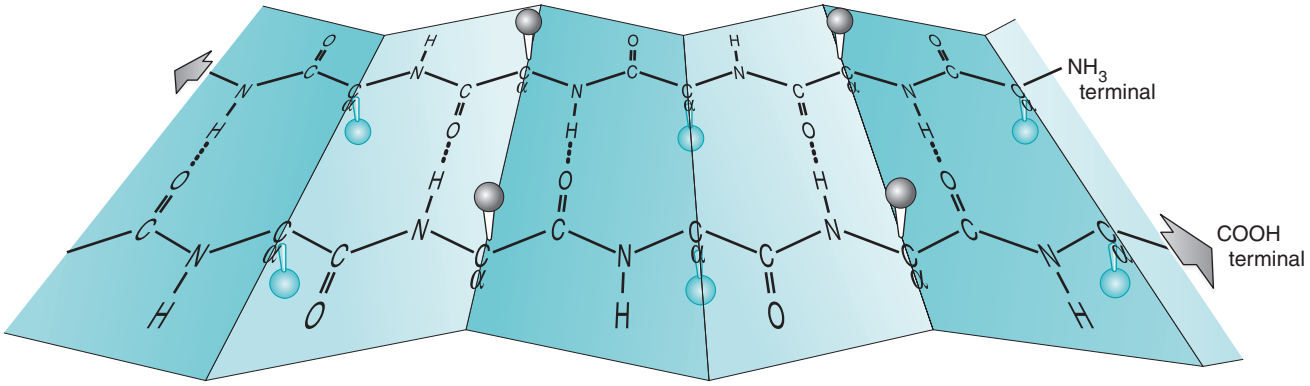


Figura 7.6 Uma folha β pregueada. Nesse caso, as cadeias estão orientadas em direções opostas (antiparalelas). As setas grandes mostram a direção carboxila terminal. As cadeias laterais dos aminoácidos (R) em uma fita são *trans* umas com as outras e se alternam acima e abaixo do plano da folha, a qual pode ter uma face hidrofóbica e uma face polar que se envolve em pontes de hidrogênio.

Uma biópsia renal utilizada no diagnóstico da doença de **Amy Lloyd** mostrou depósitos amorfos nos glomérulos. Quando corados com vermelho do Congo, esses depósitos ficaram vermelhos ao microscópio óptico comum e exibiram fluorescência verde-maçã quando visualizados com luz polarizada. Essa coloração é característica da estrutura de fibrila amilóide, a qual é composta por folhas β repetidas alinhadas de modo ortogonal (perpendicular) ao eixo da fibra.

Diversas doenças envolvem a deposição de uma fibra amilóide característica. Contudo, em cada uma dessas doenças, o amilóide é derivado de uma proteína diferente que modificou sua conformação (estrutura tridimensional) para a estrutura amilóide de folhas β repetidas. Uma vez iniciada a deposição amilóide, ela parece avançar rapidamente, como se a própria fibrila promovesse a formação e a deposição de mais fibrilas (um fenômeno chamado de "semeadura"). As diferenças clínicas em cada uma dessas doenças resultam das diferenças na função da proteína nativa e no sítio de deposição.

A folha β pregueada é descrita como paralela se as fitas polipeptídicas correm na mesma direção (como definido pelos seus terminais amino e carboxila) e antiparalela se elas correm em direções opostas. As fitas antiparalelas com freqüência são a mesma cadeia polipeptídica dobrada sobre si mesma, com curvas muito fechadas, em forma de grampos de cabelo, ou longas conectando as fitas. As cadeias laterais dos aminoácidos de cada fita polipeptídica se alternam para cima e para baixo no plano da folhas β (ver Figura 7.6). As folhas paralelas tendem a ter resíduos hidrofóbicos em ambos os lados das folhas; em geral têm um lado hidrofóbico e um lado hidrofílico. Freqüentemente, as folhas giram em uma direção.

C. Estruturas Secundárias Não-Repetitivas

Hélices α e folhas β pregueadas são padrões de estruturas regulares com elementos de repetição, a volta de uma hélice ou uma prega. Em contraste, dobras, alças e giros são estruturas secundárias não-regulares que não têm um elemento repetitivo. Elas são caracterizadas por uma alteração abrupta de direção e com freqüência são encontradas na superfície de proteínas. Por exemplo, rotações β são pequenas regiões em geral envolvendo quatro resíduos de aminoácidos sucessivos. Eles freqüentemente conectam fitas antiparalelas de folhas β (Figura 7.7). A superfície de proteínas globulares em geral tem pelo menos uma alça ômega, uma estrutura com o pescoço semelhante à letra grega ômega maiúscula, Ω.

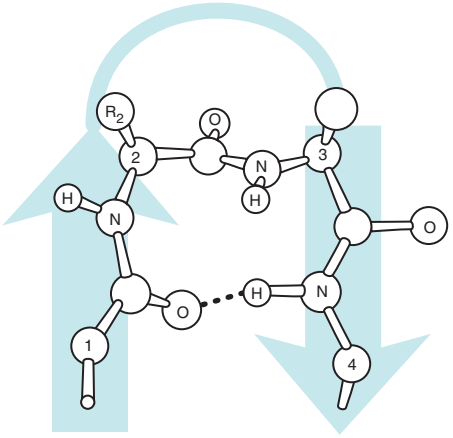


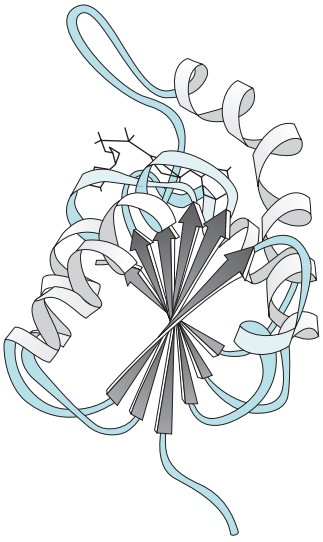
Figura 7.7 Rotação β. Os quatro resíduos de aminoácidos que formam a rotação αβ (também chamada de curva em grampo de cabelo) são mantidos juntos por pontes de hidrogênio, as quais tornam essa uma estrutura extremamente estável.

D. Padrões de Estruturas Secundárias

A Figura 7.8 é um desenho tridimensional de um domínio globular da enzima lactato-desidrogenase (LDH). Ele ilustra a combinação de elementos de estrutura secundária que formam padrões. Esse domínio da LDH é típico de proteínas globulares, as quais têm em média 31% de estrutura hélice α e cerca de 28% de folhas β pregueadas (com um amplo espectro de variação). As hélices dos domínios globulares estão a uma distância de cerca de 12 resíduos, correspondendo a 3 a 4 voltas da hélice, embora muitas sejam muito mais longas. As folhas β, representadas em diagramas por uma seta para cada fita, têm em média 6 resíduos de comprimento e 6 fitas de largura (2 a 15 fitas). Como as folhas β no domínio da lactato-desidrogenase, elas em geral giram para esquerda em vez de ficarem planas (ver Figura 7.8). A maioria dos domínios globulares, como esse domínio LDH, também contém motivos. Motivos são arranjos relativamente pequenos de estrutura secundária reconhecidos em muitas proteínas diferentes. Por exemplo, certas fitas β estão conectadas com hélices α para formar motivos estruturais βα βα β.

Os segmentos polipeptídicos remanescentes conectando as hélices e folhas β são chamados de conformações em alça ou enrolamentos em hélice (ver Figura 7.8). Embora alguns dos segmentos reconhecidos em muitas proteínas recebam nomes (como a alça Ω), outros segmentos, como aqueles no domínio LDH, aparecem de modo desordenado ou irregular. Essas regiões não-regulares em geral chamadas de enrolamentos em hélice, nunca devem ser referidas como "enrolamentos em hélice ao acaso". Elas não são verdadeiramente nem desordenadas nem aleatórias; elas são estabilizadas por pontes de hidrogênio específicas determinadas pela seqüência primária da proteína e não variam de uma molécula da proteína para outra da mesma proteína.

As voltas, os enrolamentos não-regulares e outros segmentos em geral são mais flexíveis do que as hélices relativamente mais rígidas e do que as folhas β pregueadas. Elas freqüentemente formam regiões de dobra que permitem a segmentos da cadeia polipeptídica se moverem à medida que um composto se liga ou que a proteína se dobra em torno de outra molécula.



Domínio 1 da lactato-desidrogenase

Figura 7.8 Desenho em fita mostrando o arranjo de estruturas secundárias em um padrão tridimensional no domínio 1 da lactato-desidrogenase. As fitas polipeptídicas individuais nas folhas β de seis fitas são mostradas com setas. Fitas diferentes são conectadas por hélices e por estruturas não-repetitivas (rotações, voltas e enrolamentos), mostradas em azul. Esse domínio é a dobra de ligação de nucleotídeo. NAD^+ se liga a um sítio criado pelas hélices (no alto à esquerda na figura). (Modificada de Richardson JS. Adv Proteína Chem. *The anatomy and taxonomy of protein structure* 1981;34: 167).

Embora em geral seja assumido que as proteínas possam realmente ter regiões desordenadas, quanto mais se aprende sobre a estrutura das proteínas, menos desordenadas parecem essas regiões. Mesmo regiões que parecem verdadeiramente desordenadas podem formar um sítio de ligação específico para outra molécula (p. ex., a região C-terminal intracelular de proteínas transmembrana). Eventualmente, todas as regiões de todas as proteínas podem ser classificadas como um padrão particular.

Flexibilidade é uma das características mais importantes da estrutura de proteínas. Embora cada porção de cada aminoácido em uma proteína esteja envolvida em se ligar com o resto da proteína, com água ou com um ligante, proteínas não têm estruturas rígidas. A estrutura tridimensional é flexível e dinâmica, com movimentos rápidos de flutuação na posição exata de cadeias laterais de aminoácidos e domínios. Essas flutuações são como tremores ou vibrações que podem ocorrer sem desnaturação. Elas permitem que íons e água se difundam através da estrutura e fornecem conformações alternativas para a ligação de ligantes.

IV. ESTRUTURA TERCIÁRIA

A estrutura terciária de uma proteína é o padrão de dobramento dos elementos da estrutura secundária em uma conformação tridimensional, como mostrado para o domínio LDH na Figura 7.8. Como ilustrado com exemplos a seguir, essa estrutura tridimensional é designada para permitir todos os aspectos da função da proteína. Ela cria sítios de ligação específicos e flexíveis para ligantes (os compostos que se ligam), ilustrados com actina e mioglobina. A estrutura terciária também mantém resíduos na superfície apropriados para a localização celular da proteína, resíduos polares para proteínas citosólicas e resíduos hidrofóbicos para proteínas transmembrana (ilustrados com o receptor β_2-adrenérgico).

A. Domínios na Estrutura Terciária

A estrutura terciária de proteínas grandes e complexas com freqüência é descrita em termos das regiões fisicamente independentes chamadas de domínios estruturais. Em geral, pode-se identificar domínios por meio do exame visual de uma figura tridimensional de uma proteína, como a estrutura tridimensional da actina G mostrada na Figura 7.9. Cada domínio é formado por uma seqüência contínua de aminoácidos na cadeia polipeptídica que estão dobrados em uma estrutura tridimensional independentemente do resto da proteína, e dois domínios estão conectados por uma estrutura mais simples semelhante a uma alça (p. ex., a região de dobra da Figura 7.9). As características estruturais de cada domínio podem ser discutidas independentemente de outro domínio na mesma proteína, e as características estruturais de um domínio podem não ser iguais às de outro domínio na mesma proteína.

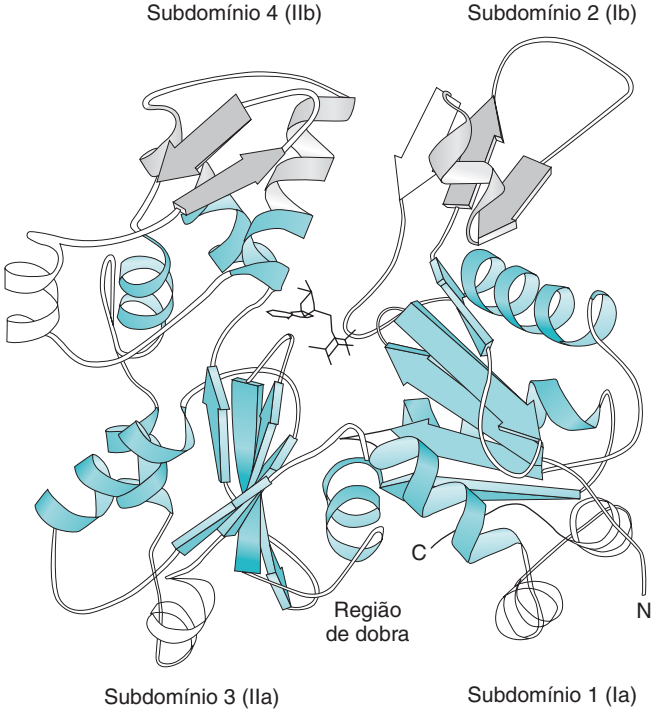


Figura 7.9 Actina G. O ATP se liga no centro da fenda. Os dois domínios que formam a fenda são, ainda, divididos em subdomínios 1 a 4. A estrutura geral é encontrada em proteínas que ligam ATP e é chamada de dobra de actina. As conformações das regiões mostradas em azul são quase superponíveis entre as proteínas que contêm a dobra de actina. (De Kabsch W, Holmes KC. The actin fold. FASEB J 1995:9:167-174.)

B. Dobras nas Proteínas Globulares

Dobras são padrões relativamente grandes de estrutura tridimensional que têm sido reconhecidos em muitas proteínas, incluindo proteínas de diferentes ramos da árvore filogenética. Uma atividade característica está associada a cada dobra, como ligação e hidrólise de ATP (a dobra de actina) ou ligação de NAD^+ (a dobra de ligação de nucleotídeo). Esses três exemplos de padrão de dobramento são discutidos a seguir.

1. A DOBRA DE ACTINA

No desenho tridimensional da actina G mostrado na Figura 7.9, todos os quatro subdomínios contribuem para um padrão de dobramento chamado de dobra de actina, a primeira proteína na qual foi descrito. O ATP se liga no meio da fenda de actina por resíduos de aminoácidos de domínios de ambos os lados; assim, a ligação de ATP promove uma alteração conformacional que fecha a fenda. Uma vez ligado, o ATP é quebrado em ADP e fosfato.

A dobra de actina é encontrada em proteínas tão diversas como actina, a qual polimeriza para formar o citoesqueleto; proteína de choque térmico (hsp 70, do inglês *heat shock protein* 70), a qual usa energia do ATP para alterar a conformação de outras proteínas, e hexoquinase, a qual catalisa a fosforilação de glicose (ver Capítulo 8 para mais discussão sobre a hexoquinase). Embora essas proteínas tenham pouca identidade de seqüência, os desenhos tridimensionais de suas dobras de actina são quase superponíveis. A quantidade de identidade de seqüência que elas têm é consistente com os membros da mesma família de dobra e estabelece que são homólogas da mesma proteína ancestral. Em todas essas proteínas, a ligação de ATP resulta em grandes alterações conformacionais que contribuem para a função da proteína.



Mais de 1.000 dobras foram reconhecidas atualmente, e está previsto que existam apenas uns poucos milhares de dobras diferentes para todas as proteínas que já existiram. Uma das vantagens em classificar proteínas em padrões de dobra é que uma função específica, como ligação e hidrólise de ATP, está associada a cada dobra. Atualmente, a estrutura primária de muitas proteínas envolvidas em doenças hereditárias é conhecida sem que se saiba a função da proteína. Contudo, a função de um domínio em uma proteína pode ser predita se sua seqüência de aminoácidos puder ser comparada àquela de outras proteínas em uma família de dobras com uma função conhecida. A classificação de proteínas em famílias de dobras também pode ser útil para o desenvolvimento de fármacos. A estrutura de uma proteína bacteriana que é alvo de um fármaco pode ser comparada com aquela das proteínas humanas na mesma família de dobra, de tal modo que um fármaco antibacteriano pode ser projetado para ser contra a proteína bacteriana de forma mais específica.

2. A DOBRA DE LIGAÇÃO DE NUCLEOTÍDEOS

Uma dobra também pode ser formada por um domínio. No exemplo de estruturas secundárias fornecido pela lactato-desidrogenase (ver Figura 7.8), o domínio 1 sozinho forma a dobra de ligação de nucleotídeo. Essa dobra é um sítio de ligação para NAD^+ ou, em outras proteínas, moléculas com uma estrutura geral semelhante (p. ex., riboflavina). Contudo, muitas proteínas que ligam NAD^+ ou $NADP^+$ contêm uma dobra muito diferente de uma família de dobra separada. Essas duas dobras diferentes de ligação de NAD^+ se originam de linhas ancestrais diferentes e têm estruturas diferentes, mas propriedades e função semelhantes. Acredita-se que elas sejam produtos de evolução convergente.



As subunidades de actina G polimerizam para formar actina F, a qual forma o citoesqueleto (ver Capítulo 10). A alteração conformacional causada pela ligação de ATP às subunidades de actina G promove a sua adição às extremidades crescentes dos polímeros de actina F. A hidrólise de ATP ligado a ADP pelas subunidades de actina G promove a dissociação.

C. A Solubilidade de Proteínas Globulares em um Ambiente Aquoso

A maioria das proteínas globulares é solúvel na célula. Em geral, o núcleo de um domínio globular tem um alto conteúdo de aminoácidos com cadeias laterais apolares (val, leu, ile, met e phe), fora de contato com o meio aquoso. Esse núcleo hidrofóbico é densamente compactado para maximizar as forças de atração de van der Waals, as quais são exercidas em distâncias muito curtas. As cadeias laterais de aminoácidos polares (arg, his, lys, asp e glu) em geral estão localizadas na superfície da proteína, onde formam pares iônicos (ligações salinas) ou estão em contado com solventes aquosos. As cadeias laterais carregadas freqüentemente se ligam a íons inorgânicos (p. ex., K^+, PO_4^{3-} ou Cl^-) para diminuir a repulsão entre cargas semelhantes. Quando aminoácidos carregados estão localizados no interior, em geral estão envolvidos na formação de sítios de ligação específicos. As cadeias laterais de aminoácidos polares não-carregados de ser, thr, asn, gIn, tyr e trp em geral são encontradas na superfície da proteína, mas podem ocorrer no interior, ligadas por pontes de hidrogênio a outras cadeias laterais. Embora pontes dissulfídicas de cistina (a ligação formada por dois grupos sulfidrila de cisteína) algumas vezes estejam envolvidas na formação de estruturas terciárias, em geral não são necessárias.

Muitas características do receptor da adrenalina (β_2-adrenérgico) são típicas de receptores hormonais. Cada alça extracelular é na verdade um domínio estrutural, mas várias alças juntas formam o sítio de ligação do hormônio. O sítio de ligação algumas vezes é referido como um domínio de ligação (um domínio funcional), embora não seja formado por um segmento contínuo da cadeia polipeptídica. A extremidade aminoterminal (resíduos 1 a 34) se estende para fora da membrana e tem oligossacarídeos de manose altamente ramificados unidos por ligações *N*-glicosídicas à amida da asparagina. Ela está ancorada à membrana plasmática por um grupo palmitoil (mostrado como uma linha em ziguezague, em preto, na Figura 7.10) que forma um tioéster com o radical SH de uma cisteína. A extremidade COOH, a qual se estende para o citoplasma, tem diversos sítios de fosforilação de serina e treonina (mostrados em círculos azuis na Figura 7.10).

D. Estrutura Terciária de Proteínas Transmembrana

As proteínas transmembrana, como o receptor β_2-adrenérgico, contêm domínios dentro da membrana e domínios intra e extracelular nos dois lados da membrana (Figura 7.10). Muitas proteínas de canais iônicos, proteínas de transporte, receptores de neurotransmissores e receptores de hormônios contêm segmentos através da membrana semelhantes que são hélices α com resíduos hidrofóbicos expostos à bicamada lipídica. Essas hélices rígidas estão conectadas por alças contendo cadeias laterais de aminoácidos hidrofílicos que se estendem para o meio aquoso dos lados da membrana. No receptor β_2-adrenérgico, as hélices se agrupam de tal modo que a alça extracelular forma uma superfície que age como sítio de ligação para o hormônio epinefrina (adrenalina), o hormônio de luta ou fuga. O sítio de ligação algumas vezes é referido como um domínio de ligação (um domínio funcional), embora não seja formado por um segmento contínuo da cadeia polipeptídica. Uma vez que a adrenalina se liga ao receptor, uma alteração conformacional no arranjo das estruturas helicais rígidas é transmitida para os domínios intracelulares que formam um sítio de ligação para outra proteína sinalizadora, uma proteína G heterotrimérica (uma proteína de ligação de trifosfato de guanosina [GTP] composta de três subunidades diferentes). Assim, os receptores necessitam de rigidez e flexibilidade para transmitir sinais através da membrana celular.

Como discutido no Capítulo 6, as proteínas transmembrana em geral têm diversas modificações pós-tradução que fornecem grupos químicos adicionais para completar os pré-requisitos da estrutura tridimensional. A extremidade aminoterminal (resíduos 1 a 34) se estende para fora da membrana e tem oligossacarídeos de manose altamente ramificados unidos por ligações *N*-glicosídicas à amida da asparagina (ver Figura 7.10). Ela está ancorada à membrana plasmática por um grupo palmitoil que forma um tioéster com o resíduo SH de uma cisteína. A extremidade COOH, a qual se estende para o citoplasma, tem um número maior de sítios de fosforilação de serina e treonina (mostrados como círculos azuis) que regulam a atividade do receptor.

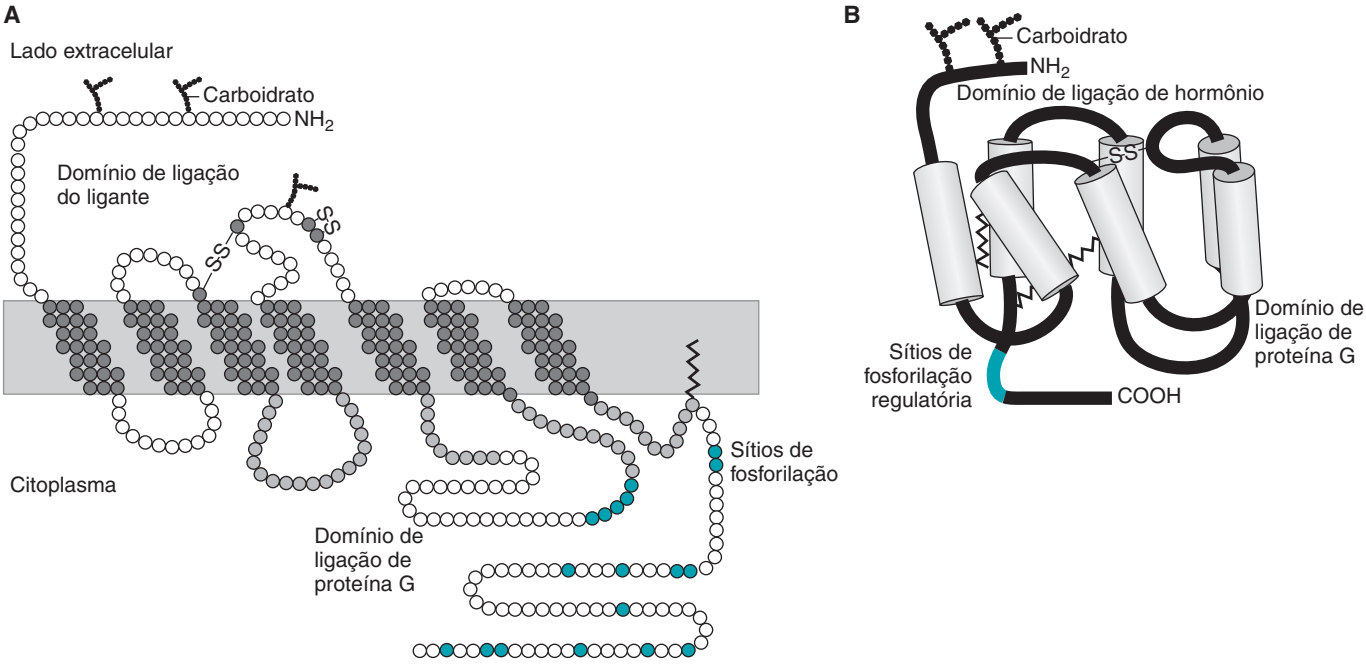


Figura 7.10 Receptor β_2-adrenérgico. O receptor tem domínio de sete hélices α que se estendem pela membrana e é, então, membro da classe hepta-helical de receptores. **A.** Os domínios transmembrana estão desenhados de uma forma estendida. **B.** As sete hélices transmembrana (mostradas como tubos) formam uma estrutura cilíndrica. As alças conectando as hélices formam os sítios de ligação do hormônio no lado externo da membrana plasmática, e um sítio de ligação para uma proteína G está no lado intracelular. A proteína também contém cadeias de oligossacarídeos, grupos palmitoil e sítios de fosforilação (mostrados em azul; ver Capítulo 6).

V. ESTRUTURA QUATERNÁRIA

A estrutura quaternária de uma proteína se refere à associação de subunidades individuais de cadeias polipeptídicas em uma maneira estequiometricamente específica. Muitas proteínas funcionam nas células como dímeros, tetrâmeros ou oligômeros, proteínas nas quais duas, quatro ou mais subunidades respectivamente se combinaram para fazer uma proteína funcional. As subunidades de uma proteína particular sempre se combinam com o mesmo número e na mesma maneira, pois as ligações entre as subunidades é determinada pela estrutura terciária, que é determinada pela estrutura primária, que é determinada pelo código genético.

Diversos termos diferentes são utilizados para descrever a estrutura de subunidade. Os prefixos "homo" ou "hetero" são utilizados para descrever subunidades idênticas ou diferentes, respectivamente, de 2, 3 ou 4 subunidades de proteínas (p. ex., proteínas G heterotriméricas têm três subunidades diferentes). Um protômero é uma unidade de estrutura composta por subunidades não-idênticas. Em contraste, a actina F é um oligômero, uma proteína de múltiplas subunidades composta por subunidades idênticas de actina G. "Multímeros" algumas vezes é utilizado como um termo mais genérico para designar um complexo com muitas subunidades de mais de um tipo.

As regiões de contato entre as subunidades de proteínas globulares lembram o interior de uma única subunidade de proteína; elas contêm cadeias laterais estreitamente compactadas, pontes de hidrogênio envolvendo os esqueletos peptídicos e suas cadeias laterais e ocasionalmente ligações iônicas ou pontes salinas. As subunidades de proteínas globulares muito raramente são mantidas juntas por pontes dissulfídicas intercadeias, e nunca por outras ligações covalentes. Em contraste, proteínas fibrosas e outras estruturas podem ser extensamente ligadas a outras proteínas por ligações covalentes.

O agrupamento em uma estrutura de múltiplas subunidades aumenta a estabilidade de uma proteína. O aumento no tamanho aumenta o número de possíveis interações entre resíduos de aminoácidos e, portanto, torna mais difícil para uma proteína se desdobrar e se dobrar novamente. Como resultado, muitas proteínas solúveis são compostas de duas ou quatro subunidades idênticas ou quase idênticas com um tamanho médio de aproximadamente 200 aminoácidos.

Uma estrutura de múltiplas subunidades tem muitas vantagens além de aumentar a estabilidade. Ela pode tornar a proteína capaz de exibir cooperatividade entre as subunidades ao ligar o ligante (ilustrado mais adiante com a hemoglobina) ou formar sítios de ligação com uma alta afinidade por moléculas grandes (ilustrado com a ligação de antígeno à molécula de imunoglobulina IgG). Uma vantagem adicional de uma estrutura de múltiplas subunidades é que as subunidades diferentes podem ter atividades diferentes e cooperar em uma função comum. Exemplos de enzimas que têm subunidades regulatórias ou existem como complexos multiprotéicos são fornecidos no Capítulo 9.



A insulina é composta por duas cadeias polipeptídicas não-idênticas ou por pontes dissulfídicas entre as cadeias (ver Capítulo 6, Figura 6.13). As subunidades de proteínas globulares em geral não são mantidas juntas por pontes dissulfídicas, mas regiões da mesma cadeia podem estar conectadas por pontes dissulfídicas que se formam à medida que a cadeia se dobra. A insulina na verdade se encaixa nessa generalização, pois é sintetizada como uma cadeia polipeptídica única, a qual forma pontes dissulfídicas. Subseqüentemente, uma enzima proteolítica nas vesículas secretoras corta a cadeia polipeptídica em duas subunidades não-idênticas. Em geral, cada subunidade da maioria dos protômeros e oligômeros é sintetizada como uma cadeia polipeptídica. Nas proteínas fibrosas, as quais têm uma seqüência de aminoácidos regular algumas vezes repetida, as ligações entre cadeias têm diferentes funções. No colágeno, por exemplo, extensas ligações entre cadeias fornecem grande força tênsil. A estrutura do colágeno é discutida no Capítulo 49 sobre tecido conjuntivo.



A creatina-fosfoquinase (CK), uma das proteínas medidas para acompanhar o infarto do miocárdio de **Ann Jeina** (ver Capítulo 6), está presente nas células como dímeros (duas subunidades). Os dímeros podem ser homodímeros (duas subunidades idênticas da isoenzima M [músculo] ou da isoenzima B [cérebro]) ou heterodímeros (MB). A isoenzima MB é produzida apenas pelo coração e é prontamente liberada dos cardiomiócitos lesados para o sangue (ver Capítulo 6).

Níveis séricos de lactato-desidrogenase (LDH) foram anteriormente utilizados para o diagnóstico de IM. A LDH está presente nas células como um tetrâmero de quatro subunidades idênticas ou quase idênticas. Cada subunidade é uma cadeia polipeptídica separada com um peso molecular de 35 kDa (cerca de 35.000 g/mol). Essas subunidades estão presentes como duas isoformas, a isoforma H (de coração, *heart*) e a isoforma M (de músculo esquelético). Embora o coração produza principalmente a isoforma H_4 (quatro subunidades combinadas em um tetrâmero) e o músculo esquelético produza principalmente a isoforma M_4, o coração, o músculo esquelético e outros tecidos produzem diversas combinações intermediárias (p. ex., H_3M, H_2M_2). Essas isoformas tetraméricas têm atividades similares, mas as subunidades individuais são inativas. Medidas de isoenzimas no soro não são mais utilizadas para o diagnóstico de um IM recente devido ao fato de a enzima ser grande, liberada lentamente, e o padrão da isoenzima não ser tão específico para o coração como a CK.

Equação 7.1 A constante de associação para um sítio de ligação em uma proteína.

Considere uma reação na qual um ligante (L) liga-se a uma proteína (P) para formar um complexo proteína-ligante (LP) com uma constante de velocidade k_1. LP se dissocia com uma constante de velocidade k_2.

$$L + P \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} LP$$

Então,

$$k_{eq} = \frac{k_1}{k_2} = \frac{[LP]}{[L][P]} = \frac{K_a}{K_d} = 1$$

A constante de equilíbrio, K_{eq}, é igual à constante de associação (K_a) ou $1/K_d$, a constante de dissociação. A menos que indicado de outra maneira, as concentrações de L, P e LP são expressas como mol/L, e a unidade de K_a é $(mol/L)^{-1}$.

IV. QUANTIFICAÇÃO DA LIGAÇÃO DO LIGANTE

Nos exemplos de estrutura terciária discutidos anteriormente, o dobramento de uma proteína criava um sítio de ligação tridimensional para um ligante (NAD^+ para o domínio 1 da lactato-desidrogenase, ATP para a hexoquinase ou adrenalina para o receptor β_2-adrenérgico). A afinidade de ligação de uma proteína por um ligante é quantitativamente descrita por sua constante de associação, K_a, a qual é a constante de equilíbrio para a reação de ligação de um ligante (L) com uma proteína (P) (Equação 7.1).

K_a é igual à constante de velocidade (k_1) para a associação do ligante aos seus sítios de ligação dividida pela constante de velocidade (k_2) para a dissociação do complexo ligante-proteína (LP). K_d, a constante de dissociação, é o inverso de K_a. Quanto mais forte a ligação do ligante à proteína, maior é a K_a e menor é a K_d. A K_a é útil para as proteínas produzidas por diferentes alelos, ou para descrever a afinidade de um receptor para diferentes fármacos.

VII. RELAÇÕES ESTRUTURA-FUNÇÃO NA MIOGLOBINA E HEMOGLOBINA

Mioglobina e hemoglobina são duas proteínas ligadoras de oxigênio com uma estrutura primária muito semelhante (Figura 7.11). Contudo, a mioglobina é uma proteína globular composta de uma única cadeia polipeptídica que tem um sítio de ligação para O_2. A hemoglobina é um tetrâmero composto de dois tipos diferentes de subunidades (cadeias polipeptídicas 2α e 2β, referidas com protômeros $\alpha\beta$). Cada subunidade tem uma forte homologia de seqüência com a mioglobina e contém um sítio de ligação para O_2. Uma comparação entre mioglobina e hemoglobina ilustra algumas das vantagens de uma estrutura quaternária com múltiplas subunidades.

A estrutura tetramérica da hemoglobina facilita a saturação com O_2 nos pulmões e a liberação de O_2 à medida que passa através dos leitos capilares (Figura 7.12). Quando a quantidade de oxigênio ligado à mioglobina ou à hemoglobina é colocada em um gráfico contra a pressão parcial de oxigênio (pO_2), obtém-se uma curva hiperbólica para a mioglobina, enquanto, para a hemoglobina, a curva é sigmoidal. Essas curvas mostram que, quando a pO_2 é alta, como nos pulmões, a mioglobina e a hemoglobina estão saturadas com oxigênio. Contudo, em níveis mais baixos de pO_2 nos tecidos utilizando oxigênio, a hemoglobina não pode ligar oxigênio, assim como a mioglobina também não pode (ou seja, sua porcentagem de saturação é muito mais baixa). A mioglobina, que está presente no coração e no músculo esquelético, pode ligar o O_2 libera-

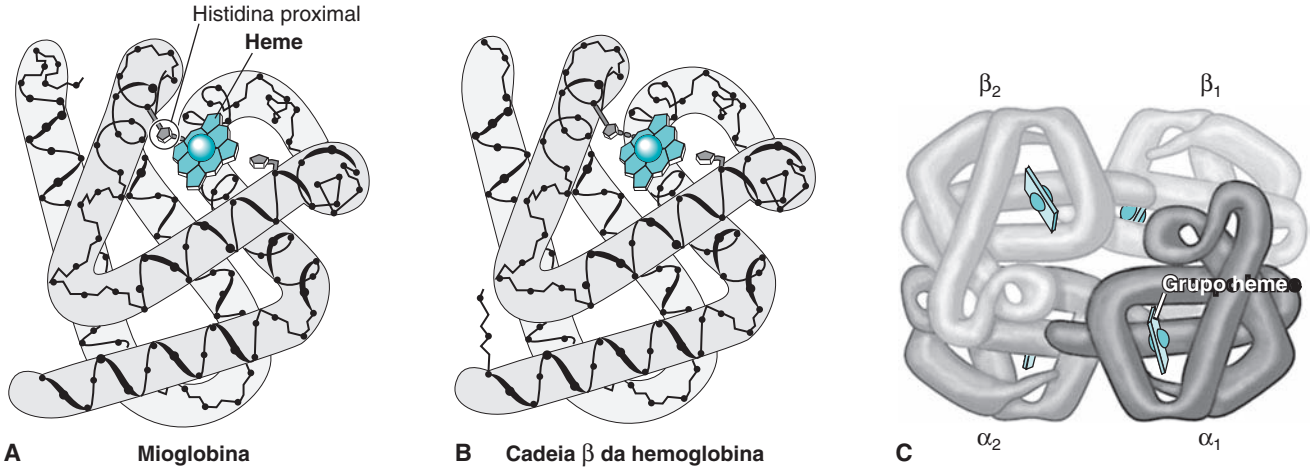


Figura 7.11 Mioglobina e hemoglobina. A mioglobina consiste em uma única cadeia polipeptídica, a qual é semelhante em estrutura às subunidades α e β da hemoglobina. Em todas as subunidades, o heme está fortemente ligado a um bolsão de ligação hidrofóbica. A histidina proximal se estende a partir de uma hélice para se ligar ao átomo de Fe. O oxigênio se liga entre a histidina distal e o heme. O painel C mostra a estrutura quaternária da hemoglobina. (De Frescht A. Structure and Mechanism in Protein Science. New York: WH Freeman and Company, 1999. Utilizada com permissão.)

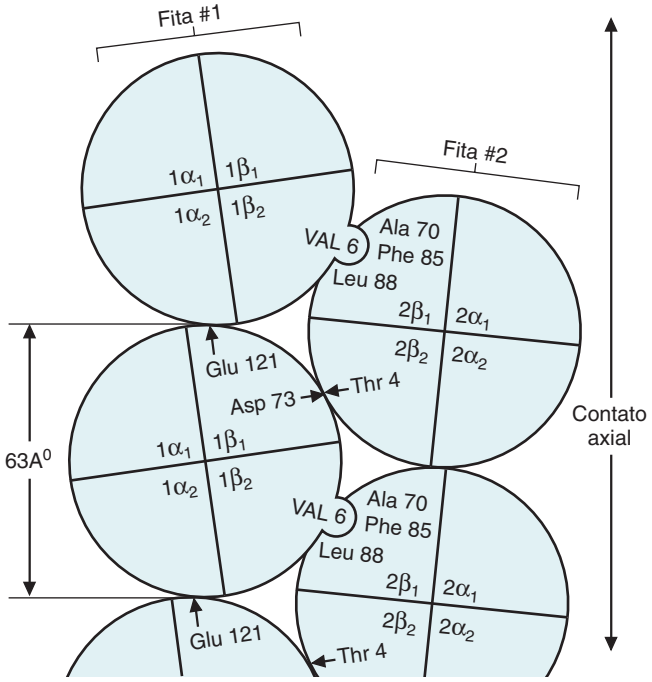
do pela hemoglobina, a qual o armazena para corresponder às demandas da contração. Como O_2 é utilizado na célula muscular para geração de ATP durante a contração, ele é liberado da mioglobina e captado pela citocromo-oxidase, uma enzima contendo heme na cadeia de transporte de elétrons que tem uma afinidade ainda mais alta por oxigênio que a mioglobina.

A. Ligação de Oxigênio e Heme

A estrutura terciária da mioglobina consiste em oito hélices α conectadas por pequenos enrolamentos, uma estrutura conhecida como dobra de globina (ver Figura 7.11). Essa estrutura não é usual para uma proteína globular por ela não ter folhas β. As hélices criam um bolsão de ligação de O_2 hidrofóbica contendo heme fortemente ligado a um átomo de ferro (Fe^{2+}) em seu centro.

O heme consiste em um anel de porfirina planar composto de quatro anéis pirrólicos que se localizam com seus átomos de nitrogênio no centro, ligando-se a um átomo de Fe^{2+} (Figura 7.13).

A anemia falciforme é, na verdade, uma doença causada por um erro de estrutura quaternária. As crises vaso-oclusivas sofridas por **Will Sichel** são causadas por polimerização de moléculas de HbS em fibras longas que distorcem a forma das células sangüíneas vermelhas em células falciformes. A substituição de uma valina hidrofóbica por um glutamato na cadeia β_2 cria uma saliência na superfície da hemoglobina desoxigenada que se encaixa no bolsão de ligação hidrofóbica na subunidade β_1 de uma molécula de hemoglobina diferente. Uma terceira molécula de hemoglobina, a qual se liga à primeira e à segunda moléculas por interações polares alinhadas, liga-se a uma quarta molécula de hemoglobina pela saliência de valina. Assim, a polimerização continua até que fibras longas sejam formadas.



A polimerização das moléculas de hemoglobina é altamente dependente da concentração de HbS e é promovida pela conformação das moléculas desoxigenadas. Em 100% de saturação de oxigênio, mesmo altas concentrações de HbS não polimerizarão. Uma célula sangüínea vermelha passa a maior quantidade de tempo em baixas concentrações de oxigênio no leito capilar, onde é mais provável que a polimerização seja iniciada.

A mioglobina é prontamente liberada do músculo esquelético e do tecido cardíaco quando a célula é lesada. Ela tem um peso molecular de 17.000 kDa, e não forma complexos como outras proteínas na célula. (Da é a abreviação de Dálton, a qual é uma unidade de massa aproximadamente igual a um átomo de H. Assim, um peso molecular de 17.000 kDa é igual a cerca de 17.000 g/mol.) Grandes lesões de músculo esquelético resultantes de trauma físico ou falta de produção de ATP resultam em edema celular e na liberação de mioglobina e outras proteínas para o sangue. A mioglobina passa para a urina e a torna vermelha devido ao fato de o heme (o qual é vermelho) permanecer ligado de forma covalente à proteína. Durante um IAM, a mioglobina é uma das primeiras proteínas liberadas do tecido cardíaco lesado. (Contudo, a quantidade liberada não é alta o suficiente para causar mioglobinúria.) Medidas laboratoriais de mioglobina sérica são utilizadas para o diagnóstico precoce em pacientes como **Ann Jeina**. Devido ao fato de a mioglobina não estar presente no músculo esquelético e no coração como isoenzimas tecido-específicas, e a quantidade liberada pelo coração ser muito menor do que a quantidade que pode ser liberada de grandes lesões de músculo esquelético, as medidas de mioglobina não são específicas para um IM.

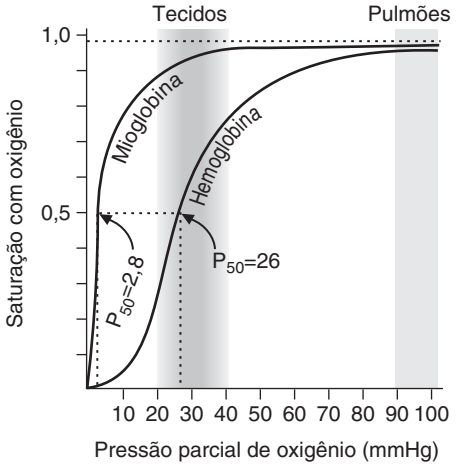
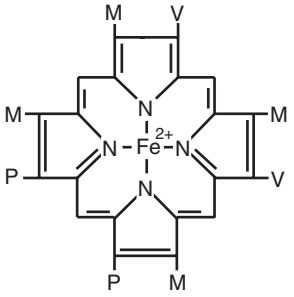


Figura 7.12 Curvas de saturação para mioglobina e hemoglobina. Observe que a curva para a mioglobina é uma hipérbole, enquanto, para a hemoglobina, é uma sigmóide. O efeito da estrutura tetramérica é inibir a ligação de O_2 em baixas concentrações de O_2. P_{50} é a pressão parcial de O_2 (pO_2) na qual a proteína está metade saturada com O_2. P_{50} para a mioglobina é 2,8 e para a hemoglobina é 26.



Heme

Figura 7.13 Heme. O Fe é ligado a quatro átomos de nitrogênio no centro do anel de porfirina heme. As cadeias laterais metil (M, CH_3), vinil (V, –CH = CH_2) e propionato (P, $CH_2CH_3COO^-$) se estendem para fora dos quatro anéis pirrólicos que constituem o anel de porfirina.

Os grupos propionato carregados negativamente no anel de porfirina interagem com as cadeias laterais de arginina e histidina da hemoglobina, e os grupos hidrofóbicos metil e vinil que se estendem para fora do anel de porfirina interagem com as cadeias laterais de aminoácidos da hemoglobina. Todas juntas perfazem aproximadamente 16 interações diferentes entre aminoácidos da mioglobina e grupos diferentes no anel de porfirina.

Ligantes orgânicos que estão fortemente ligados, como o heme da mioglobina, são chamados de grupos prostéticos. Uma proteína com seu grupo prostético ligado é chamada de holoproteína; sem o grupo prostético, é chamada de apoproteína. O grupo prostético fortemente ligado é uma parte intrínseca da proteína e não se dissocia até que ela seja degradada.

O_2 se liga diretamente ao átomo Fe^{2+} no bolsão da mioglobina, em um dos lados do anel planar da porfirina (Figura 7.14). O átomo de Fe^{2+} é capaz de quelar seis ligantes diferentes; quatro das posições de ligantes estão em um plano e são ocupadas pelos nitrogênios centrais no anel planar de porfirina. Duas posições ligantes estão perpendiculares a esse plano. Uma dessas posições é tomada pelo átomo de nitrogênio de uma histidina, chamada de histidina proximal, a qual se estende para baixo da hélice de mioglobina. A outra posição é ocupada por O_2.

A histidina proximal da mioglobina e da hemoglobina é estericamente repelida pelo anel heme da porfirina. Assim, quando a histidina se liga ao Fe^{2+} no meio do anel,

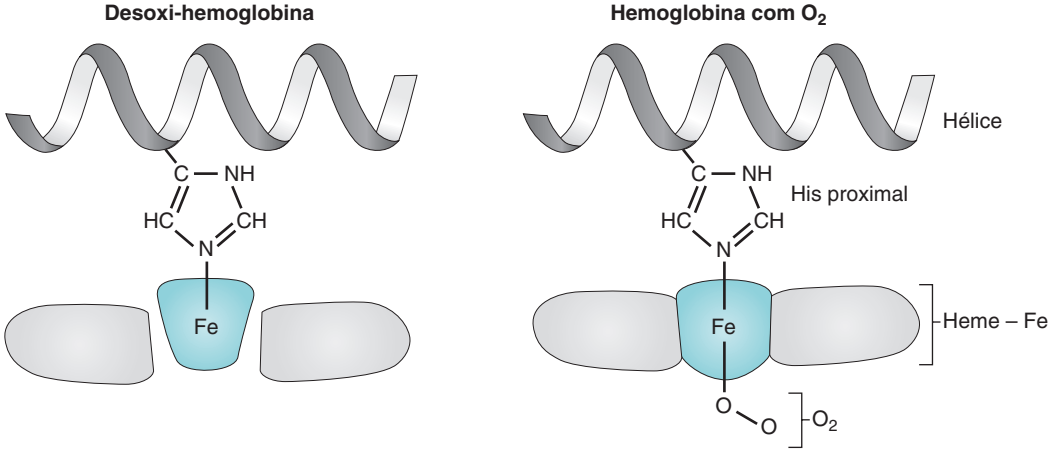


Figura 7.14 Ligação de oxigênio ao Fe^{2+} do heme na mioglobina. Um resíduo de histidina, chamado de histidina proximal, liga-se ao Fe^{2+} em um dos lados do anel de porfirina; O_2 se liga ao Fe^{2+} no outro lado. A ligação de O_2 causa uma alteração conformacional que atrai o Fe^{2+} de volta para o plano do anel. À medida que a histidina proximal se move, ela move a hélice que a contém.

atrai o Fe^{2+} acima do plano do anel. Quando o oxigênio se liga no outro lado do anel, ele atrai o Fe^{2+} de volta. O O_2 ligado desloca a histidina proximal em direção ao anel de porfirina, que move a hélice contendo a histidina proximal. Essa alteração conformacional não tem efeito na função da mioglobina. Contudo, na hemoglobina, o movimento de uma das hélices leva ao movimento de outras hélices naquela subunidade, incluindo a ponta da subunidade que está em contato com uma subunidade diferente através de pontes salinas. A perda dessas pontes salinas inclui, então, alterações conformacionais em todas as outras subunidades, e todas as quatro subunidades podem se modificar de maneira conjunta a partir de suas conformações originais para uma nova conformação.

B. Cooperatividade da Ligação de O_2 na Hemoglobina

A cooperatividade na ligação de oxigênio na hemoglobina ocorre por alterações conformacionais na estrutura terciária que ocorrem quando o O_2 se liga (Figura 7.15). A alteração conformacional da hemoglobina em geral é descrita como uma mudança de um estado T (tenso) com baixa afinidade por O_2 para um estado R (relaxado) com

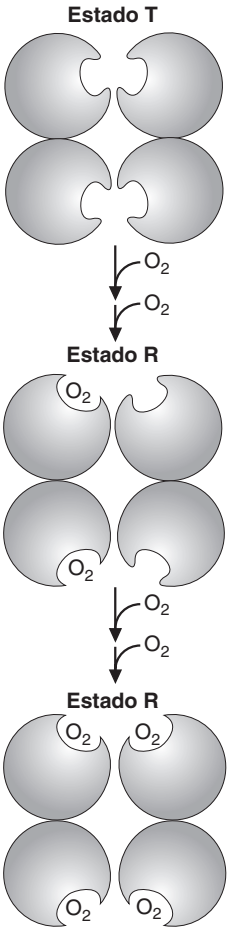


Figura 7.15 Equilíbrio para a ligação de moléculas de O_2 à hemoglobina de acordo com o modelo convencionado de Monod, Wyman e Changeux. A hemoglobina existe em duas conformações alternadas, o estado T (tenso) com baixa afinidade por O_2 e o estado R (relaxado) com alta afinidade. Nas subunidades T, os sítios de ligação estão obstruídos, e, no estado R, os sítios de ligação estão abertos. Cada adição sucessiva de O_2 desloca o equilíbrio em direção ao estado T. Devido ao fato de a conformação de todas as subunidades se alterar quando o O_2 se liga a uma subunidade, a ligação de oxigênio segue o modelo convencionado. A maioria das moléculas se altera para o estado R quando duas moléculas de O_2 se ligam.

A eletroforese de proteínas séricas de **Amy Lloyd** indicou a presença de um pico agudo e estreito ou uma "espica" homogênea na zona característica da γ-globulina, conhecida como um componente de proteína M (proteína monoclonal). Um pico estreito na eletroforese, a qual separa proteínas de acordo com a distribuição de cargas nas cadeias laterais, sugere uma elevação de proteínas com uma estrutura similar ou idêntica. Subseqüentemente, foi mostrado que o componente imunoglobulina M de **Amy Lloyd** era composto de um único tipo homogêneo de imunoglobulina (apenas uma seqüência de aminoácidos na região N-terminal variável). Assim, a proteína M foi produzida por um único clone de células secretoras de anticorpos (células que se originaram da proliferação de uma célula) na medula óssea (chamado de discrasia de células plasmáticas). Na amiloidose, as substituições de aminoácidos específicos na região variável da cadeia leve parecem desestabilizar sua configuração nativa, resultando na gênese de fibrilas.

Na amiloidose de AL, o amilóide é formado a partir da degradação de produtos das cadeias leves λ ou κ que se depositam com mais freqüência na matriz extracelular dos rins e do coração, mas também podem se depositar na língua. Em outros tipos de amiloidose, o amilóide se origina de outras proteínas e se deposita em um órgão característico. Por exemplo, o amilóide associado a condições inflamatórias crônicas, como tuberculose ou artrite reumatóide, é derivado de uma proteína sérica de fase aguda, chamada de amilóide sérico A, que é produzida no fígado em resposta à inflamação. Ela se deposita com mais freqüência nos rins, e envolvimento cardíaco é raro.

alta afinidade por O_2. A quebra de pontes salinas nos contatos entre as subunidades é um processo que requer energia, e, conseqüentemente, a velocidade de ligação para o primeiro oxigênio é muito baixa. Quando o próximo oxigênio se liga, muitas das moléculas de hemoglobina contendo um O_2 já terão todas as quatro subunidades no estado R, e, portanto, a velocidade de ligação é muito maior. Com duas moléculas de O_2 ligadas, uma porcentagem ainda maior das moléculas de hemoglobina terá todas as quatro subunidades no estado R. Esse fenômeno, conhecido como cooperatividade positiva, é responsável pela curva de saturação sigmoidal da hemoglobina (ver Figura 7.12).

VIII. RELAÇÕES ESTRUTURA-FUNÇÃO NAS IMUNOGLOBULINAS

As imunoglobulinas (ou anticorpos) são uma linha de defesa contra a invasão do corpo por organismos estranhos. Nessa capacidade, eles funcionam pela ligação de ligantes chamados de antígenos nos organismos invasores, iniciando, assim, o processo pelo qual esses organismos são inativados e destruídos.

Todas as imunoglobulinas têm uma estrutura similar; cada molécula de anticorpo contém duas cadeias polipeptídicas pequenas e idênticas (as cadeias leves ou L [*light*]) e duas cadeias polipeptídicas grandes e idênticas (as cadeias pesadas ou H [*heavy*]) (Figura 7.16). As cadeias são unidas umas às outras por pontes dissulfídicas.

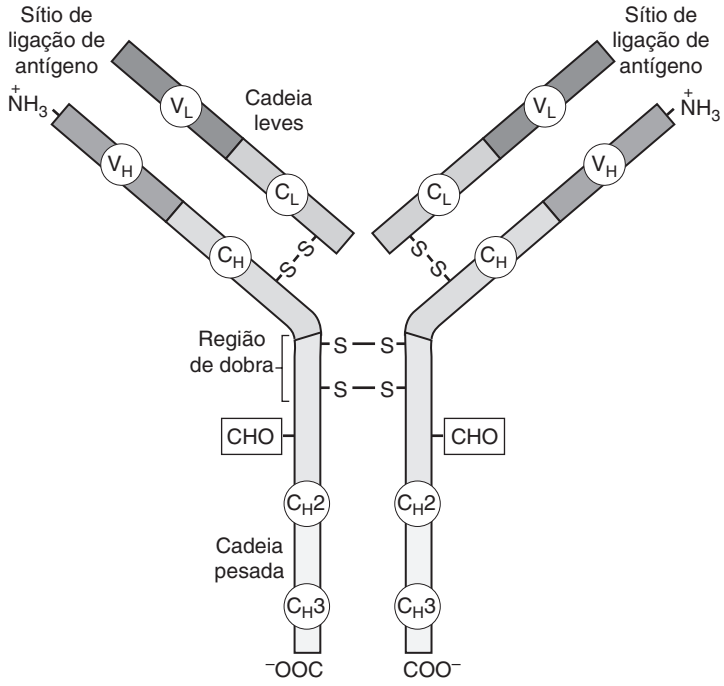
O corpo tem cinco grandes classes de imunoglobulinas. As imunoglobulinas mais abundantes no sangue humano são as γ-globulinas, as quais pertencem à classe IgG. As γ-globulinas têm cerca de 220 aminoácidos em suas cadeias leves e 440 em suas cadeias pesadas. Como a maioria das proteínas séricas, elas têm oligossacarídeos ligados que participam da sinalização para a retirada da proteína do sangue. Tanto a cadeia leve como a pesada consistem em domínios conhecidos como dobra de imunoglobulina, a qual é um barril β formado por diversas folhas β empilhadas (Figura 7.17).

Tanto a cadeia leve como a pesada contêm regiões denominadas variáveis (V) e constantes (C). As regiões variáveis das cadeias L e H (VL e VH, respectivamente) interagem para produzir um sítio de ligação para um único antígeno em cada ramo da molécula em forma de Y. Cada população (clone) de células B produz um anticorpo com uma composição de aminoácidos diferente na região variável que é complementar à estrutura do antígeno que inicia a resposta. O K_d de anticorpo para seus antígenos específicos é extremamente pequeno e varia de aproximadamente 10^{-7} a 10^{-11} M. O antígeno se liga, assim, muito fortemente com quase nenhuma tendência a se dissociar e pode ser removido da circulação à medida que o complexo antígeno-anticorpo é ingerido por macrófagos. Os domínios constantes que formam a parte Fc do anticorpo são importantes para a ligação do complexo antígeno-anticorpo a células fagocíticas para a eliminação e para outros aspectos da resposta imune.

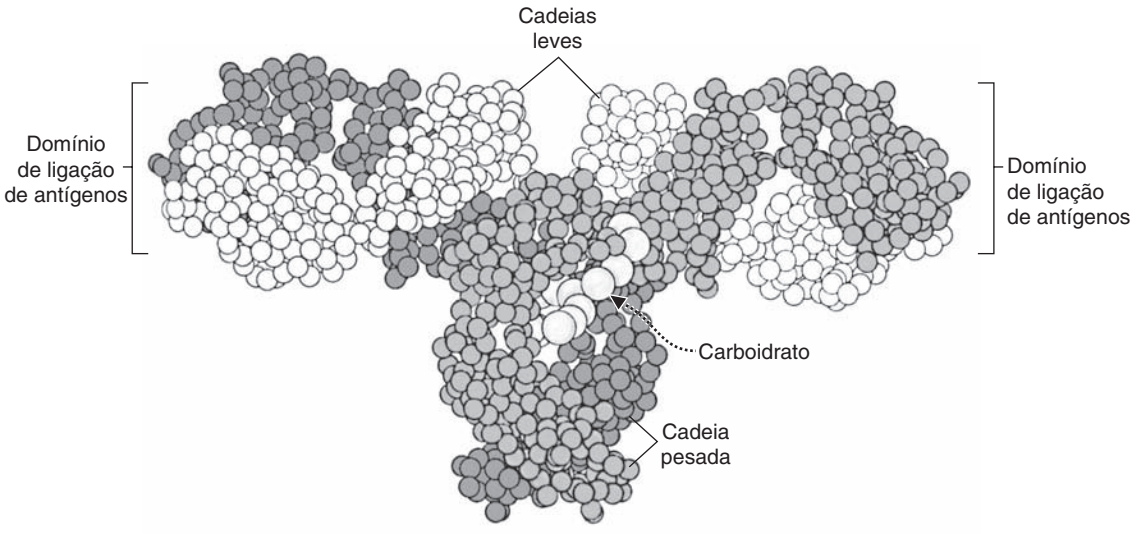
IX. DOBRAMENTO DE PROTEÍNAS

Embora as ligações peptídicas em uma proteína sejam rígidas, a flexibilidade em torno das outras ligações no esqueleto peptídico permite um enorme número de possíveis conformações para cada proteína. Contudo, cada molécula da mesma proteína se enovela na mesma estrutura tridimensional estável. Essa forma é conhecida como conformação nativa.

A forte afinidade de ligação das imunoglobulinas por seus antígenos específicos as torna úteis para a medida de quantidades pequenas de outros compostos em vários radioimunoensaios. O princípio do radioimunoensaio é que a imunoglobulina irá se ligar especificamente com o composto que está sendo medido, e um componente adicional do sistema que é marcado com um elemento radioativo irá se ligar à imunoglobulina. O complexo é, então, separado da solução, e a radioatividade, medida. As diferentes isoenzimas de CK e Tn-T utilizadas para rastrear o IM de **Ann Jeina** são medidas com um tipo de radioimunoensaio pelo uso de anticorpos específicos para cada isoenzima. Esse método é muito mais rápido do que a trabalhosa separação de isoenzimas por eletroforese. Os radioimunoensaios também são úteis para a medida de pequenas quantidades de hormônios presentes no sangue para o diagnóstico de doenças endócrinas.



A **Desenho esquemático**



B **Modelo espacial**

Figura 7.16 Estrutura de imunoglobulinas. **A.** Cada molécula de IgG contém duas cadeias leves (L) e duas pesadas (H) unidas por pontes dissulfídicas. Cada cadeia leve contém dois domínios, um domínio variável (VL) e uma região de seqüência de aminoácidos constante (CL). Cada cadeia pesada tem quatro domínios: um domínio variável (VH) e três domínios constantes (CH). A conformação do domínio constante contém folhas β chamadas de dobra de imunoglobulina. Os domínios variáveis são específicos para o antígeno que está ligado; assim, as regiões constantes são as mesmas para todas as moléculas de anticorpos de uma determinada classe. O carboidrato (CHO) está ligado como indicado dentro da região constante das cadeias pesadas (CH). As regiões de dobra permitem flexibilidade quando a molécula de antígeno se liga. **B.** No modelo espacial, as cadeias leves estão em branco, e as cadeias pesadas estão em dois tons de cinza. (Modificada de Silverton EW, Navia MA, Davies DR, et al. Proc Natl Acad Sci. Three-dimensional structure of an intact human immunoglobulin USA 1977;11:5142.)

Pouca diferença é observada no estado de energia da conformação nativa e de diversas outras conformações que uma proteína pode assumir. Parece que a proteína príon, a causa da doença da vaca louca, é uma proteína celular normal que se reenovelou em uma conformação estável diferente com um estado mais baixo de energia do que sua conformação funcional normal (discutido nos Comentários Bioquímicos a seguir). Se proteínas enoveladas de forma inadequada não se precipitam em agregados, elas podem ser degradadas na célula por reações proteolíticas, ou mesmo reenoveladas.

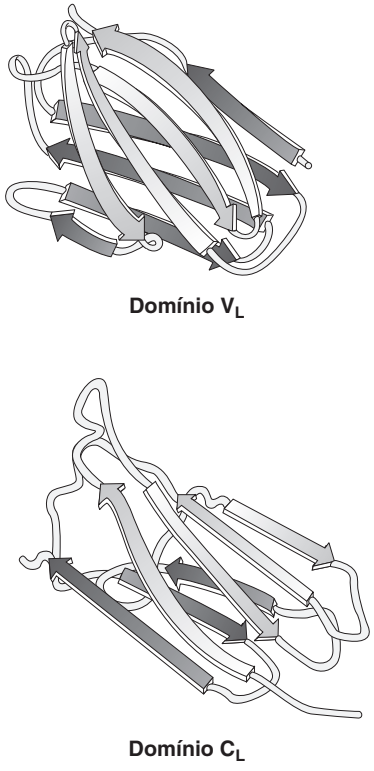


Figura 7.17 Estrutura de domínios VL e CL da IgG. Camadas de folhas β antiparalelas estão empilhadas nesses domínios, os quais têm sido referidos como barril β empilhado. O antígeno se liga entre as dobras de imunoglobulinas VH e VL e não no barril. O domínio CL também é chamado de dobra de imunoglobulina. (Superior modificada de Richardson JS. Adv Protein Chem. The anatomy and taxonomy of protein structure 1981;34:167; inferior impressa em parte com permissão de Edmundson AB, Ely KR, Abola EE, et al. Rational allomerism and divergent evolution of domains in immunoglobin light chains. Biochemistry 1975;14:3954. © 1975 American Chemical Society.)

A. A Estrutura Primária Determina o Enovelamento

A estrutura primária de uma proteína determina sua conformação tridimensional. Mais especificamente, a seqüência das cadeias laterais dos aminoácidos determina o padrão de enovelamento e o agrupamento de subunidades em estrutura quaternária. Sob certas circunstâncias, proteínas desnaturadas podem se reenovelar em sua conformação nativa, recuperando suas funções originais. As proteínas podem ser desnaturadas com solventes orgânicos, como uréia, que rompem as interações hidrofóbicas e tornam a proteína solúvel em um enrolamento ao acaso. Muitas subunidades únicas de proteínas, como a ribonuclease, que são desnaturadas dessa maneira, reenovelam de forma espontânea em sua conformação nativa se forem trazidas cuidadosamente de volta a condições fisiológicas. Mesmo proteínas complexas de múltiplas subunidades contendo co-fatores de ligação algumas vezes podem renaturar sob as condições corretas. Assim, a estrutura primária essencialmente especifica o padrão de enovelamento.

Na célula, nem todas as proteínas se enovelam em sua conformação nativa por si só. À medida que a proteína se enovela e reenovela enquanto procura seu estado nativo de baixa energia, ela passa por muitas conformações de alta energia que tornam o processo lento (chamado de barreiras cinéticas). Essas barreiras cinéticas podem ser vencidas pelo choque térmico das proteínas, as quais utilizam a energia fornecida pela hidrólise do ATP para auxiliar no processo de enovelamento (Figura 7.18). Pro-

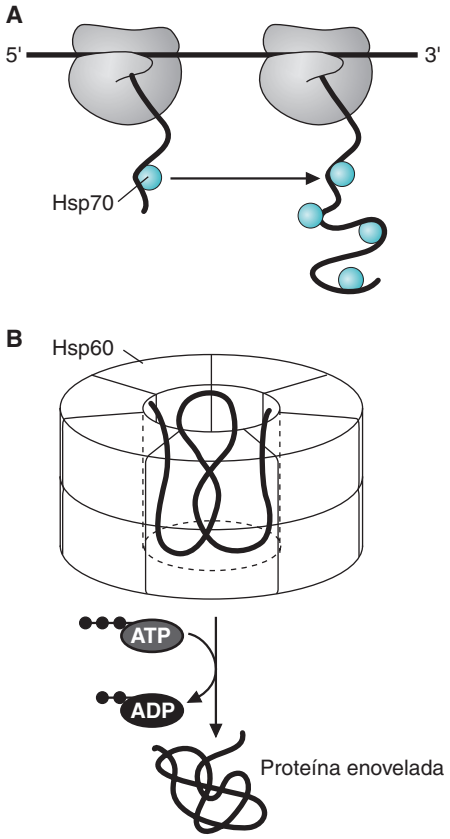


Figura 7.18 Papel das proteínas de choque térmico no enovelamento. **A**. A família de proteínas Hsp70 previne o enovelamento da cadeia nascente e promove o desenovelamento. O domínio ATPase da proteína tem a dobra de actina. **B**. A classe de proteínas Hsp60 tem uma forma de barril na qual a proteína se encaixa. Ela age como molde, ligando e religando porções da proteína desenovelada até que o enovelamento esteja completo. Ela hidrolisa muitas ligações de ATP para fornecer energia para o processo.

teínas de choque térmico são assim chamadas pelo fato de sua síntese em bactérias ter aumentado quando a temperatura foi subitamente elevada. Elas estão presentes nas células humanas como famílias diferentes de proteínas com atividades diferentes. Por exemplo, as proteínas hsp70 se ligam a cadeias polipeptídicas nascentes à medida que sua síntese é completada, para evitar que as cadeias incompletas se enovelem prematuramente. Elas também desdobram proteínas antes de sua inserção através da membrana da mitocôndria e de outras organelas. As subunidades múltiplas em forma de barril da família de proteínas hsp60 são chamadas de chaperoninas. A proteína desdobrada se encaixa na cavidade do barril que exclui água e serve como molde para o processo de enovelamento. A hidrólise de várias moléculas de ATP é utilizada como barreira de energia para alcançar a conformação nativa.

A isomerase *cis-trans* e uma isomerase de dissulfeto participam no enovelamento. A isomerase *cis-trans* converte uma ligação peptídica *trans* precedendo uma prolina na conformação *cis*, a qual é bem adequada para a formação de uma volta em forma de grampo de cabelo. A isomerase de dissulfeto quebra e refaz pontes dissulfídicas entre os grupos –SH de dois resíduos de cisteína em estruturas transitórias formadas durante o processo de enovelamento. Após a proteína ter enovelado, grupos cisteína-SH em contato próximo na estrutura terciária podem reagir para formar as pontes dissulfídicas finais.

B. Desnaturação de Proteínas

1. DESNATURAÇÃO PELA MODIFICAÇÃO NÃO-ENZIMÁTICA DE PROTEÍNAS

Aminoácidos em proteínas podem sofrer uma grande variedade de modificações químicas que não são catalisadas por enzimas, como glicosilação ou oxidação não-enzimática. Tais modificações em geral levam a uma perda de função e à desnaturação da proteína, algumas vezes a uma forma que não pode ser degradada na célula. Na glicosilação não-enzimática, a glicose que está presente no sangue, ou em líquido intersticial ou intracelular, liga-se a um grupo amino exposto de uma proteína (Figura 7.19). O processo de duas etapas forma uma proteína irreversivelmente glicosilada. As proteínas cujo metabolismo é muito lento no corpo, como colágeno ou hemoglobina, existem com uma fração significante presente na forma glicosilada. Devido ao fato de a reação não ser enzimática, a velocidade de glicosilação é proporcional à concentração de glicose presente, e indivíduos com hiperglicemia têm níveis muito mais altos de proteínas glicosiladas do que indivíduos com níveis sangüíneos de glicose normal. Colágeno e outras proteínas glicosiladas nos tecidos ainda são modificados por oxidação não-enzimática e formam ligações cruzadas adicionais. O resultado é a formação de grandes agregados de proteína referidos como AGE (produtos finais avançados da glicosilação, do inglês *advanced glycosylation end-products*). AGE* é um acrônimo com significado, pois AGE se acumulam com a idade, mesmo em indivíduos com níveis de glicose normal.



O médico de **Di Abietes** utilizou os níveis de hemoglobina glicosilada, especificamente a fração HbA_{1c}, para determinar se ela teve hiperglicemia mantida por um longo período de tempo. A velocidade de glicosilação não-enzimática irreversível da hemoglobina e outras proteínas é diretamente proporcional à concentração de glicose a qual elas estiveram expostas nos últimos quatro meses. O perigo de hiperglicemia mantida é que, com o tempo, muitas proteínas se tornam glicosiladas e subseqüentemente oxidadas, afetando sua solubilidade e habilidade para funcionar. A glicosilação de colágeno no coração, por exemplo, parece resultar em uma cardiomiopatia em pacientes com diabetes melito crônico não-controlado. Em contraste, a glicosilação da hemoglobina tem pouco efeito sobre sua função.

2. DESNATURAÇÃO DE PROTEÍNAS POR TEMPERATURA, PH E SOLVENTES

As proteínas podem ser desnaturadas por alterações no pH, na temperatura ou por solventes que rompem ligações iônicas, hidrofóbicas e pontes de hidrogênio. Em um pH baixo, ligações iônicas e pontes de hidrogênio formadas por grupos carboxilato serão rompidas; em um pH muito alcalino, ligações iônicas e pontes de hidrogênio formadas por aminoácidos básicos serão rompidas. Assim, o pH do corpo deve ser mantido dentro de uma variação compatível com estrutura tridimensional. A temperatura aumenta



As proteínas são desnaturadas no suco gástrico do estômago, o qual tem um pH de 1 a 2. Embora esse pH não possa quebrar ligações peptídicas, a ruptura da conformação nativa torna a proteína um substrato melhor para as enzimas digestivas.



A desnaturação térmica com freqüência é ilustrada pelo processo de cozimento de um ovo. Na presença de calor, a proteína albumina se converte de seu estado translucente nativo para um precipitado branco. Precipitados protéicos podem algumas vezes ser dissolvidos por agentes anfipáticos, como uréia, guanidina, HCl ou SDS (dodecil sulfato de sódio), que formam extensivas pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas com a proteína.

* N. de T. *Age* em inglês significa idade.

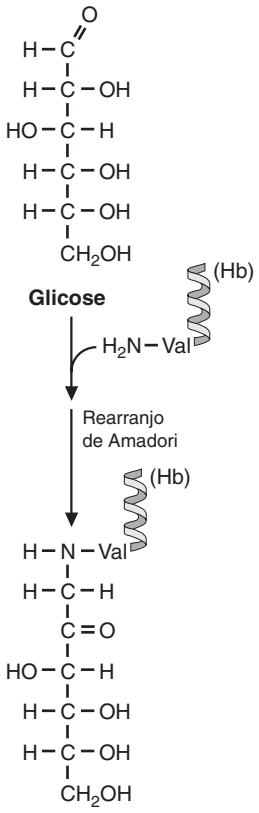


Figura 7.19 Glicosilação não-enzimática da hemoglobina. A glicose forma uma base de Schiff com o grupo amino N-terminal da proteína, a qual se rearranja para formar um produto glicosilado estável. Reações de glicosilação similares ocorrem em outras proteínas.

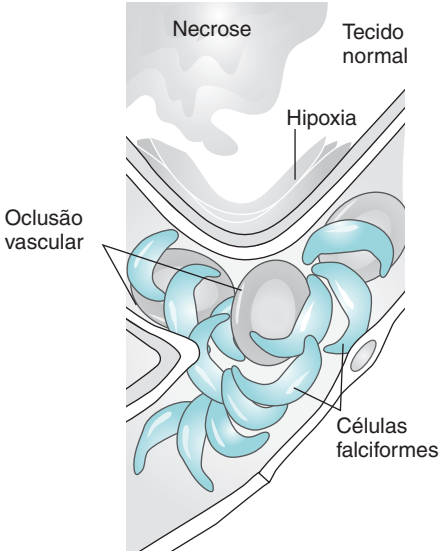


Figura 7.20 As células sangüíneas vermelhas falciformes ocluem um vaso sangüíneo, causando hipoxia (baixo O_2 nas células) e necrose (morte celular).

a energia de vibração e a rotação nas ligações, afetando, assim, o equilíbrio de energia que forma uma conformação tridimensional estável.

As moléculas hidrofóbicas também podem desnaturar proteínas pela perturbação das interações hidrofóbicas na proteína. Por exemplo, ácidos graxos de cadeia longa podem inibir muitas reações catalisadas por enzimas pela ligação não-específica a regiões hidrofóbicas nas proteínas. Assim, os ácidos graxos de cadeia longa e outras moléculas altamente hidrofóbicas têm suas próprias proteínas de ligação na célula.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Will Sichel. Will Sichel continuou a ter dores lombares graves e dor nas extremidades inferiores durante muitas horas após a internação. A dor difusa das crises falciformes parece ser resultado da oclusão de pequenos vasos em uma variedade de tecidos, privando, assim, as células de oxigênio e causando isquemia ou lesão anóxica dos tecidos. Em uma crise falciforme, formam-se longos polímeros de hemoglobina, tornando as células sangüíneas vermelhas distorcidas e alterando de disco bicôncavo para uma forma irregular, como uma foice (de onde se originou o nome da doença) ou uma estrutura estrelada (Figura 7.20). Os polímeros agregantes de Hb lesam a membrana celular e promovem a agregação de proteínas de membrana, o aumento da permeabilidade da célula e a desidratação. Superfícies carregadas e antígenos de células sangüíneas vermelhas são passados para as proteínas transmembrana glicoforina e band 3 (o canal de troca aniônica do eritrócito, ver Capítulo 10). A hemoglobina S se liga fortemente à porção citoplasmática da band 3, contribuindo para

maior agregação de polímeros e distribuição desigual de cargas negativas na superfície da célula falciforme. Como resultado, as células afetadas aderem às células endoteliais nos capilares, ocluindo os vasos e diminuindo o fluxo sangüíneo dos tecidos distais. A hipoxia subseqüente nesses tecidos causa lesão celular e até mesmo morte.

As células falciformes são seqüestradas e destruídas principalmente por células fagocíticas, particularmente aquelas no baço. Uma anemia ocorre à medida que o número de células sangüíneas vermelhas circulantes diminui, e os níveis de bilirrubina no sangue se elevam conforme a hemoglobina é degradada.

Após alguns dias de tratamento, a crise de **Will Sichel** melhorou. No futuro, caso Will tenha um acidente vascular cerebral como conseqüência de oclusão ou tenha episódios recorrentes com risco de vida, um curso a longo prazo de transfusão sangüínea para prevenir crises falciformes repetidas pode estar indicado. A quelação de ferro deverá acompanhar tal programa para prevenir ou retardar o desenvolvimento de sobrecarga de ferro. Embora poucos indivíduos com essa doença tenham sobrevivido até a sexta década, a sobrevida média é até a quarta década. Em geral, a morte resulta de insuficiência renal ou doença cardiopulmonar.

Anne Jeina. O diagnóstico da Sra. Jeina de um infarto agudo do miocárdio (IAM) foi feito com base em medida de CK-MB, mioglobina e cTNT (a isoenzima cardíaca da troponina-T, uma subunidade da proteína regulatória troponina). O diagnóstico precoce é crítico para uma decisão do tipo de terapêutica a ser utilizada. Dessas proteínas, a mioglobina aparece no sangue mais rapidamente. Contudo, seus níveis são relativamente não-específicos para lesão cardíaca devido ao fato de as seqüências de aminoácidos das mioglobinas cardíaca e esquelética serem idênticas. As medidas de mioglobina têm um valor preditivo negativo muito alto dentro de um período de 2 a 6 horas após o início dos sintomas (ou seja, se a mioglobina não está elevada, não ocorreu um infarto do miocárdio). Em contraste, a troponina-T cardíaca sérica é um marcador relativamente tardio, mas altamente específico de lesão miocárdica. Ela é tipicamente detectada no IAM dentro de 3 a 5 horas após o início dos sintomas, é positiva na maioria dos casos dentro de 8 horas, e se aproxima de 100% de sensibilidade em 10 a 12 horas. Ela permanece elevada por 5 a 10 dias.

A Sra. Jeina ficou no hospital até estar sem dor por cinco dias. Ela foi liberada com uma dieta pobre em gorduras e foi orientada a participar do programa de exercícios para pacientes do hospital em recuperação de ataque cardíaco recente. Ela foi agendada para exames regulares com seu médico.

Amy Lloyd. Amy Lloyd tem amiloidose AL, a qual é caracterizada pela deposição de fibras amilóides derivadas principalmente da região variável das cadeias leves λ e κ das imunoglobulinas. Quantidades elevadas de fragmentos das cadeias leves, chamadas de proteínas de Bence-Jones, apareceram na urina. A deposição de fibrilas na matriz extracelular dos glomérulos renais resultou em insuficiência renal moderada. A deposição de amilóide na matriz extracelular do coração resultou na arritmia cardíaca vista no eletrocardiograma. Além de outros sinais de insuficiência cardíaca direita, ela tem edema periférico. A perda de peso pode ter sido causada por infiltrações de amilóide no trato gastrintestinal ou por constipação e diarréia resultante de envolvimento do sistema nervoso autônomo. O tratamento pode ser dirigido contra a proliferação de células plasmáticas, ou contra os resultados sintomáticos da disfunção de órgãos.

Durante a avaliação de Amy Lloyd, ela teve uma arritmia cardíaca que foi refratária ao tratamento. Os extensos depósitos de amilóide no coração interromperam a condução de impulsos elétricos no músculo cardíaco, finalmente resultando em parada cardíaca. Na autópsia, depósitos de amilóides foram encontrados no coração, na língua, no fígado, no tecido adiposo e em todos os órgãos examinados, exceto no sistema nervoso, o qual foi protegido pela barreira hematencefálica.

Dianne Abietes. A HbA_{1c} de Di Abietes foi de 8,5% logo acima do espectro normal (5,8 a 7,2% de hemoglobina total), e o médico decidiu não alterar seu plano de tratamento com insulina. A glicosilação é uma reação enzimática que ocorre com uma velocidade diretamente proporcional à concentração de glicose no

A troponina é uma proteína heterotetramérica envolvida na regulação da contração do músculo estriado e cardíaco. A maioria da troponina na célula está ligada ao complexo actina-tropomiosina na fibrila muscular. As três subunidades de troponina consistem em troponina-C, troponina-T e troponina-I, cada uma com uma função específica no processo regulatório. A troponina-T e a troponina-I existem como isoformas diferentes nos músculos cardíaco e esquelético (seqüências com uma composição diferente de aminoácidos), permitindo, assim, o desenvolvimento de anticorpos específicos contra cada forma. Como uma conseqüência, a troponina-T cardiáca ou a troponina-I cardíaca podem ser rapidamente medidas em amostras sangüíneas por imunoensaio com um bom grau de especificidade.

Quatro componentes da hemoglobina do adulto (HbA) resultam de glicosilação não-enzimática pós-tradução de diferentes resíduos de aminoácidos (HbA_{1a1}, HbA_{1a2}, HbA_{1b1}, e Hb_{A1c}). Na HbA_{1c}, a fração que em geral é medida, a glicosilação ocorre em uma valina N-terminal.

Doenças de príon são categorizadas como encefalopatias espongiformes transmissíveis, as quais são doenças neurodegenerativas caracterizadas por degeneração e glioses astrocíticas do sistema nervoso central. Freqüentemente, agregados protéicos e placas amilóides são vistos. Esses agregados são resistentes à degradação proteolítica.

Doenças de príon familiares são causadas por mutações pontuais no gene codificando a proteína Pr (mutações pontuais são alterações em uma base da seqüência nucleotídica do DNA). As doenças têm uma variedade de nomes relacionados a diferentes mutações e à síndrome clínica (p. ex., doença de Gertsmann-Straussler-Scheinker e doença familiar Creutzfeld-Jakob). A doença familiar de Creutzfeld-Jakob (fCJD) se origina de uma mutação herdada e tem um padrão autossômico dominante. Ela se apresenta tipicamente na quarta década de vida. A mutação diminui a energia de ativação para o reenovelamento, e as proteínas príon se enovelam mais rapidamente na conformação PrPsc. É estimado que a velocidade para gerar doença de príon pelo reenovelamento de PrP^c na célula normal seja de aproximadamente 3.000 a 4.000 anos. Diminuindo a energia de ativação para o reenovelamento por mutação presumivelmente diminui esse tempo para o período prodrômico observado de 30 a 40 anos. A doença de Creutzfeld-Jakob esporádica pode se originar de mutação de células somáticas ou reenovelamentos espontâneos raros que iniciam a cascata de reenovelamento na conformação PrP^{Sc}. A forma esporádica da doença é responsável por 85% de todos os casos de CJD.

sangue. No espectro normal das concentrações de glicose sangüínea (aproximadamente 80 a 140 mg/dL, dependendo do tempo após uma refeição), 6 a 7% da hemoglobina estão glicosilados formando HbA_{1c}. A hemoglobina é metabolizada no sangue à medida que as células sangüíneas vermelhas são fagocitadas e suas hemoglobinas degradadas, e novas células sangüíneas vermelhas são derivadas de reticulócitos.

A média de vida de uma célula sangüínea vermelha é de 120 dias. Assim, a extensão de glicosilação da hemoglobina é um reflexo direto da média da concentração de glicose à qual a célula foi exposta no seu período médio de vida de 120 dias. A HbA_{1c} elevada de **Di Abietes** indica que seus níveis de glicose estavam elevados em média nas 6 semanas a 4 meses precedentes. Um aumento na dosagem de insulina de Di diminuiria a hiperglicemia, mas aumentaria o risco de eventos hipoglicêmicos.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Desdobramento de proteínas e príons. Acredita-se que proteínas príon causem doença neurodegenerativa por agir como molde para o enovelamento inadequado de outras proteínas príon celulares em uma forma que não pode ser degradada. A palavra *príon* significa agente infeccioso proteináceo. As doenças de príon podem ser adquiridas por meio de infecção (doença da vaca louca), por mutações esporádicas ou herdadas (p. ex., doença de Creutzfeld-Jakob). Embora as doenças infecciosas por príons representem uma pequena proporção de casos humanos, sua relação com a doença da vaca louca no Reino Unido (nova variante de CJD), com as inoculações de hormônio do crescimento nos Estados Unidos e na França (CJD iatrogênica ou "induzida por médico") e com rituais de canibalismo na tribo Fore (Kuru, Austrália) tem recebido a maior publicidade.

A proteína príon normalmente é encontrada no cérebro e é codificada por um gene que é um componente normal do genoma humano. A forma causadora de doença da proteína príon tem a mesma composição de aminoácidos, mas está enovelada em uma conformação diferente que se agrega em complexos protéicos multiméricos resistentes à degradação proteolítica (Figura 7.21). A conformação normal da proteína príon foi designada PrP^c e a forma causadora de doença PrP^{Sc} (sc pela doença de

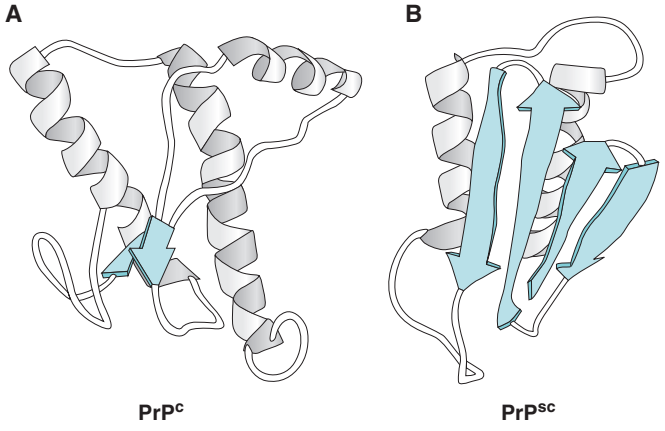


Figura 7.21 A conformação PrP^c e PrP^{sc}. As proteínas príon têm dois domínios, um região N-terminal, que liga quatro Cu^{2+} por cadeia, e um região C-terminal. No PrP^c, as regiões C-terminais contêm três hélices e duas fitas β de três resíduos ligadas por duas ou três pontes de hidrogênio (aproximadamente 40% hélice α e quase nenhuma estrutura folha β). Ela existe como um monômero. Na PrP^{sc}, a região C-terminal é enovelada em uma folha β extensa. A estrutura geral é de aproximadamente 40 a 50% folhas β, 20 a 30% hélice α. Essa conformação promove agregação.

príon "*scrapies*" em ovelhas). Embora PrP^{Sc} e PrP^{c} tenham a mesma composição de aminoácidos, a forma PrP^{Sc} é substancialmente mais rica em estruturas em folha β comparada com a forma normal PrP^{c}, a qual tem pouca ou nenhuma folha β e é aproximadamente 40% hélice α. Essa diferença favorece a agregação de PrP^{Sc} em complexos multiméricos. Essas duas conformações presumivelmente têm níveis de energia semelhantes. Felizmente, o reenovelamento espontâneo de proteínas PrP na conformação PrP^{Sc} é prevenido por uma grande barreira de energia de ativação que torna essa conversão extremamente lenta. Assim, poucas moléculas de PrP^{Sc} são formadas durante a vida.

A doença infecciosa ocorre com a ingestão de dímeros de PrP^{Sc} nos quais a proteína príon já está enovelada em uma estrutura β já organizada. Acredita-se que essas proteínas PrP^{Sc} atuem como moldes para baixar a barreira de energia de ativação para a alteração conformacional, fazendo com que proteínas nativas se reenovelem na conformação PrP^{Sc} de forma muito mais rápida (muito semelhante ao papel da chaperonina). O reenovelamento inicia uma cascata à medida que cada nova PrP^{Sc} formada atua como um molde para reenovelar outras moléculas. À medida que o número de moléculas PrP^{Sc} aumenta na célula, elas se agregam em agrupamentos multiméricos que são resistentes à digestão proteolítica.

Leituras Sugeridas

Khan MF, Falk RH. Amyloidosis. Postgrad Med J 2001;77:686-693.

Horwich AL, Weissman JS. Deadly conformations-protein misfolding in prion diseases. Cell 1997;89:499-510.

Raj DSC, Choudhury D, Welbourne TC, Levi M. Advanced glycation end products: a nephrologist's perspective. Am J Kidney Dis 2000;35:365-380.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 7

1. Qual das seguintes alternativas caracteriza regiões hélice α de proteínas?

   (A) Todas elas têm a mesma estrutura primária.
   (B) Elas são formadas principalmente por pontes de hidrogênio entre o átomo de oxigênio carbonila em uma ligação e o hidrogênio da amida de uma ligação peptídica diferente.
   (C) Elas são formadas principalmente por pontes de hidrogênio entre o átomo carbonila em uma ligação peptídica e os átomos de hidrogênio da cadeia lateral de outro aminoácido.
   (D) Elas são formadas por pontes de hidrogênio entre dois aminoácidos adjacentes na seqüência primária.
   (E) Elas requerem um alto conteúdo de prolina e glicina.

2. Qual das seguintes é uma característica de proteínas globulares?

   (A) Aminoácidos hidrofílicos tendem a estar no interior.
   (B) Aminoácidos hidrofóbicos tendem a estar no exterior.
   (C) A estrutura terciária é formada por interações hidrofóbicas e eletrostáticas entre aminoácidos e por pontes de hidrogênio entre aminoácidos e entre aminoácidos e água.
   (D) As estruturas secundárias são formadas principalmente por interações hidrofóbicas entre aminoácidos.
   (E) Pontes dissulfídicas covalentes são necessárias para manter a proteína na conformação rígida.

3. Uma proteína tem um domínio transmembrana composto inteiramente de estruturas secundárias hélice α. Qual dos seguintes aminoácidos poderia ser encontrado no domínio transmembrana?

   (A) Prolina
   (B) Glutamato
   (C) Lisina
   (D) Leucina
   (E) Arginina

4. Autópsias de pacientes com doença de Alzheimer mostram agregados protéicos chamados de nódulos neurofibrilares e placas neuríticas em várias regiões do cérebro. Essas placas exibem a coloração característica de amilóide. Qual das seguintes características estruturais é a característica mais provável de pelo menos uma proteína nessas placas?

   (A) Um alto conteúdo de estrutura folha β.
   (B) Um alto conteúdo de estrutura hélice α.

(C) Um alto conteúdo de enovelamentos ao acaso.
(D) Ligações cruzadas tipo pontes dissulfídicas entre as cadeias polipeptídicas.
(E) Uma conformação nativa de baixa energia.

5. Enquanto estudava uma nova via em uma espécie remota de bactéria, você descobre uma proteína globular que fosforila um substrato, utilizando ATP como doador de fosfato. Essa proteína provavelmente contém qual das seguintes estruturas?

(A) Uma dobra de actina
(B) Uma dobra de imunoglobulina
(C) Uma dobra ligadora de nucleotídeo
(D) Uma dobra de globina
(E) Um barril β

8 Enzimas como Catalisadores

Enzimas são proteínas que agem como ***catalisadores****, compostos que aumentam a velocidade das reações químicas (Figura 8.1). Os catalisadores enzimáticos se ligam a reagentes (substratos), convertem-nos em produtos e liberam os produtos. Embora as enzimas possam ser modificadas durante sua participação nessa seqüência de reação, elas retornam a sua forma original no final. Além de aumentarem a velocidade de reações, as enzimas fornecem um meio de regular a velocidade das vias metabólicas no corpo. Este capítulo descreve as propriedades das enzimas que permitem que elas funcionem como catalisadores. O próximo capítulo explica os mecanismos de regulação das enzimas.*

Sítios de ligação de enzimas*. Uma enzima se liga aos* ***substratos*** *da reação e os converte em* ***produtos****. Os substratos são ligados a* ***sítios de ligação específicos para o substrato*** *na enzima por interações com resíduos de aminoácidos da enzima. A geometria espacial necessária para todas as interações entre o substrato e a enzima torna cada enzima* ***seletiva para seu substrato*** *e garante que apenas os* ***produtos específicos*** *sejam formados.*

Sítio catalítico ativo*. Os sítios de ligação do substrato se localizam no* ***sítio catalítico ativo da enzima****, a região da enzima onde a reação ocorre. Dentro do sítio catalítico, os* ***grupos funcionais*** *fornecidos por* ***coenzimas****,* ***metais fortemente ligados*** *e, evidentemente,* ***resíduos de aminoácidos*** *da enzima participam da catálise.*

Energia de ativação e estado transitório*. Os grupos funcionais no sítio catalítico da enzima ativam os substratos e diminuem a energia necessária para formar o estágio intermediário de alta energia da reação, conhecido como* ***complexo do estado transitório****. Algumas estratégias catalíticas empregadas pelas enzimas, como* ***catálise ácido-base geral****, formação de* ***intermediários covalentes*** *e* ***estabilização do estado transitório****, são ilustradas pela* ***quimotripsina****.*

Características de pH e temperatura*. As enzimas têm um espectro de pH funcional determinado pelos* ***pK_as*** *dos grupos funcionais no sítio ativo e as interações necessárias para a estrutura tridimensional. Aumentos de temperatura não-desnaturantes aumentam a velocidade da reação.*

Mecanismo com base em inibidores*. A efetividade de muitos* ***fármacos*** *e* ***toxinas*** *depende de sua habilidade de inibir uma enzima. Os inibidores mais fortes são* ***inibidores covalentes****, compostos que formam ligações covalentes com o grupo reativo no sítio ativo da enzima, ou* ***análogos do estado transitório*** *que mimetizam o complexo de estado transitório.*

Nomes de enzimas*. A maioria dos nomes de enzimas termina em "ase". As enzimas em geral têm um nome comum e uma classificação sistemática que inclui um nome e um número da Comissão de Enzimas (EC, do inglês* Enzyne Commissin*).*

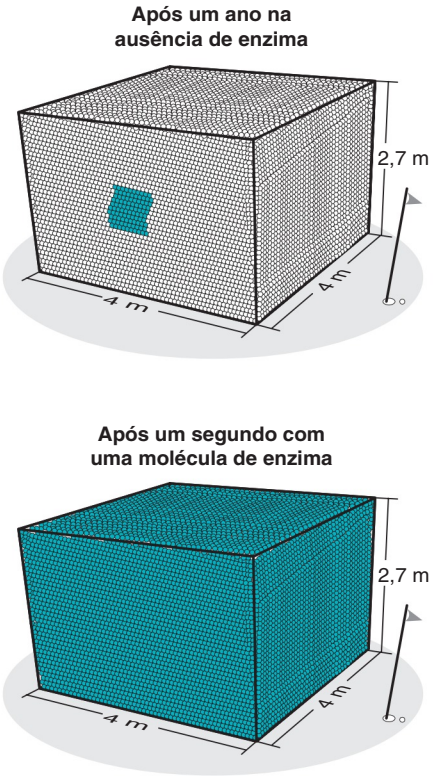
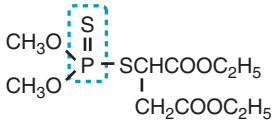
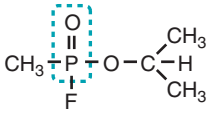


Figura 8.1 Força catalítica de enzimas. Muitas enzimas aumentam a velocidade de uma reação química em um fator de 10^{11} ou mais. Para apreciar um aumento na velocidade de reação dessa ordem de importância, considere uma caixa de bolas de golfe do tamanho de uma sala que "reagem" por liberação de energia e se tornam azuis. A caixa de 4,0 x 4,0 x 2,7 m contém 380.000 bolas de golfe. Se a velocidade da reação na ausência de enzima fosse 100 bolas de golfe por ano, a presença de uma molécula de enzima transformaria a caixa de bolas de golfe inteira em um segundo (assumindo um aumento de 10^{11} na velocidade da reação).

A maioria (se não todos) dos tecidos e dos órgãos no corpo é adversamente afetada por ingestão crônica de quantidades excessivas de álcool, incluindo o fígado, o pâncreas, o coração, os órgãos reprodutivos, o sistema nervoso central e o feto. Alguns dos efeitos da ingestão de álcool, como os efeitos psicotrópicos no cérebro ou a inibição do transporte de vitaminas, são efeitos diretos causados pelo próprio etanol. Contudo, muitos dos efeitos patofisiológicos agudos e crônicos do álcool se relacionam com as vias de metabolismo do etanol (ver Capítulo 25).



Malatião



Sarin

Figura 8.2 Compostos organofosforados. Malatião e paratião são inseticidas organofosforados. Náusea, coma, convulsões, insuficiência respiratória e morte são resultado do uso de paratião por fazendeiros que tiveram contato do inseticida com a pele. O malatião é similar em estrutura ao paratião, mas não é tão tóxico. O gás nervoso, sarin, outro composto organofosforado, foi utilizado em um ataque terrorista no metrô japonês.

SALA DE ESPERA

Um ano após se recuperar de envenenamento por salicilato (ver Capítulo 4), **Dennis "o travesso" Veere** estava brincando no porão de seu avô. Dennis bebeu uma quantidade desconhecida do inseticida malatião, o qual algumas vezes é utilizado para matar moscas-da-fruta e outros insetos (Figura 8.2). Algum tempo depois, quando já não estava se sentindo bem, Dennis contou ao avô o que tinha feito. O Sr. Veere pegou a garrafa e correu com Dennis para a emergência do hospital local. No caminho, Dennis vomitou repetidamente e se queixou de cólicas abdominais. No hospital, começou a salivar e apresentou defecação descontrolada.

Na emergência, os médicos passaram uma sonda nasogástrica para lavagem estomacal, iniciaram líquidos intravenosos e registraram os sinais vitais. O pulso de Dennis era de 48 bpm (lento), e a pressão sangüínea era de 78/48 mmHg (baixa). Os médicos notaram contrações involuntárias dos músculos das extremidades.

Lotta Topaigne teve diagnóstico de artrite gotosa aguda envolvendo o dedão do pé direito (ver Capítulo 5). A presença de cristais de urato insolúveis dentro do espaço articular confirmou o diagnóstico. Várias semanas depois de o ataque de gota ter melhorado, a Srta. Topaigne iniciou terapia com alopurinol em uma dose oral de 150 mg duas vezes ao dia.

Al Martini, um homem de 44 anos que foi alcoólatra nos últimos cinco anos, teve seu apetite marcadamente diminuído. Em um fim de semana, ele se tornou irritado e confuso de um modo incomum após beber dois quintos de uma garrafa de uísque e de comer pouco. A locatária o convenceu a consultar seu médico. O exame físico indicou uma freqüência cardíaca de 104 bpm. A pressão sangüínea estava levemente baixa, e ele se apresentava na fase inicial de uma insuficiência cardíaca congestiva. Ele estava com pouca orientação de tempo, espaço e pessoas.

I. A REAÇÃO CATALISADA POR ENZIMA

As enzimas, em geral, fornecem controle de velocidade, especificidade e regulação para as reações no corpo. Elas geralmente são proteínas que agem como catalisadores, compostos que aumentam a velocidade das reações químicas. As reações catalisadas por enzimas têm três etapas básicas:

(1) ligação de substrato: **E + S ↔ ES**
(2) conversão do substrato ligado em produto ligado: **ES ↔ EP**
(3) liberação do produto: **EP ↔ E + P**

Uma enzima, ao se ligar aos substratos da reação, catalisa e coloca os substratos juntos na orientação correta para reagirem. A enzima, então, participa na formação e quebra de ligações necessárias para a formação dos produtos, libera os produtos e retorna a seu estado original uma vez que a reação esteja completa.

As enzimas não inventam novas reações; elas simplesmente fazem as reações ocorrerem mais rápido. O poder catalítico de uma enzima (a velocidade da reação catalisada dividida pela velocidade da reação não-catalisada) em geral é na faixa de 10^6 a 10^{14}. Sem o poder catalítico das enzimas, reações como aquelas envolvidas na transmissão nervosa, na contração cardíaca e na digestão de alimentos ocorreriam devagar demais para que existisse vida.

Cada enzima em geral catalisa uma reação bioquímica específica. A habilidade de uma enzima de selecionar apenas um substrato e distinguir esse substrato de um grupo de compostos muito semelhantes é referida como especificidade (Figura 8.3). A

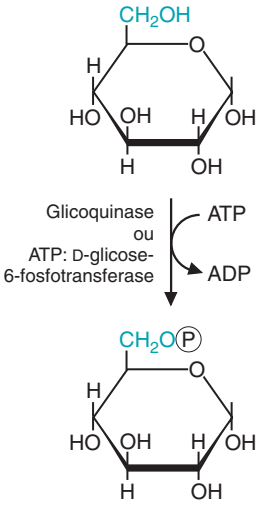
enzima converte esse substrato em apenas um produto. A especificidade, bem como a velocidade, das reações catalisadas por enzimas resulta de uma seqüência única específica de aminoácidos que forma a estrutura tridimensional da enzima.

A. O Sítio Ativo

Para catalisar uma reação química, a enzima forma um complexo enzima-substrato no seu sítio catalítico ativo (Figura 8.4). O sítio ativo em geral é uma fenda ou fissura na enzima formada por uma ou mais regiões da cadeia polipeptídica. Dentro do sítio ativo, co-fatores e grupos funcionais da cadeia polipeptídica participam na transformação das moléculas ligadas do substrato em produtos.

Inicialmente, as moléculas de substrato se ligam a seus sítios de ligação de substrato, também chamados de sítios de reconhecimento do substrato (ver Figura 8.4B). O arranjo tridimensional dos sítios de ligação em uma fenda da enzima permite que as porções reativas dos substratos se aproximem umas das outras pelos ângulos apropriados. A proximidade das moléculas de substrato ligadas e a sua orientação precisa em direção umas das outras contribuem para o poder catalítico da enzima.

O sítio ativo também contém grupos funcionais que participam diretamente na reação (ver Figura 8.4C). Os grupos funcionais são doados pela cadeia polipeptídica ou por co-fatores ligados (metais ou moléculas orgânicas complexas chamadas de coenzimas). À medida que o substrato se liga, ele induz alterações conformacionais na enzima que promovem futuras interações entre as moléculas de substratos e os grupos funcionais da enzima. (Por exemplo, a coenzima pode formar um intermediário covalente com o substrato, ou uma cadeia lateral de aminoácido pode retirar um próton do substrato em reação.) Os substratos ativados e a enzima formam um complexo de transição, um complexo de alta energia instável com uma configuração eletrônica tensa que é intermediária entre substrato e produto. Ligações adicionais com a enzima estabilizam o complexo de estado transitório e diminuem a energia necessária para a sua formação.



Figua 8.3 Reação catalisada pela glicoquinase, um exemplo de especificidade de reação enzimática. A glicoquinase catalisa a transferência de um fosfato de ATP para o carbono 6 da glicose. Ela não pode transferir rapidamente um fosfato de outros nucleotídeos para a glicose, ou de ATP relacionado intimamente com açúcares como a galactose, ou de ATP de qualquer outro carbono da glicose. Os únicos produtos formados são glicose-6-fosfato e ADP.

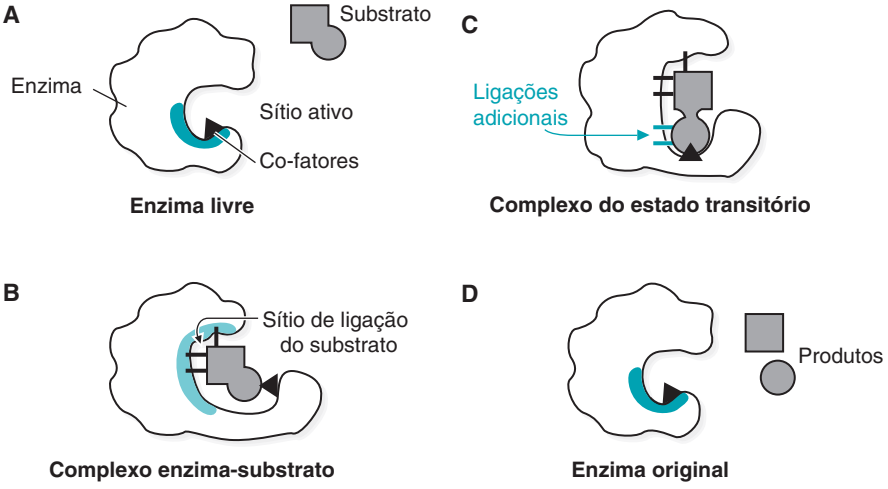


Figura 8.4 Reação no sítio catalítico ativo da enzima. **A.** A enzima contém um sítio catalítico, mostrado em azul-escuro, com uma região ou um domínio no qual o substrato se liga. O sítio ativo pode também conter co-fatores, componentes não-protéicos que auxiliam na catálise. **B.** O substrato forma ligações com resíduos de aminoácido no sítio de ligação do substrato, mostrado em azul-claro. A ligação de substrato induz uma alteração conformacional no sítio ativo. **C.** Grupos funcionais dos resíduos de aminoácidos e co-fatores no sítio ativo participam na formação do complexo de estado transitório, o qual é estabilizado por ligações não-covalentes adicionais com a enzima, mostrado em azul. **D.** À medida que os produtos da reação se dissociam, a enzima retorna a sua conformação original.

O complexo de estado transitório se decompõe em produtos, os quais se dissociam da enzima (ver Figura 8.4D). A enzima geralmente retorna a sua forma original. A enzima livre, então, se liga a outro grupo de substratos e repete o processo.

B. Sítios de Ligação de Substrato

A especificidade da enzima (a habilidade da enzima de reagir com apenas um substrato) resulta do arranjo tridimensional de resíduos de aminoácidos específicos na enzima que forma sítios de ligação para os substratos e ativa os substratos durante o curso da reação. Os modelos de "chave-e-fechadura" e "encaixe induzido" para a ligação de substrato descrevem dois aspectos da interação da ligação entre a enzima e o substrato.

1. MODELO DE CHAVE-E-FECHADURA PARA A LIGAÇÃO DE SUBSTRATO

O sítio de ligação do substrato contém resíduos de aminoácidos arranjados em uma superfície tridimensional complementar que "reconhece" o substrato e o liga por múltiplas interações hidrofóbicas, interações eletrostáticas ou pontes de hidrogênio (Figura 8.5). Os resíduos de aminoácidos que se ligam ao substrato podem ser de partes muito diferentes da seqüência linear de aminoácidos da enzima, como visto na glicoquinase. A ligação de compostos com uma estrutura que difere do substrato mesmo em um pequeno grau pode ser prevenida por obstrução estérica e repulsão de carga. No modelo chave-e-fechadura, a complementaridade entre o substrato e seu sítio de ligação é comparada com o encaixe de uma chave em uma fechadura rígida.

2. MODELO DE "ENCAIXE INDUZIDO" PARA A LIGAÇÃO DE SUBSTRATO

A complementaridade entre o substrato e o sítio de ligação é apenas parte do processo. À medida que o substrato se liga, as enzimas sofrem uma alteração conformacional ("encaixe induzido") que reposiciona as cadeias laterais dos aminoácidos no sítio ativo

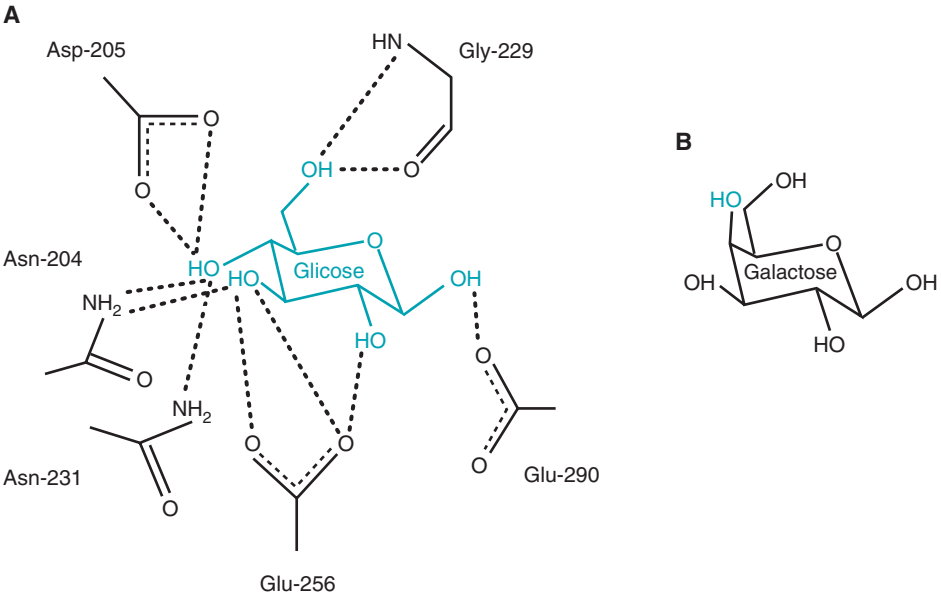


Figura 8.5 Sítio de ligação da glicose na glicoquinase. **A.** A glicose, mostrada em azul, é mantida em seu sítio de ligação por múltiplas pontes de hidrogênio entre cada grupo hidroxila e aminoácidos polares de diferentes regiões da seqüência de aminoácidos da enzima na dobra de actina (ver Capítulo 7). A posição do resíduo de aminoácido na seqüência linear é dada por seu número. As múltiplas interações tornam a glicose capaz de induzir grandes alterações conformacionais na enzima. (Modificada de Pilkis SJ, Weber IT, Harisson RW, Bell GI. J Biol Chem. Glucokinase: structural analysis of a protein involved in susceptibility to diabetes 1994;21925-21928.) **B.** A especificidade da enzima é ilustrada pela comparação de galactose e glicose. A galactose difere da glicose apenas na posição do grupo –OH mostrado em azul. Contudo, ela não é fosforilada a uma velocidade significante pela enzima. Portanto, as células requerem uma galactoquinase separada para o metabolismo da galactose.

e aumenta o número das ligações de interação (ver Figura 8.4). O modelo de encaixe induzido para a ligação de substrato reconhece que o sítio de ligação do substrato não é uma "fechadura" rígida, mas uma superfície dinâmica criada pela estrutura tridimensional geral flexível da enzima.

A função da alteração conformacional induzida pela ligação do substrato, o encaixe induzido, em geral é para repor grupos funcionais no sítio ativo de uma maneira que promova a reação, melhore o sítio de ligação de um co-substrato ou ative uma subunidade adjacente por meio de cooperatividade. Por exemplo, considere as grandes alterações conformacionais que ocorrem na dobra de actina da glicoquinase quando a glicose se liga. O encaixe induzido envolve alterações na conformação de toda a enzima que fecham a fenda da dobra, melhorando, assim, o sítio de ligação para ATP e excluindo água (a qual pode interferir na reação) do sítio ativo (Figura 8.6). Assim, as múltiplas interações entre o substrato e a enzima no sítio catalítico servem para o reconhecimento do substrato e para iniciar a próxima etapa da reação, a formação do complexo de estado transitório.

C. O Complexo de Estado Transitório

Para que uma reação ocorra, os substratos sofrendo a reação necessitam ser ativados. Se os níveis de energia de um substrato são colocados em um gráfico à medida que o substrato é progressivamente convertido em produto, a curva mostrará um nível máximo de energia que é maior do que o do substrato ou do produto (Figura 8.7). Esse alto nível de energia ocorre no estado transitório.

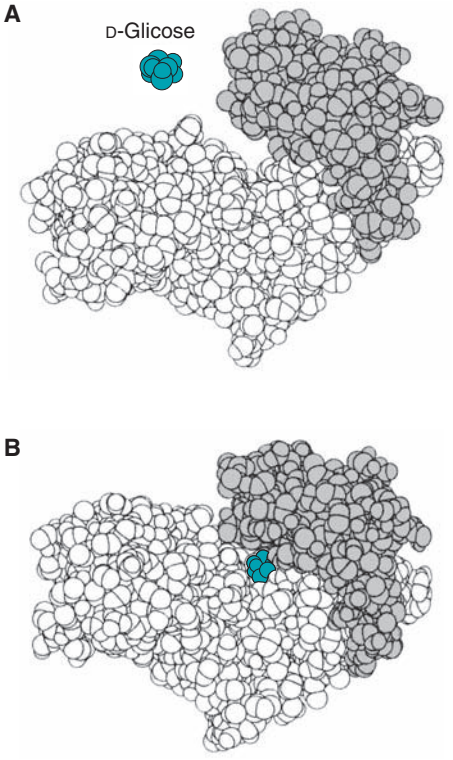


Figura 8.6 Alteração conformacional resultante da ligação da glicose à hexoquinase. (A figura é na verdade hexoquinase de levedura, a qual é mais similar à glicoquinase humana do que a outras isoenzimas hexoquinase humanas.) As áreas sombreadas e não-sombreadas mostram os dois domínios (quatro subdomínios) que formam a dobra de actina com sua fenda de ligação de ATP. **A.** Enzima livre. **B.** Com glicose ligada, a fenda fecha, formando o sítio de ligação de ATP. O fechamento da fenda quando a glicose se liga à hexoquinase (ou glicoquinase humana) é um dos maiores "encaixes induzidos" conhecidos. A combinação de estruturas secundárias na dobra de actina que dá à hexoquinase a flexibilidade necessária para essa mudança é discutida no Capítulo 7, Seção IV.B.1, "A Dobra de Actina". (De Bennett WS, Steitz TA. J Mol Biol. Estructure of a complex between yeast hexokinase A and glucose II. Detailed comparisons of conformation and active site configuration with the native hexokinase B. 1980;211-230.)

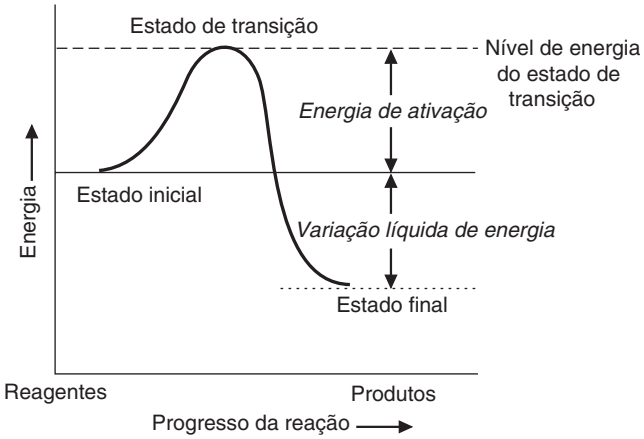


Figura 8.7 Diagrama de energia mostrando os níveis de energia dos substratos à medida que progridem em direção a produtos na ausência de enzima. Os substratos devem passar pelo estado de alta energia durante a reação. Embora uma perda de energia favorável ocorra durante a reação, a velocidade da reação é diminuída pela barreira de energia para formar o estado transitório. A barreira de energia é referida como a energia de ativação.

Devido ao fato de o complexo de estado transitório se ligar mais fortemente à enzima do que o substrato, compostos que são semelhantes à sua superfície eletrônica e tridimensional (análogos do estado transitório) são inibidores mais potentes de uma enzima do que os análogos do substrato. Conseqüentemente, um fármaco desenvolvido como um análogo do estado transitório seria altamente específico para a enzima para a qual foi sintetizado para inibir. Contudo, os análogos de estado transitório são altamente instáveis quando não-ligados à enzima e teriam grande dificuldade em passar do trato digestivo ou local de injeção para o sítio de ação. Algumas abordagens na forma dos fármacos que têm sido utilizados para lidar com o problema da instabilidade incluem: estruturas de fármacos que são quase análogos do estado transitório, mas têm uma modificação estável; síntese de um pró-fármaco que é convertido em um análogo de estado transitório no sítio de ação; utilização do análogo do estado transitório para formar um anticorpo complementar.

As abzimas (anticorpos catalíticos) são feitas como anticorpos contra análogos do complexo de estado transitório. Dessa forma, elas têm um rearranjo das cadeias laterais de aminoácidos em suas regiões variáveis que é similar ao sítio ativo da enzima no estado transitório. Conseqüentemente, elas podem agir como enzimas artificiais. Por exemplo, abzimas têm sido desenvolvidas contra análogos do complexo de estado transitório da cocaína-esterase, a enzima que degrada cocaína no corpo. Essas abzimas têm atividade de esterases, e injeções mensais do fármaco abzima podem ser utilizadas para destruir a cocaína no sangue de forma rápida, diminuindo, assim, a dependência de indivíduos viciados. (Ver Capítulo 7 para a estrutura de anticorpo.)

A hidrólise é a utilização da água para quebrar (lisar) uma ligação. A proteólise é a hidrólise de uma ligação peptídica em uma proteína, uma reação catalisada por enzimas chamadas de proteases.

Para algumas reações catalisadas por enzimas, o estado transitório é uma condição na qual as ligações no substrato estão distendidas ao máximo. Para outras reações catalisadas por enzimas, a configuração eletrônica do substrato se torna muito tensa e instável à medida que entra no estado de transição. O maior nível de energia corresponde à configuração de substrato mais instável e à condição na qual a molécula de substrato em mudança está mais fortemente ligada aos grupos funcionais participantes na enzima. A diferença de energia entre o substrato e o complexo de estado transitório é chamada de energia de ativação.

De acordo com a teoria do estado de transição, a velocidade total da reação é determinada pelo número de moléculas que adquirem a energia de ativação necessária para formar o complexo de estado transitório. As enzimas aumentam a velocidade da reação por diminuição dessa energia de ativação. Elas utilizam várias estratégias catalíticas, como estabilização eletrônica do complexo de estado transitório ou catálise ácido-básica, para obterem essa diminuição.

Uma vez formado o complexo de estado transitório, ele pode reverter e liberar os substratos ou decompor para formar produtos. A enzima não altera o nível inicial de energia dos substratos ou o nível final de energia dos produtos.

II. MECANISMO CATALÍTICO DA QUIMOTRIPSINA

A enzima quimotripsina é um bom exemplo das estratégias e cadeias laterais de aminoácidos utilizadas por enzimas para baixar a quantidade de energia de ativação necessária. A quimotripsina é uma enzima digestiva liberada nos intestinos que catalisa a hidrólise de ligações peptídicas específicas em proteínas desnaturadas. Ela é um membro da superfamília de serina-proteases, enzimas que utilizam uma serina no sítio ativo para formar um intermediário covalente durante a proteólise. Na reação de hidrólise total, um OH^- da água é adicionado ao carbono carbonil da ligação peptídica, e um H^+, ao N, quebrando, assim, a ligação (Figura 8.8). A ligação que é quebrada é chamada de ligação séssil.

A. A Reação na Ausência de Enzima

Na reação que ocorre na ausência de enzima, o grupo hidroxila negativamente carregado da água ataca o carbono carbonil, o qual tem uma carga parcial positiva. Um complexo de estado transitório tetraédrico oxiânion instável é formado no qual o átomo de oxigênio tem uma carga total negativa. A velocidade da reação química na ausência

de quimotripsina é lenta devido ao fato de haver poucas moléculas OH^- em H_2O com energia suficiente para formar o complexo de estado transitório e poucas OH^- colidindo com o substrato na orientação correta.

B. Estratégias Catalíticas na Reação Catalisada pela Quimotripsina

Na reação catalisada pela quimotripsina, o mesmo oxiânion intermediário é formado pela utilização do grupo hidroxila de um resíduo de serina para o ataque em vez de um ânion hidroxila livre. A velocidade da reação catalisada pela quimotripsina é mais rápida, pois os grupos funcionais no sítio ativo da enzima ativam o grupo hidroxila a ser atacado, estabilizam os complexos de estado transitório oxiânion, formam um intermediário covalente e desestabilizam o grupo que está sendo retirado. A reação ocorre em dois estágios: (a) quebra da ligação peptídica na proteína substrato desnaturada e formação de um intermediário covalente acil-enzima (Figura 8.9, etapas 1 a 5), e (b) hidrólise do intermediário acil-enzima para liberar a porção remanescente da proteína substrato (Figura 8.9, etapas 6 a 9). Os nomes das estratégias catalíticas empregadas nas várias etapas estão em itálico nos parágrafos seguintes.

1. ESPECIFICIDADE DA LIGAÇÃO À QUIMOTRIPSINA

A quimotripsina hidrolisa as ligações peptídicas no lado carbonil da fenilalanina, da tirosina ou do triptofano em uma proteína desnaturada. O sítio de reconhecimento do substrato consiste em um bolsão de ligações hidrofóbicas que atrai o aminoácido hidrofóbico, contribuindo com o grupo carbonil da ligação séssil (ver Figura 8.9, etapa 1). A proteína substrato deve ser desnaturada para se ajustar no bolsão e ser mantida rigidamente em posição por glicinas no esqueleto peptídico da enzima. A especificidade da ligação séssil também é determinada pelas etapas subseqüentes da reação, como a movimentação da serina 195 para a posição de ataque (*proximidade e orientação*).

2. FORMAÇÃO DE INTERMEDIÁRIO ACIL-ENZIMA NA QUIMOTRIPSINA

No primeiro estágio da reação, a ligação peptídica da proteína substrato desnaturada é quebrada em um sítio ativo à medida que um grupo hidroxila da serina ataca o carbono carbonil da ligação séssil (*nucleófilo de catálise-a é um grupo químico que é atraído pelo núcleo carregado positivamente*) (Figura 8.9, etapa 2). Aspartato e histidina cooperam em converter esse grupo hidroxila (com uma carga parcial negativa no oxigênio) em um grupo de ataque nucleofílico melhor, conferindo a ele uma carga mais negativa. Uma histidina do sítio ativo atua como uma base e atrai um próton da hidroxila da serina (*catálise ácido-base*). A histidina protonada é estabilizada pela carga de um aspartato vizinho.

A combinação aspartato-histidina-serina, referida como a tríade catalítica, é um exemplo de interações cooperativas entre resíduos de aminoácidos no sítio ativo. O grupo de ataque nucleofílico forte criado por esse sistema carregado tem o mesmo efeito na velocidade de reação que aumentar a concentração de íons hidroxila disponíveis para colisão na reação não-catalisada.

Na próxima etapa da seqüência da reação, um complexo de estado transitório oxiânion tetraédrico é formado e é estabilizado por pontes de hidrogênio com grupos –NH no esqueleto peptídico (Figura 8.9, etapa 3). A visão original da maneira como as enzimas formam complexos de estado transitório era de que elas distenderiam as ligações ou distorceriam os ângulos de ligação dos substratos reagentes. Contudo, a maioria dos complexos de estado transitório, como o complexo oxiânion tetraédrico, é mais bem descrita como apresentando "tensões eletrônicas", uma superfície eletrostática que seria altamente improvável se não fosse estabilizada por ligações com grupos funcionais da enzima. *A estabilização do complexo de estado transitório diminui* seu nível de energia e aumenta o número de moléculas que atingem esse nível de energia.

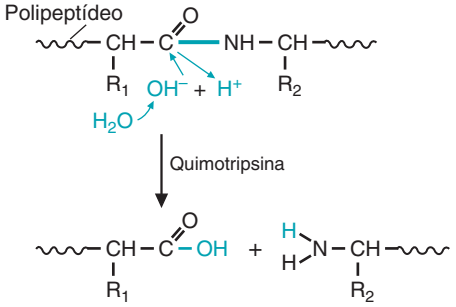
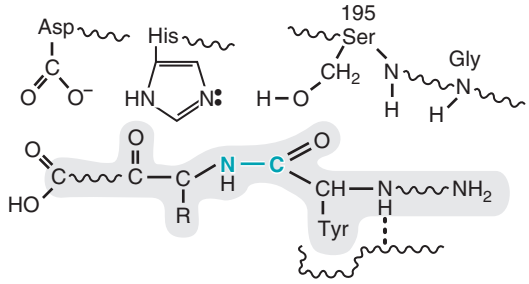


Figura 8.8 Quimotripsina hidrolisa certas ligações peptídicas nas proteínas. A ligação séssil é mostrada em azul. O carbono carbonil, o qual carrega uma carga parcial negativa, é atacado por um grupo hidroxila da água. Um intermediário oxiânion tetraédrico instável é formado, o qual é o complexo de estado transitório. À medida que os elétrons retornam para o carbono carbonil, ele se torna um ácido carboxílico, e o próton remanescente da água é adicionado ao grupo para formar uma amina.

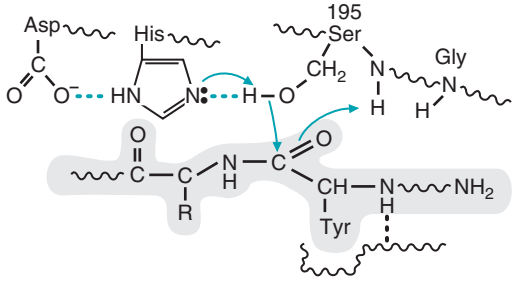
Q: No estômago, o ácido gástrico diminui o pH para 1 a 2 para desnaturar proteínas pelo rompimento de pontes de hidrogênio. A protease no estômago, pepsina, é um membro da superfamília da aspartato-protease, enzimas que utilizam dois resíduos de aspartato no sítio ativo para catálise ácido-base da ligação peptídica. Por que elas não podem utilizar histidina como a quimotripsina?

Serina-proteases na coagulação sangüínea. A utilização de um sítio ativo de serina para quebrar uma ligação peptídica é comum nas enzimas proteolíticas da coagulação sangüínea, bem como naquelas da digestão. Os coágulos sangüíneos são formados a partir de fibrina, uma proteína presente no sangue como o precursor inativo, fibrinogênio. A serina-protease trombina quebra uma ligação peptídica no fibrinogênio para formar fibrina ativa. A trombina tem a mesma tríade catalítica aspartato-histidina-serina encontrada na quimotripsina e funciona essencialmente da mesma maneira. A trombina está presente também como um precursor inativo, pró-trombina, a qual é ela própria ativada pela quebra proteolítica por outra serina-protease da coagulação sangüínea.

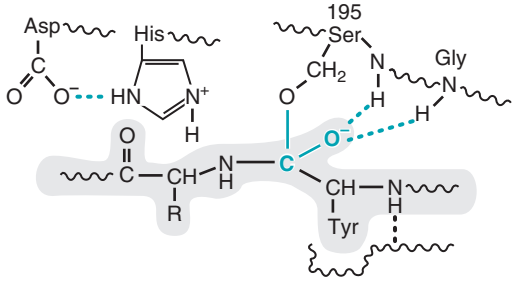
1. Ligação de substrato



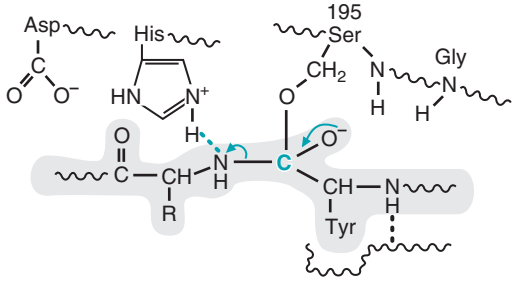
2. Histidina ativa serina para ataque nucleofílico



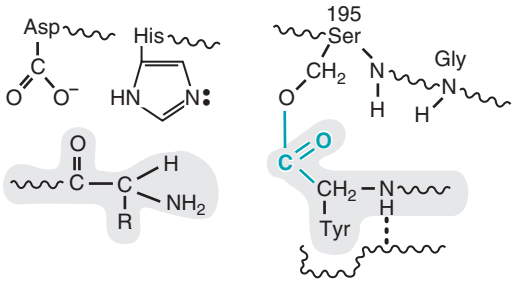
3. O intermediário oxiânion tetraédrico é estabilizado por pontes de hidrogênio



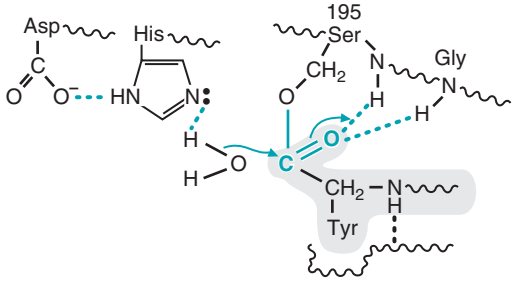
4. Rompimento da ligação peptídica



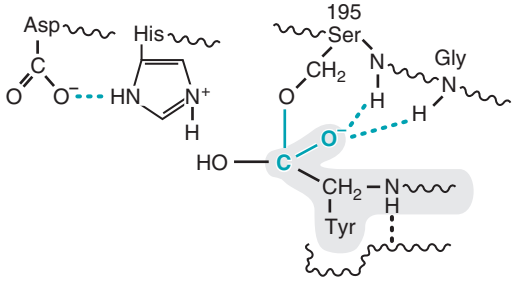
5. O intermediário covalente acil-enzima



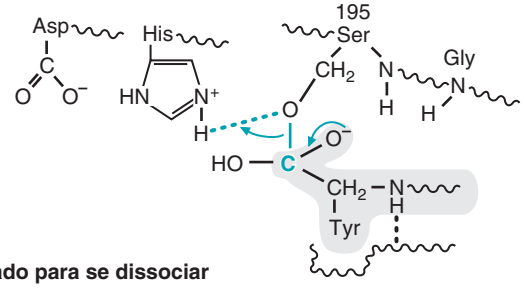
6. Água ataca o carbono carbonil



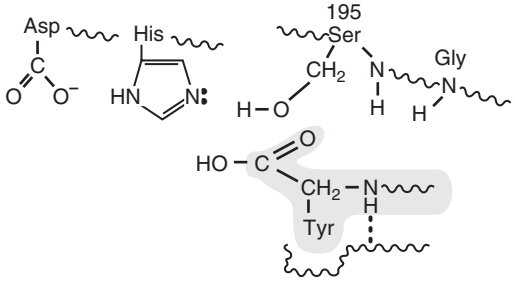
7. Segundo intermediário oxiânion tetraédrico



8. Catálise ácida quebra a ligação covalente acil-enzima



9. O produto é liberado para se dissociar



Subseqüentemente, a serina no sítio ativo forma uma ligação covalente completa com o carbono do grupo carbonil à medida que a ligação peptídica é quebrada (*catálise covalente*). A formação de um intermediário covalente estável é uma das estratégias empregadas por enzimas e com freqüência envolve resíduos de serina ou cisteína. O intermediário covalente é subseqüentemente hidrolisado (*catálise ácido-base*). Os produtos dissociantes de uma reação catalisada por uma enzima com freqüência são "desestabilizados" por algum grau de repulsão de carga no sítio ativo. No caso da quimotripsina, o grupo amino formado após a quebra da ligação peptídica é desestabilizado ou "desconfortável" na presença da histidina do sítio ativo (*desestabilização do produto em formação*).

3. HIDRÓLISE DO INTERMEDIÁRIO ACIL-QUIMOTRIPSINA

A próxima seqüência de eventos hidrolisa o intermediário acil-enzima para liberar o peptídeo ligado do lado carbonil (Figura 8.9, etapas 6 a 9). A histidina do sítio ativo ativa água para formar um OH^- para um ataque nucleofílico, resultando em um segundo oxiânion do complexo de estado transitório. Quando a histidina adiciona um próton de volta para a serina, a reação está completa, e o produto se dissocia.

C. Diagrama de Energia na Presença de Quimotripsina

O número de etapas nas reações enzimáticas reais resulta em um diagrama de energia de múltiplas curvas (Figura 8.10). No estágio incial da reação, ocorre uma depressão, pois a energia é fornecida para a formação de múltiplas ligações iniciais fracas entre o substrato e a enzima. Com o progresso da reação, a curva se eleva, pois energia adicional é necessária para a formação do complexo de estado transitório. Essa energia é fornecida pelas etapas subseqüentes da reação substituindo as ligações iniciais fracas por ligações progressivamente mais fortes. Intermediários covalentes semi-estáveis da reação têm níveis de energia mais baixos do que os complexos de estado transitório e estão presentes no diagrama da reação como depressões na curva de energia. O complexo de estado transitório tem o maior nível de energia na reação e é, portanto, o estado mais instável. Ele pode regredir para os substratos ou se decompor para formar produtos.

III. GRUPOS FUNCIONAIS NA CATÁLISE

As estratégias catalíticas empregadas pela quimotripsina para aumentar a velocidade da reação são comuns a muitas enzimas. Uma dessas estratégias catalíticas, proximidade e orientação, é uma característica intrínseca da ligação do substrato e parte do mecanismo catalítico de todas as enzimas. Todas as enzimas também estabilizam o estado intermediário por interações eletrostáticas, mas nem todas as enzimas formam intermediários covalentes.

Ocorre grande variedade nos grupos funcionais empregados por diferentes enzimas para que essas estratégias catalíticas ocorram. Algumas enzimas, como a quimotripsina, dependem de resíduos de aminoácidos dentro do sítio ativo.

R: Para participar na catálise ácido-base geral, a cadeia lateral do aminoácido deve ser capaz de retirar um próton em uma etapa da reação e entregá-lo em outra. A histidina (pK_a 6,3) estaria protonada nesse pH baixo, e não poderia retirar um próton de um nucleófilo potencial. Contudo, o ácido aspártico, com um pK_a de cerca de 2, pode liberar prótons em um pH de 2. Os dois aspartatos atuam juntos para ativar água pela remoção de um próton para formar o nucleófilo hidroxila.

Figura 8.9 Mecanismo catalítico da quimotripsina. O substrato (uma proteína desnaturada) está na área sombreada. **1.** À medida que a proteína substrato se liga ao sítio ativo, serina-195 e uma histidina (his57) se aproximam e atingem a orientação correta para que os elétrons do nitrogênio da histidina atraiam o hidrogênio da serina. Sem essa alteração de conformação na ligação do substrato, a tríade catalítica não pode se formar. **2.** A histidina serve como uma base catalítica geral e, conforme ela retira um próton da serina, aumenta a nucleofilicidade do oxigênio da serina, o qual ataca o carbono carbonil. **3.** Os elétrons do grupo carbonil formam o oxiânion tetraédrico intermediário. O oxiânion é estabilizado pelos grupos N-H de serina-195 e glicina no esqueleto peptídico da quimotripsina. **4.** O nitrogênio da amida na ligação peptídica é estabilizado por interação com o próton da histidina. Aqui a histidina atua como um catalisador ácido geral. Sempre que elétrons da ligação peptídica carbono-nitrogênio se dirigem para o nitrogênio, os elétrons do carboxiânion retornam para o substrato carbono-carbonil, resultando na quebra da ligação peptídica. **5.** O rompimento da ligação peptídica resulta na formação do intermediário covalente acil-enzima, e a metade amida da proteína quebrada se dissocia. **6.** O ataque nucleofílico por H_2O no carbono carbonil é ativado por histidina, cujos elétrons do nitrogênio atraem um próton da água. **7.** O segundo oxiânion tetraédrico intermediário (o complexo de estado transitório) é formado. Ele é novamente estabilizado por pontes de hidrogênio, como as ligações do esqueleto peptídico de glicina e serina. **8.** Com a doação do próton da histidina para os elétrons da ligação entre o oxigênio da serina e o grupo carbonil do substrato, os elétrons do oxiânion retornam para o carbono substrato para formar o ácido carboxílico, e a ligação acil-enzima é quebrada. **9.** Ao liberar o substrato, a enzima retorna para seu estado original.

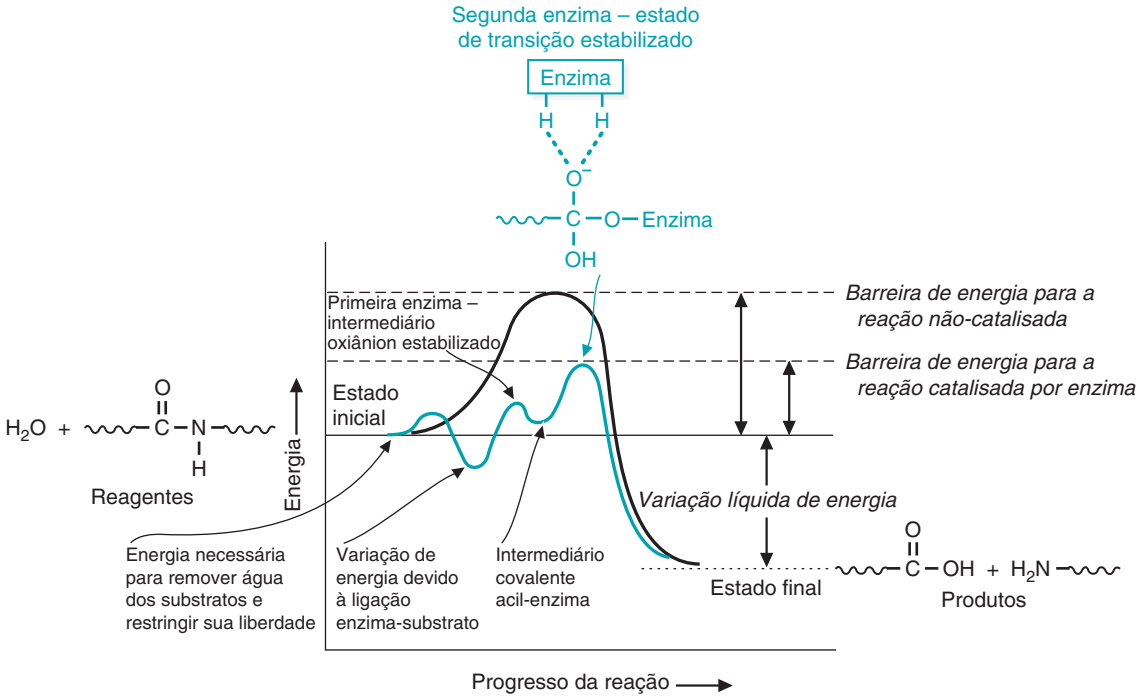


Figura 8.10 Diagrama de energia postulado para a reação catalisada por quimotripsina. Na presença de enzima (azul); na ausência de enzima (preto). A barreira de energia para o estado de transição é diminuída na reação catalisada por enzima pela formação de ligações adicionais entre o substrato e a enzima no complexo de estado transitório. A energia é fornecida pela ligação do substrato à enzima. Contudo, a enzima não altera os níveis de energia do substrato ou do produto.

Outras enzimas dependem, para atuarem, da presença de co-fatores que fornecem um grupo funcional com o tamanho, a forma e as propriedades certas. Os co-fatores são compostos não-protéicos que participam no processo catalítico. Eles em geral são divididos em três categorias: coenzimas, íons metálicos (p. ex., Fe^{2+}, Mg^{2+} ou Zn^{2+}) e coenzimas metálicas (similares ao Fe^{2+}-heme na hemoglobina, ver Capítulo 7).



Devido ao fato de a maioria das vitaminas funcionar como coenzima, os sintomas de deficiências de vitaminas refletem a perda de atividades específicas de enzimas dependentes da forma de coenzima da vitamina. Assim, fármacos e toxinas que inibem as proteínas necessárias para a síntese de coenzima (p. ex., proteínas de transporte de vitamina ou enzimas biossintéticas) podem causar os sintomas de deficiência de vitamina. Esse tipo de deficiência é chamado de deficiência funcional, enquanto uma ingesta inadequada é chamada de deficiência dietética.

A maioria das coenzimas está fortemente ligada a suas enzimas e não se dissocia durante o curso da reação. Contudo, uma deficiência de vitamina funcional ou dietética que diminui o nível da coenzima resultará na presença da apoproteína na célula (uma enzima sem o co-fator).

O etanol é uma "antivitamina" que diminui o conteúdo celular de quase todas as coenzimas. Por exemplo, o etanol inibe a absorção de tiamina, e o acetaldeído produzido pela oxidação de etanol desloca piridoxalfosfato de seus sítios de ligação na proteína, acelerando, assim, sua degradação.

A. Grupos Funcionais nas Cadeias Laterais dos Aminoácidos

Quase todos os aminoácidos polares participam diretamente na catálise de uma ou mais enzimas (Tabela 8.1). Serina, cisteína, lisina e histidina podem participar em catálise covalente.

Tabela 8.1 Alguns Grupos Funcionais no Sítio Ativo

Função do Aminoácido	Exemplo de Enzima
Intermediários covalentes	
Cisteína-SH	Gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase
Serina-OH	Acetilcolinesterase
Lisina-NH_2	Aldolase
Histidina-NH	Fosfoglicomutase
Catalise ácido-base	
Histidina-NH	Quimotripsina
Aspartato-COOH	Pepsina
Estabilização de ânion formado durante a reação	
Esqueleto peptídico-NH	Quimotripsina
Arginina-NH	Carboxipeptidase
Serina-OH	Álcool-desidrogenase
Estabilização de cátion formado durante a reação	
Aspartato-COO^-	Lisozima

A histidina, por ter um pK_a que pode doar e aceitar um próton em pH neutro, freqüentemente participa em catálises ácido-base. A maioria das cadeias laterais dos aminoácidos polares é nucleofílica e participa de catálise nucleofílica pela estabilização de grupos positivamente carregados, que se desenvolvem durante a reação.

B. Coenzimas na Catálise

As coenzimas são complexos de moléculas orgânicas não-protéicas que participam na catálise fornecendo grupos funcionais, muito semelhantes às cadeias laterais dos aminoácidos. Nos humanos, em geral (mas não sempre) elas são sintetizadas a partir de vitaminas. Cada coenzima está envolvida em catalisar um tipo específico de reação para uma classe de substratos com certas características estruturais. As coenzimas podem ser divididas em duas classes gerais: coenzimas de ativação-transferência e coenzimas de oxirredução.

1. COENZIMAS DE ATIVAÇÃO-TRANSFERÊNCIA

As coenzimas de ativação-transferência em geral participam diretamente na catálise pela formação de uma ligação covalente com uma porção do substrato; a porção do substrato fortemente ligada é, então, ativada por transferência, adição de água ou alguma outra reação. A porção da coenzima que forma uma ligação covalente com o substrato é o seu grupo funcional. Uma porção separada da coenzima se liga fortemente à enzima.

A tiamina-pirofosfato fornece uma boa ilustração da maneira como as coenzimas participam na catálise (Figura 8.11). Ela é sintetizada em células humanas a partir de tiamina pela adição de um pirofosfato. Esse pirofosfato fornece átomos de oxigênio carregados negativamente que quelam Mg^{2+}, o qual, então, se liga fortemente à enzima. O grupo funcional que se estende para o sítio ativo é o átomo de carbono reativo com um próton dissociável (ver Figura 8.11). De todas as enzimas que utilizam a tiamina-pirofosfato, esse carbono reativo da tiamina forma uma ligação covalente com grupo cetônico do substrato, enquanto quebra a ligação carbono-carbono adjacente. Contudo, cada enzima contendo tiamina catalisa a quebra de um substrato diferente (ou grupo de substratos com estruturas muito intimamente relacionadas).

As coenzimas têm pouca atividade na ausência da enzima e pouca especificidade. A enzima fornece especificidade, proximidade e orientação ao sítio de reconhecimento do substrato, bem como outros grupos funcionais para o estado de transição, catálise ácido-base, etc. Por exemplo, a tiamina é transformada em um grupo de ataque nucleofílico melhor por um resíduo de aminoácido básico na enzima que remove o próton dissociável (EnzB: na Figura 8.11), gerando, assim, um ânion carbono de tiamina carregado negativamente. Mais adiante na reação, a enzima devolve o próton.

Coenzima A (CoA), biotina e piridoxal-fosfato também são coenzimas de ativação-transferência sintetizadas a partir de vitaminas. A CoA (CoASH), a qual é sintetizada a partir da vitamina pantotenato, contém uma adenosina 3',5'-bisfosfato, a qual se liga de forma reversível, mas firme, ao sítio de uma enzima (Figura 8.12A). Seu grupo funcional, um grupo sulfidrila na outra extremidade da molécula, é um nucleófilo que sempre ataca grupos carbonila e forma acil-tioésteres (na verdade, o "A" na CoA se refere ao grupo acil que se liga).



A maioria das coenzimas, como grupos funcionais de aminoácidos de enzimas, é regenerada durante o curso da reação. Contudo, a CoASH e umas poucas coenzimas de oxirredução são transformadas durante a reação em produtos que se separam da enzima no final da reação (p. ex., a CoASH é convertida em um derivado acil-CoA, e o NAD^+ é reduzido a NADH). Essas coenzimas são, contudo, classificadas como coenzimas em vez de substratos, pois são comuns a muitas reações, a forma original é regenerada em reações subseqüentes em uma via metabólica, são sintetizadas a partir de vitaminas, e a quantidade de coenzima na célula é quase constante.



Os nucleófilos têm cargas total ou parcial negativas (como o átomo de oxigênio no –OH da serina) ou têm um nitrogênio que pode agir como um grupo doador de elétron devido a seus dois elétrons não-pareados. Catálise covalente e catálise ácido-base são realizadas por grupos nucleófilos. Os eletrófilos têm cargas total ou parcial positivas (p. ex., o –NH do esqueleto peptídico foi utilizado como um grupo eletrofílico na quimotripsina). Em geral, catálise nucleofílica e eletrofílica ocorre quando os respectivos grupos nucleofílico ou eletrofílico na enzima estabilizam grupos de substratos de polaridade oposta que se desenvolvem durante a reação.



Embora as coenzimas pareçam capazes de catalisar reações de forma autônoma (sozinhas), elas quase nunca têm poder catalítico quando não-ligadas a uma enzima. Por quê?



Muitos alcoólatras, como **Al Martini**, desenvolvem deficiência de tiamina, pois o álcool inibe o transporte de tiamina através das células da mucosa intestinal. No corpo, a tiamina é convertida em tiamina-pirofosfato (TPP, do inglês *thiamine phyrophosphate*). A TPP age como uma coenzima na descarboxilação de α-cetoácidos, como piruvato e cetoglutarato α (ver Figura 8.11), e na utilização da via pentose-fosfato. Como resultado de deficiência de tiamina, a oxidação de α-cetoácidos está diminuída. A disfunção ocorre no sistema nervoso central e periférico, no sistema cardiovascular e em outros órgãos.

R: Para um substrato reagir com uma coenzima, ele deve colidir com uma coenzima exatamente no ângulo certo. A probabilidade de o substrato e de a coenzima em solução livre colidirem exatamente no lugar certo, exatamente no ângulo certo é muito pequena. Além de causar essa proximidade e orientação, as enzimas contribuem de outras maneiras, como ativando a coenzima pela retirada de um próton (p. ex., tiamina-pirofosfato e coenzima A) ou polarizando o substrato para torná-lo mais suscetível a ataque nucleofílico.

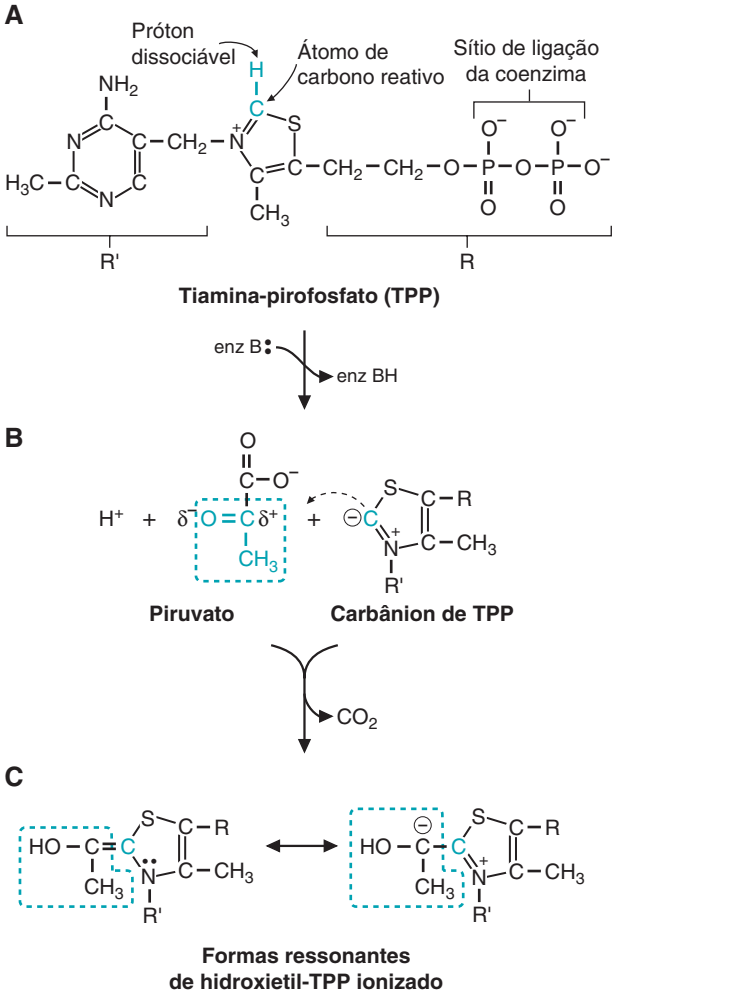


Figura 8.11 O papel do grupo funcional da tiamina-pirofosfato (o carbono reativo mostrado em azul) na formação de um intermediário covalente. **A.** Uma base da enzima (B) retira um próton da tiamina, criando um carbânion (catálise ácido-base geral). **B.** O carbânion é um forte nucleofílico e ataca o grupo ceto com carga parcial positiva do substrato. **C.** Um intermediário covalente é formado, o qual é estabilizado por formas de ressonância. O intermediário sem carga é o complexo de estado transitório estabilizado.

A biotina, a qual não contém um grupo fosfato, é covalentemente ligada a uma lisina em enzimas chamadas de carboxilases (ver Figura 8.12B). Seu grupo funcional é um átomo de nitrogênio que se liga covalentemente a um grupo CO_2 em uma reação que necessita de energia. Esse grupo CO_2 ligado é ativado por sua adição à outra molécula. Em humanos, a biotina funciona apenas em reações de carboxilação.

O piridoxal-fosfato (PLP, do inglês *pyridoxal phosphate*) é sintetizado a partir da vitamina piridoxina, a qual é também chamada de vitamina B6 (Figura 8.13). O grupo aldeído reativo em geral funciona em reações catalisadas por enzimas pela formação de uma ligação covalente com os grupos aminos dos aminoácidos. O anel de nitrogênio carregado positivamente retira elétrons de uma ligação do aminoácido, resultando em quebra daquela ligação. A enzima participa removendo prótons do substrato e mantendo o aminoácido próximo ao grupo piridoxal em um único plano para facilitar o transporte de elétrons.

Essas coenzimas ilustram três características que todas as coenzimas de ativação-transferência têm em comum: (1) um grupo químico específico envolvido na ligação

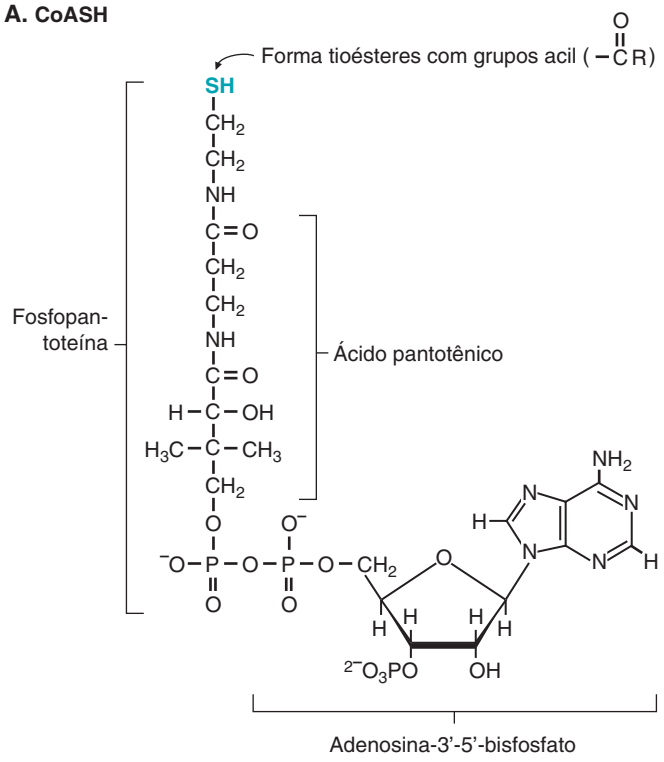


Figura 8.12 CoA e biotina, coenzimas de ativação-transferência. **A.** Coenzima A (CoA ou CoASH) e fosfopantoteína são sintetizadas a partir da vitamina pantotenato (ácido pantotênico). O grupo sulfidrila ativo, mostrado em azul, liga-se aos grupos acila (p. ex., acetila, succinila ou ácido graxo) para formar tioésteres. **B.** A biotina ativa e transfere CO_2 para compostos nas reações de carboxilação. O N reativo é mostrado em azul. A biotina é ligada covalentemente a um resíduo de lisina na enzima carboxilase.

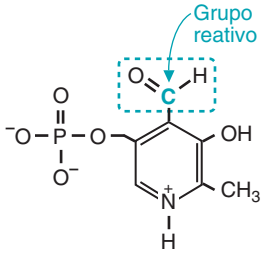


Figura 8.13 Sítios reativos do piridoxal-fosfato. O grupo funcional do piridoxal-fosfato é um aldeído reativo (mostrado em azul) que forma um intermediário covalente com os grupos amino dos aminoácidos (uma base de Schiff). O anel de piridina carregado positivamente é um grupo que atrai fortemente os elétrons para ele (catálise eletrofílica).

com a enzima, (2) um grupo funcional separado e diferente ou um grupo reativo que participa diretamente na catálise de um tipo de reação pela formação com o substrato e (3) dependência da enzima para especificidade adicional de substrato e poder catalítico.

2. ENZIMAS DE OXIRREDUÇÃO

Um grande número de coenzimas está envolvido nas reações de oxirredução catalisadas por enzimas categorizadas como oxirredutases. Algumas coenzimas, como nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD^+) e flavina adenina dinucleotídeo (FAD), podem



Em geral, as coenzimas são co-fatores orgânicos não-protéicos que participam das reações. Eles podem ser covalentemente ligados a enzimas (como biotina), dissociam durante deficiência (tiamina piridoxal fosfato) ou dissociam livremente no final da reação (CoASH). Os co-fatores que são covalentemente ligados ou muito fortemente ligados a proteínas que não são enzimas em geral são chamados de grupos prostéticos. Um grupo prostético, como o heme hemoglobina, em geral não se dissocia de uma proteína até que ela seja degradada.

Quando um composto é oxidado, ele perde elétrons. Como resultado, o carbono oxidado tem menos átomos de H^+ ou ganha um átomo de O. A redução de um composto é o ganho de elétrons, o qual se apresenta em sua estrutura como ganho de H, ou perda de O. Na oxidação de lactato a piruvato (ver Figura 8.14), o lactato perde dois elétrons como íon hidreto, e um próton (H^+) é liberado; o NAD^+, o qual aceita o íon hidreto, é reduzido a NADH. O átomo de carbono com o grupo ceto fica, então, em um estado de oxidação maior devido ao fato de ambos os elétrons nas ligações entre o carbono e o oxigênio serem contados como pertencendo ao oxigênio, enquanto os dois elétrons na ligação C-H são compartilhados igualmente entre carbono e hidrogênio.

A catálise de reações de oxirredução é realizada por uma classe de enzimas chamadas de oxirredutases. Uma subclasse de oxirredutases recebe o nome comum de desidrogenases (como a lactato-desidrogenase), pois transferem hidrogênio (átomos de hidrogênio ou átomos hidreto) do substrato para uma coenzima aceptora de elétrons, como o NAD^+.

transferir elétrons juntamente com hidrogênio e têm papéis únicos na geração de ATP a partir da oxidação de substratos (combustíveis). Outras enzimas de oxidação-redução trabalham com metais para transferir elétrons isolados para o oxigênio. Vitamina E e vitamina C (ácido ascórbico) são coenzimas de oxirredução que podem agir como antioxidantes para proteger contra lesão por radicais livres de oxigênio. As diferentes funções de coenzimas de oxirredução nas vias metabólicas são explicadas nos Capítulos 19 a 22.

As coenzimas de oxirredução seguem os mesmos princípios que coenzimas de ativação-transferência, exceto que elas não formam ligações covalentes com o substrato. Cada coenzima tem um grupo funcional único que aceita e doa elétrons e é específico para a forma de elétrons que ela transfere (p. ex., íons hidrido, átomos de hidrogênio, oxigênio). Uma porção diferente da coenzima liga a enzima. Como as coenzimas de ativação-transferência, as coenzimas de oxirredução não são bons catalisadores sem a participação das cadeias laterais dos aminoácidos da enzima.

A enzima lactato-desidrogenase, a qual catalisa a transferência de elétrons do lactato para o NAD^+, ilustra esses princípios (Figura 8.14). A coenzima nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD^+) é sintetizada a partir da vitamina niacina (a qual forma o anel de nicotinamida) e de ATP (o qual contribui com um AMP). A porção ADP da molécula se liga fortemente à enzima e causa alterações conformacionais na enzima.

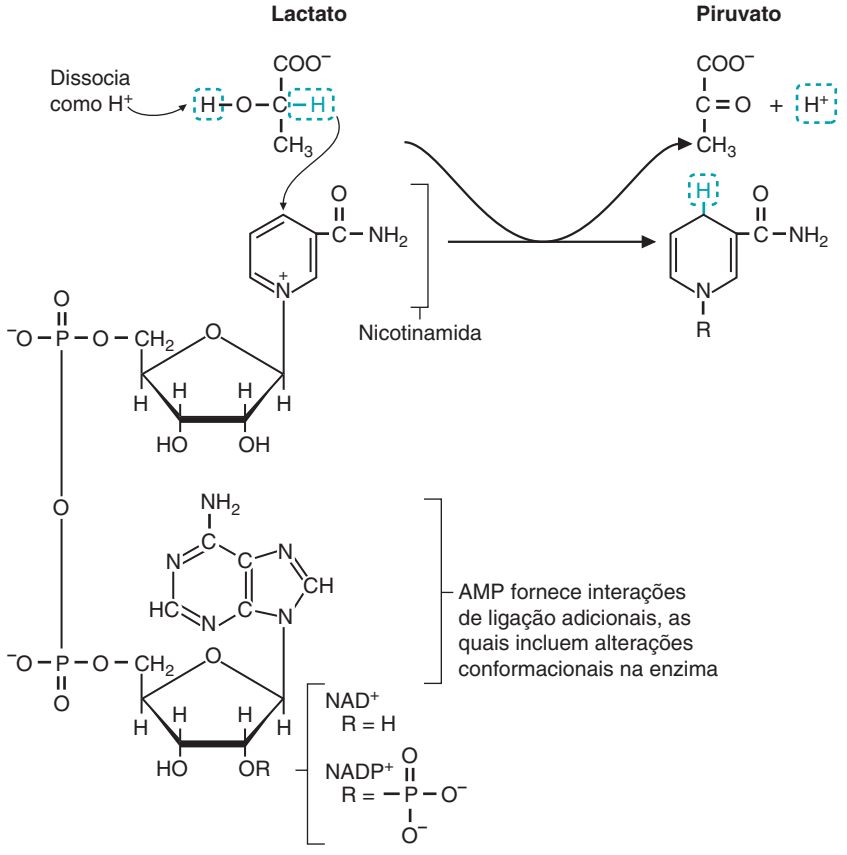


Figura 8.14 A coenzima NAD^+ aceitando um íon hidreto, mostrado em azul, do lactato. As lactato-desidrogenases dependentes de NAD^+ catalisam a transferência de um íon hidrido (H:) de um carbono do NAD^+ nas reações de oxidação, como a oxidação de alcoóis a cetonas ou aldeídos a ácidos. O nitrogênio do anel de piridina do NAD^+ positivamente carregado aumenta a eletrofilicidade do carbono oposto a ele no anel. Esse carbono, então, aceita íon hidreto positivamente carregado. O próton do grupo álcool é liberado na água. O NADP funciona pelo mesmo mecanismo, mas em geral está envolvido em vias de síntese, nas quais participa como redutor.

O grupo funcional do NAD^+ é o carbono no anel de nicotinamida oposto ao nitrogênio carregado positivamente. Esse átomo de carbono aceita o íon hidreto (um átomo de hidrogênio que tem dois elétrons) transferido de um átomo de carbono específico do substrato. O H^+ do grupo álcool do substrato (OH), então, dissocia-se, e um grupo ceto (C=O) é formado. Um dos papéis da enzima é contribuir com um nitrogênio da histidina que pode ligar o próton dissociável ao lactato, tornando, assim, mais fácil para o NAD^+ retirar os outros hidrogênios com ambos os elétrons. Finalmente, o NADH se dissocia.

C. Íons Metal nas Catálises

Os íons metal, os quais têm carga positiva, contribuem para o processo catalítico agindo como eletrófilos (grupos que atraem elétrons). Eles auxiliam na ligação do substrato, ou estabilizam ânions formados na reação. Eles podem também aceitar ou doar elétrons em reações de oxirredução.

A habilidade de certos metais de se ligar a múltiplos ligantes nas suas esferas de coordenação os torna capazes de ligar substratos ou coenzimas a enzimas. Por exemplo, Mg^{2+} tem um papel na ligação de grupos fosfato negativamente carregados da tiamina-pirofosfato a aminoácidos aniônicos ou básicos na enzima (ver Figura 8.11). Os grupos fosfato do ATP em geral estão ligados a enzimas por meio de quelação com Mg^{2+}.

Os metais de algumas enzimas ligam substratos aniônicos ou intermediários da reação para alterarem sua distribuição de cargas, contribuindo, assim, para o poder catalítico. A enzima álcool-desidrogenase, a qual transfere elétrons do etanol para o NAD^+ para gerar acetaldeído e NADH, ilustra esse papel (Figura 8.15). No sítio ativo da álcool-desidrogenase, uma serina ativada retira um próton do grupo –OH do etanol, deixando uma carga negativa no oxigênio que é estabilizado por zinco. Essa configuração eletrônica permite a transferência de um íon hidreto para o NAD^+. O zinco está essencialmente realizando a mesma função na álcool-desidrogenase que a histidina realiza na lactato-desidrogenase.

D. Papel Não-Catalítico de Co-fatores

Os co-fatores algumas vezes têm papel estrutural não-catalítico em certas enzimas, ligando juntas diferentes regiões da enzima para formar a estrutura terciária. Eles também podem servir como substratos que são quebrados durante a reação.

IV. pH E TEMPERATURA ÓTIMOS

Se a atividade da maioria das enzimas é colocada em um gráfico como uma função do pH da reação, um aumento na velocidade da reação em geral é observado à medida que o pH vai de um nível muito ácido para o espectro fisiológico; uma diminuição da velocidade da reação ocorre à medida que o pH vai do espectro fisiológico para um espectro muito básico (Figura 8.16). A forma dessa curva na região ácida em geral reflete a ionização de grupos funcionais no sítio ativo (ou no substrato) pelo aumento do pH e a formação mais geral de pontes de hidrogênio importantes para a conformação da enzima. A perda de atividade do lado básico com freqüência reflete a ionização inapropriada de resíduos de aminoácidos na enzima.

Em humanos, a maioria do etanol ingerido é oxidada a acetaldeído no fígado pela álcool-desidrogenase (ADH):

Etanol + NAD^+ ↔ Acetaldeído + NADH + H^+

A ADH é ativa como dímero, com um sítio ativo contendo zinco presente em cada subunidade. Os humanos têm pelo menos sete genes que codificam isoenzimas de ADH, cada um com um espectro levemente diferente de especificidade para os alcoóis que ela oxida.

O acetaldeído produzido a partir do etanol é altamente reativo, tóxico e imunogênico. Em **Al Martini** e em outros pacientes com alcoolismo crônico, o acetaldeído é responsável pela lesão hepática associada ao alcoolismo crônico.

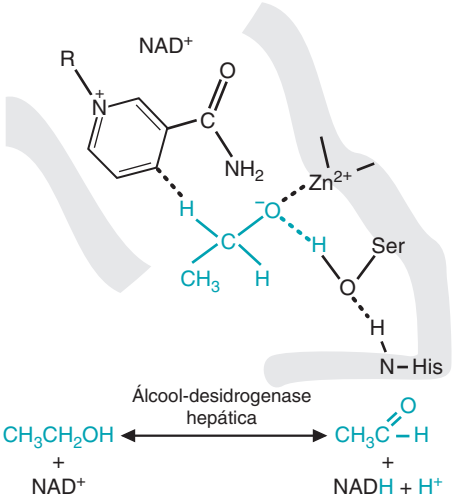


Figura 8.15 A álcool-desidrogenase hepática catalisa a oxidação de etanol (mostrada em azul) a acetaldeído. O sítio ativo da álcool-esidrogenase hepática contém um átomo de zinco ligado e um –OH da cadeia lateral da serina e um nitrogênio da histidina que participa da reação. A histidina retira um H^+ do sítio ativo da serina, a qual retira um H^+ do grupo –OH do substrato, deixando o oxigênio com uma carga negativa que é estabilizada pelo zinco.

As células parietais do estômago secretam HCl no lúmen do estômago, resultando em um pH entre 1 e 2. Esse ambiente fortemente ácido é capaz de desnaturar irreversivelmente a maioria das proteínas pela protonação de aminoácidos, impedindo, assim, a formação de pontes de hidrogênio necessárias para a estrutura terciária. Muitas das ligações peptídicas nas proteínas não seriam acessíveis a proteases digestivas a menos que a proteína esteja desnaturada. A pepsina, uma protease digestiva presente no estômago, é uma enzima excepcional, pois seu pH ótimo é de aproximadamente 1,6, e ela é ativa no ambiente ácido do estômago. À medida que proteínas desnaturadas da dieta passam para o lúmen intestinal, o pH do suco gástrico se eleva acima de 6 pela secreção de bicarbonato pelo pâncreas exócrino. Nesse pH mais alto, a quimotripsina e outras proteases do pâncreas podem agir sobre as proteínas desnaturadas.

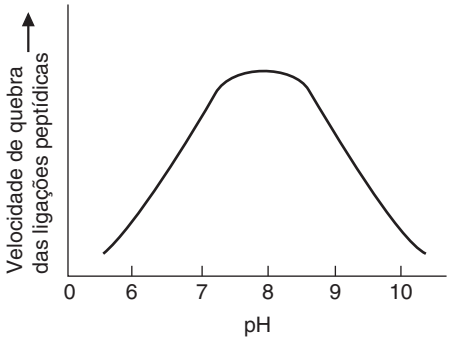


Figura 8.16 Curva de pH de uma enzima. A velocidade da reação aumenta à medida que o pH aumenta de 6 a 7,4. A forma exata da curva depende do estado de protonação dos resíduos de aminoácidos do sítio ativo ou das pontes de hidrogênio necessárias para manter a estrutura tridimensional da enzima. Para a enzima mostrada na figura, o aumento da velocidade da reação corresponde à desprotonação do sítio ativo da histidina. Em um pH acima de 8,5, a desprotonação de um $-NH_3^+$ aminoterminal altera a conformação do sítio ativo, e a atividade diminui. Outras enzimas podem ter um pH máximo mais baixo, um pico mais largo ou manter sua atividade no lado básico da curva.

A maioria das enzimas humanas funciona otimamente em uma temperatura de aproximadamente 37°C. Um aumento de temperatura de 0°C a 37°C aumenta a velocidade da reação por aumentar a energia vibracional dos substratos. A atividade máxima para a maioria das enzimas humanas ocorre próxima a 37°C, pois a desnaturação (perda das estruturas secundária e terciária) ocorre a temperaturas mais altas.

V. MECANISMO DE AÇÃO DOS INIBIDORES

Inibidores são compostos que diminuem a velocidade de uma reação enzimática. Os mecanismos de inibição se baseiam em mimetizar ou participar em uma etapa da reação catalítica. O termo inclui análogos do estado transitório e compostos que podem reagir reversivelmente com grupos funcionais no sítio ativo.

A. Inibidores Covalentes

Os inibidores covalentes formam ligações covalentes ou ligações extremamente fortes com grupos funcionais no sítio catalítico ativo. Esses grupos funcionais são ativados por suas interações com outros resíduos de aminoácidos e, portanto, é muito mais provável que sejam alvo de fármacos e toxinas do que resíduos de aminoácidos fora do sítio ativo.

O composto letal diisopropil fosfluoridato (DFP [do, inglês *diisopropyl fluorosphosphate*] ou diisopropilfluorofosfato) é um composto organofosforado que serviu como protótipo para o desenvolvimento do gás dos nervos sarin e de outras toxinas organofosforadas, como os inseticidas malatião e paratião (Figura 8.17). O DFP exerce seu efeito tóxico formando um intermediário covalente com o sítio ativo da acetilcolinesterase, impedindo, assim, a enzima de degradar o neurotransmissor acetilcolina. Uma vez formada a ligação covalente, a inibição de DFP é essencialmente irreversível, e a atividade só pode ser recuperada se uma nova enzima é sintetizada. O DFP também inibe muitas outras enzimas que utilizam serina para quebra hidrolítica, mas a inibição não é tão letal.

A Aspirina® (ácido acetilsalicílico) fornece um exemplo de uma droga farmacológica que exerce seu efeito por acetilação covalente de um sítio ativo de serina na enzima prostaglandina-endoperóxido-sintase (cicloxigenase). A Aspirina® se assemelha a uma porção do precursor da prostaglandina que é um substrato fisiológico para a enzima.



Os sintomas apresentados por **Dennis Veere** resultaram da inibição da acetilcolinesterase. A acetilcolinesterase quebra o neurotransmissor acetilcolina em acetato e colina no terminal pós-sináptico, terminando, assim, a transmissão do sinal nervoso (ver Figura 8.17). O malatião é metabolizado no fígado a um derivado tóxico (malaoxon) que se liga ao sítio ativo da serina na acetilcolinesterase e em outras enzimas, uma ação similar à do diisopropilfluorofosfato. Como resultado, a acetilcolina se acumula e superestimula o sistema nervoso autônomo (o sistema nervoso involuntário, incluindo coração, vasos sangüíneos e glândulas), sendo, portanto, responsável pelos vômitos, pelas cólicas abdominais, pela salivação e pela sudorese de Dennis. A acetilcolina também é um neurotransmissor para o sistema nervoso somático motor, onde sua acumulação resultou nas contrações involuntárias dos músculos de Dennis (fasciculações musculares).

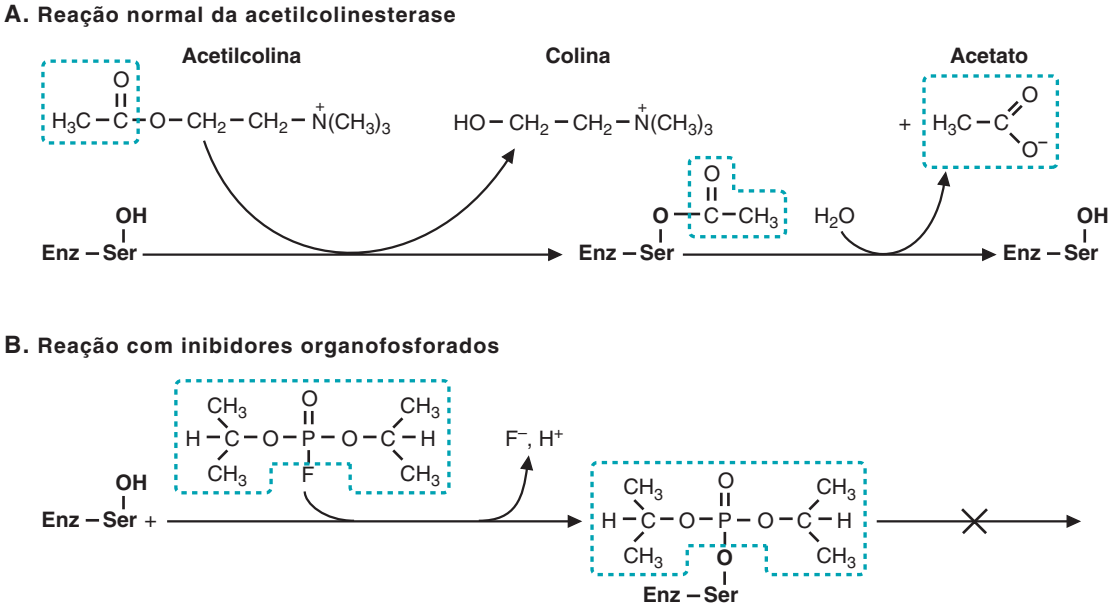


Figura 8.17 **A.** A acetilcolinesterase normalmente catalisa a inativação do neurotransmissor acetilcolina em uma reação de hidrólise. A serina do sítio ativo forma um intermediário covalente com uma porção do substrato durante o curso da reação. **B.** O diisopropil fosfofluoridato (DFP), o ancestral dos gases nervosos e pesticidas organofosforados atuais, inativa a acetilcolinesterase por formar um complexo covalente com a serina do sítio ativo que não pode ser hidrolisada pela água. O resultado é que a enzima não pode realizar sua reação normal, e a acetilcolina se acumula.

B. Análogos e Compostos do Estado Transitório que se Assemelham a Estágios Intermediários da Reação

Análogos do estado transitório são inibidores extremamente potentes e específicos de enzimas, pois eles se ligam com muito mais força à enzima do que os substratos ou produtos. Fármacos que mimetizem o estado transitório de forma tão precisa não podem ser desenvolvidos devido à sua estrutura altamente instável. Contudo, os substratos sofrem alterações progressivas em sua estrutura eletrostática total durante a formação do complexo de estado transitório, e fármacos efetivos com freqüência se assemelham mais proximamente a um estado transitório da reação do que eles se assemelham ao substrato. A literatura médica freqüentemente se refere a tais compostos como análogos de substrato, embora eles se liguem mais fortemente que os substratos.

1. PENICILINA

O antibiótico penicilina é um análogo de estado transitório que se liga muito fortemente à glicopeptidil-transferase, uma enzima requerida pelas bactérias para a síntese da parede celular (Figura 8.18). A glicopeptidil-transferase catalisa uma reação parcial quando a penicilina se liga de forma covalente à serina do próprio sítio ativo. A reação é favorecida pela forte semelhança entre a ligação peptídica no anel β-lactâmico da penicilina e o complexo de estado transitório formado normalmente na reação de transpeptidação. Os inibidores de sítio ativo, como a penicilina, que sofrem reação parcial para formar inibidores irreversíveis no sítio ativo algumas vezes são chamados de "inibidores suicidas."

2. ALOPURINOL

O alopurinol, um fármaco utilizado para tratar gota, diminui a produção de urato pela inibição da xantina-oxidase. Essa inibição fornece um exemplo de uma enzima que comete suicídio ao converter um fármaco no análogo do estado transitório. A função

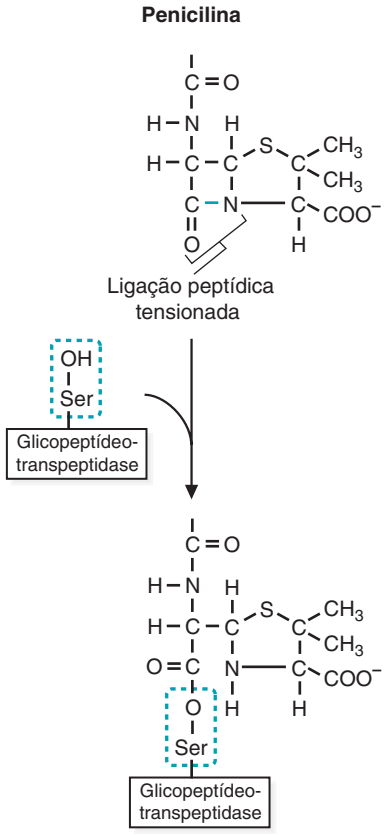


Figura 8.18 O antibiótico penicilina inibe a enzima bacteriana glicopeptídeo-transpeptidase. A transpeptidase é uma serina-protease envolvida nos componentes das ligações cruzadas das paredes celulares essenciais para o crescimento e a sobrevivência bacteriana. Ela normalmente quebra a ligação peptídica entre dois resíduos de D-alanina em polipeptídeo. A penicilina contém uma ligação peptídica tensa no anel β-lactâmico que se assemelha ao estado transitório da reação de quebra normal, e, assim, a penicilina se liga muito prontamente ao sítio ativo da enzima. À medida que a enzima bacteriana tenta quebrar essa ligação peptídica da penicilina, a penicilina se torna irreversivelmente ligada de forma covalente à serina do sítio ativo da enzima, inativando, assim, a enzima.



Lotta Topaigne está sendo tratada com alopurinol para gota, a qual é causada pela acumulação de cristais de urato nas articulações e no líquido sinovial, particularmente no joelho e no dedão do pé. O alopurinol é um inibidor suicida da enzima xantina-oxidase, a qual está envolvida na degradação de nucleotídeos púricos AMP e GMP a ácido úrico (urato). Embora os níveis de hipoxantina aumentem na presença de alopurinol, a hipoxantina não participa da formação e precipitação de cristais de urato nessa concentração. Ele é excretado na urina.

fisiológica normal da xantina-oxidase é a oxidação de hipoxantina em xantina e de xantina em ácido úrico (urato) na via de degradação das purinas (Figura 8.19). A enzima contém um complexo de sulfeto de molibdênio (Mo-S) que se liga aos substratos e transfere os elétrons necessários para as reações de oxidação. A xantina-oxidase oxida o fármaco alopurinol a oxipurinol, um composto que se liga muito fortemente ao um complexo de sulfeto de molibdênio no sítio ativo. Como resultado, a enzima comete suicídio e é incapaz de realizar sua função normal, a geração de ácido úrico (urato).

D. Metais Pesados

A toxicidade por metais pesados é causada pela forte ligação de um metal como mercúrio (Hg), chumbo (Pb), alumínio (AI) ou ferro (Fe) a um grupo funcional de uma enzima. Os metais pesados são relativamente não-específicos para as enzimas que eles inibem, particularmente se o metal for muito tóxico. O mercúrio, por exemplo, se liga a tantas enzimas, freqüentemente com grupos sulfidrila reativos no sítio ativo, que tem sido difícil determinar qual das enzimas inibidas é responsável pela toxicidade do mercúrio. O chumbo é um bom exemplo de um metal que inibe pela substituição de um metal funcional normal em uma enzima. Sua toxicidade de desenvolvimento

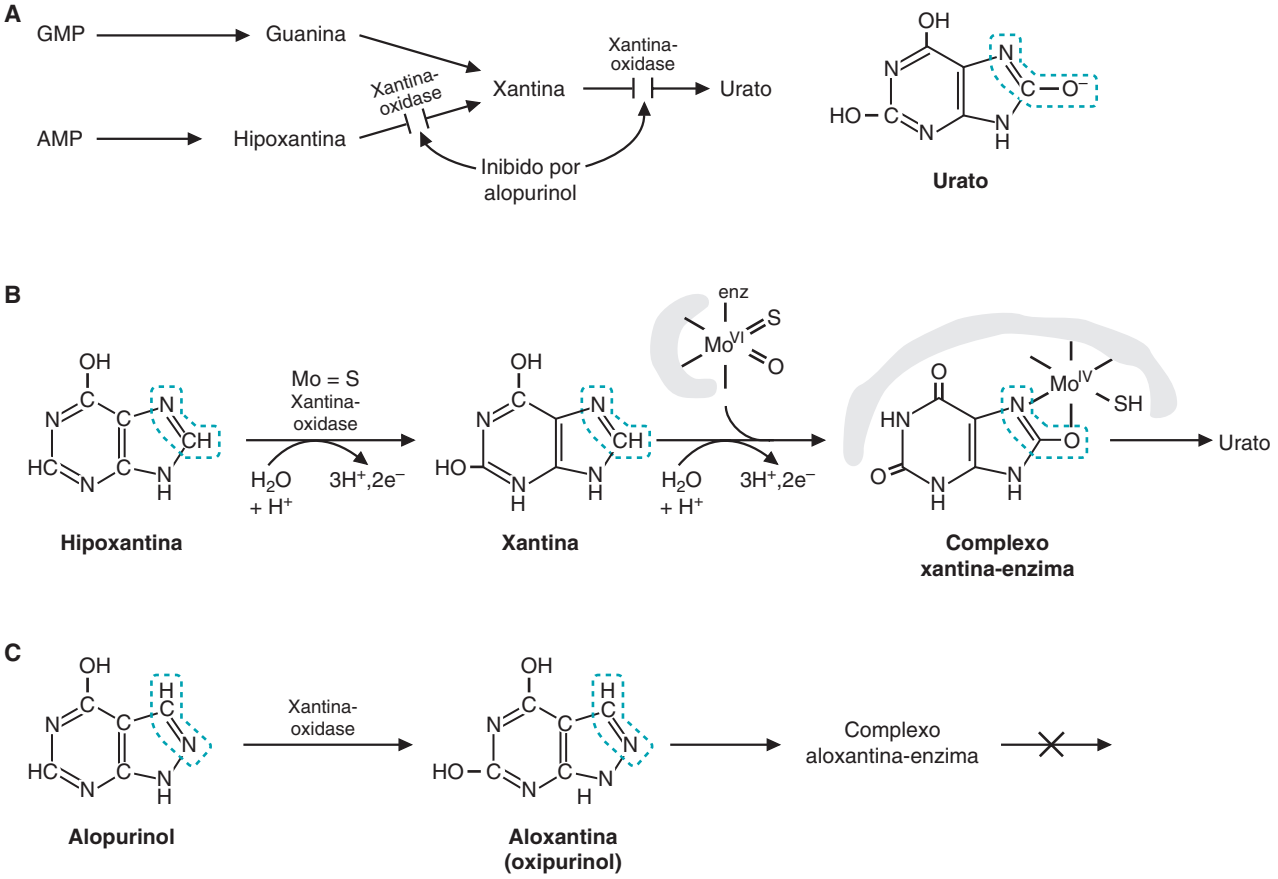


Figura 8.19 O alopurinol é um inibidor suicida da xantina-oxidase. **A.** A xantina-oxidase catalisa a oxidação da hipoxantina a xantina e da xantina a ácido úrico (urato) na via de degradação dos nucleotídeos púricos. **B.** As oxidações são realizadas por um complexo de coordenação de molibdênio-oxo-sulfeto no sítio ativo que forma um complexo com o grupo sendo oxidado. O oxigênio é doado à água. A enzima pode trabalhar ou como uma oxidase (O_2 aceita os $2e^-$ e é reduzido a H_2O_2) ou como uma desidrogenase (NAD^+ aceita os $2e^-$ e é reduzido a NADH). **C.** A xantina-oxidase é capaz de realizar a primeira etapa da oxidação e converter alopurinol a aloxantina (oxipurinol). Como resultado, a enzima comete suicídio; o oxipurinol permanece ligado à esfera de coordenação de molibdênio, onde impede a próxima etapa da reação.

e neurológica pode ser causada por habilidade de substituir Ca^{2+} em duas proteínas regulatórias importantes no sistema nervoso central e em outros tecidos, Ca^{2+}-calmodulina e proteína-quinase C.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Dennis Veere. Dennis Veere sobreviveu à sua intoxicação por malatião, pois ingeriu apenas uma pequena quantidade do produto químico, vomitou logo após o agente ser ingerido e foi tratado rapidamente na emergência. Doses letais de malatião por via oral estão estimadas em 1 g/kg de peso corporal para humanos. Os médicos da emergência utilizaram um fármaco (oxima) para reativar a acetilcolinesterase em Dennis antes que o complexo AGE fosse formado. Eles também utilizaram atropina intravenosa, um agente anticolinérgico (antimuscarínico), para antagonizar a ação de quantidades excessivas de acúmulo de acetilcolina nos receptores colinérgicos pelo corpo.

Depois de vários dias de terapia intravenosa, os sinais e sintomas de excesso de acetilcolina diminuíram, e a terapia foi lentamente retirada. Dennis teve uma recuperação sem intercorrências.

Uma vez ingerido, o malatião é convertido, no fígado, no composto tóxico reativo, malaoxon, pela substituição do enxofre por um oxigênio. O malaoxon liga-se, então, ao sítio ativo da acetilcolinesterase e reage para formar o intermediário covalente. Diferente do complexo formado entre diisopropilfluorofosfato e acetilcolinesterase, esta acil-enzima intermediária inicial é reversível. Contudo, com o passar do tempo, o complexo enzima-inibidor "envelhece" (desalquilação do inibidor e modificação da enzima) e forma um complexo irreversível.

Lotta Topaigne. Muitos dias após o início da terapia com alopurinol, o nível sérico de ácido úrico no soro da Sra. Topaigne começou a diminuir. Muitas semanas mais tarde, o nível no sangue estava normal. Contudo, enquanto Lotta estava se adaptando à terapia com alopurinol, ela teve um ataque moderado de gota, o qual foi tratado com uma dose baixa de colchicina (ver Capítulo 10).

Al Martini. Al Martini foi internado no hospital após ter sido iniciada tiamina intravenosa em uma dose de 100 mg/dia (comparado com a RDA de 1,4 mg/dia). A insuficiência cardíaca congestiva pareceu ser resultado, em parte, de cardiomiopatia (disfunção do músculo cardíaco) por deficiência aguda de tiamina, conhecida como doença cardíaca beribéri. Esse distúrbio nutricional cardíaco e a disfunção nervosa periférica em geral respondem à reposição de tiamina. Contudo, uma cardiomiopatia alcoólica também ocorre em pacientes bem-nutridos com níveis inadequados de tiamina. Não é conhecido exatamente como o etanol, ou seu metabólito tóxico acetaldeído, causa cardiomiopatia alcoólica na ausência de deficiência de tiamina.

Em baixas concentrações de etanol, a álcool-desidrogenase hepática é a maior rota de oxidação do etanol a acetaldeído, um produto químico altamente tóxico. O acetaldeído não apenas lesa o fígado como também pode entrar no sangue e potencialmente lesar o coração e outros tecidos. Em baixas ingestas de etanol, muito do acetaldeído produzido é oxidado com segurança a acetato no fígado pelas acetaldeído-desidrogenases.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Reações Básicas e Classes de Enzimas. Nos capítulos seguintes do texto, os estudantes serão apresentados a uma ampla variedade de vias de reações e nomes de enzimas. Embora possa parecer que o número de reações seja infinito, muitas dessas reações são similares e com freqüência ocorrem em vias metabólicas diferentes. O reconhecimento do tipo de reação pode auxiliar a lembrar das vias e dos nomes das enzimas, reduzindo, assim, a quantidade de memorização necessária. Você pode querer utilizar essa seção como referência à medida que passa por suas primeiras vias bioquímicas.

A Comissão de Enzimas dividiu os tipos de reações básicas e as enzimas que as catalisam em seis grandes classes numeradas: (1) oxirredutases, (2) transferases, (3) hidrolases, (4) liases, (5) isomerases e (6) ligases. Cada grande classe de enzimas inclui subdivisões de enzimas com um nome sistemático e um nome comum (p. ex., desidrogenases e quinases).

As enzimas têm sido sistematicamente classificadas pela Comissão de Enzimas da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular em seis grandes grupos de acordo com o tipo de reação catalisada. Os grandes grupos são subdivididos de tal forma que cada enzima tem um número da Comissão de Enzima. A maioria das enzimas tem nomes sistemáticos, refletindo suas atividades. Além disso, a maioria das enzimas tem nomes comuns ou triviais, que são menores e refletem a atividade da enzima de uma maneira menos padronizada, e podem não terminar em "ase". Por exemplo, a glicoquinase (nome comum) tem o nome sistemático ATP:D-hexose-6-fosfotransferase, e seu número da comissão de enzima é EC 2.7.1.2. O "2" é o número da Comissão de Enzimas (EC) da classe geral (transferase), seguido por um ponto e "7", o número da subclasse para a transferência de grupos contendo fósforo. O "1" indica a transferência de um aceptor de álcool, e o "2" final é o número específico da enzima.

Oxirredutases. As reações de oxirredução são muito comuns nas vias bioquímicas e são catalisadas por uma grande classe de enzimas chamadas de oxirredutases. Sempre que ocorre uma reação de oxirredução, pelo menos um substrato ganha elétrons e se torna reduzido, e outro substrato perde elétrons e se torna oxidado. Uma subdivisão de reações é catalisada por *desidrogenases*, as quais aceitam e doam elétrons na forma de íons hidreto ($H:^-$) ou átomos de hidrogênio. Em geral uma coenzima transferidora de elétrons, como NAD^+/NADH, age como um doador ou aceptor de elétron (p. ex., ver Figuras 8.14 e 8.15).

Em outra subdivisão de reações, o O_2 doa um ou ambos de seus átomos de oxigênio para um aceptor (p. ex., ver xantina-oxidase, Figura 8.19). Quando isso ocorre, o O_2 se torna reduzido, e um doador de elétron é oxidado. As enzimas participando nas reações com O_2 são chamadas de *hidroxilases* e *oxidases* quando um átomo de oxigênio é incorporado em um substrato e o outro oxigênio na água, ou ambos os átomos são incorporados na água. Elas são chamadas de *oxigenases* quando ambos os átomos de oxigênio são incorporados no aceptor. A maioria das hidroxilases e oxidases necessitam de íons metálicos, como Fe^{2+}, para a transferência de elétron.

A xantina-oxidase utiliza molibdênio para a transferência de elétron para o O_2. Essa enzima é responsável pela necessidade humana diária de molibdênio, o qual é classificado como mineral traço.

Transferases. As transferases catalisam grupos de reações de transferência de um grupo funcional para uma molécula de outro. Se o grupo transferrido é um fosfato de alta energia (como mostrado na Figura 8.3), a enzima é uma *quinase*; se o grupo transferido é um resíduo de carboidrato, a enzima é uma *glicosiltransferase;* se ele é um grupo acil ácido graxo, a enzima é uma *aciltransferase.* Uma característica comum dessas reações é que o grupo, quando transferido, é cedido com facilidade da molécula doadora.

Outra subdivisão das reações de transferência de grupo consiste em transaminações (Figura 8.20). Nesse tipo de reação, o grupo nitrogênio de um aminoácido é doado a um α-cetoácido, formando um novo aminoácido, e o α-cetoácido correspondente ao aminoácido doador. As enzimas que catalisam esse último tipo de reação são chamadas de *transaminases* ou *aminotransferases*. A coenzima piridoxal-fosfato é necessária para todas as transaminases (ver Figura 8.13).

Quando o aspecto fisiológico importante da reação é o composto sintetizado, a transferase pode ser chamada de *sintase*. Por exemplo, a enzima comumente chamada de glicogênio-sintase transfere um resíduo glicosil da UDP-glicose para o final de uma molécula de glicogênio. Seu nome sistemático é UDP-glicose-glicogênio-glicosiltransferase.



Hidrolases. Em reações de hidrólise, ligações C-O, C-N ou C-S são quebradas pela adição de H_2O na forma de OH^- e H^+ para os átomos formando a ligação (ver, p. ex., Figura 8.8). Os nomes das classes de enzima especificam o grupo a ser quebrado (p. ex., a enzima comumente chamada de quimotripsina é uma protease, uma hidrolase que quebra ligações peptídicas nas proteínas).



Liases. A classe de enzimas liase consiste em um grupo de diversas enzimas que quebram ligações C-C, C-O e C-N por outros meios exceto hidrólise ou oxidação. Algumas das enzimas catalisando a quebra da ligação C-C são chamadas de *aldolases*, *descarboxilases* (quando o dióxido de carbono é liberado de um substrato) e *tiolases* (quando o nucleófilo da cisteína contendo enxofre ou CoASH é utilizado para quebrar uma ligação carbono-carbono) (Figura 8.21). As estruturas suscetíveis à quebra de ligação carbono-carbono em geral necessitam de um carbono-carbonil que pode agir como um aceptor de elétron para estabilizar o carbânion transitório formado quando a ligação carbono-carbono é quebrada.

Essa grande classe de enzimas também inclui desidratases e muitas sintases. As *desidratases* removem os elementos da água de duas ligações carbono-carbono adjacentes para formar uma ligação dupla. Certas enzimas nesse grupo, como certo grupo de transferases, são comumente chamadas de sintases quando a direção fisiologicamente importante da reação favorece a formação de uma ligação carbono-carbono (p. ex., citrato-sintase).



Isomerases. Muitas reações bioquímicas simplesmente rearranjam os átomos existentes de uma molécula, isto é, criam isômeros do material inicial (Figura 8.22). As enzimas rearranjando a estrutura de ligação de um composto

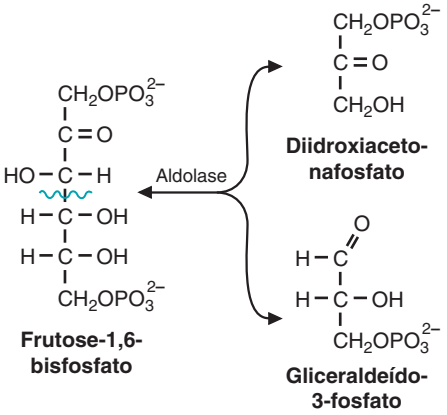


Figura 8.21 As aldolases catalisam a quebra de carbono-carbono em reações que em geral são reversíveis. Na glicólise, a enzima frutose-1,6-bisfosfato-aldolase quebra uma ligação carbono-carbono na frutose-1,6-bisfosfato. As aldolases têm um grupo ε-amino na lisina no sítio ativo que participa na reação.

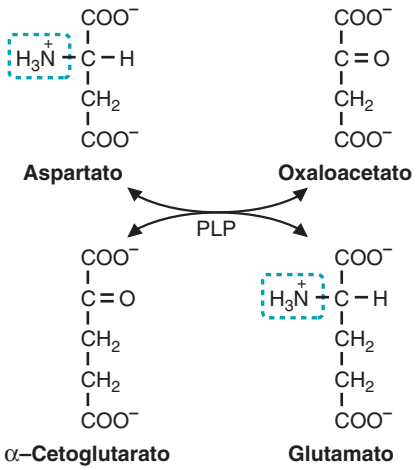


Figura 8.20 Reações de transaminação. Piridoxal-fosfato (PLP) na aspartato-aminotransferase transfere um grupo amino do aspartato para o α-cetoácido (α-cetoglutarato) para formar um novo aminoácido (glutamato). A enzima costumava ser chamada de glutamato-oxaloacetato-transaminase.

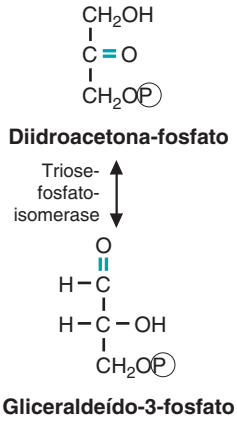


Figura 8.22 As isomerases rearranjam átomos dentro de uma molécula. Na via da glicólise, a triose-fosfato-isomerase converte diidroxiacetona-fosfato a gliceraldeído-3-fosfato por rearranjo dos átomos de hidrogênio. Não existem outros substratos ou produtos da reação.

são chamadas de *isomerases*, enquanto as enzimas que catalisam o movimento de um fosfato de um átomo para outro são chamadas de *mutases.*

Ligases. As ligases sintetizam ligações C-C, C-S, C-O e C-N nas reações acopladas à quebra de uma ligação de alta energia no ATP ou em outro nucleotídeo. As *carboxilases*, por exemplo, adicionam CO_2 a outro composto em uma reação que necessita de quebra de ATP para fornecer energia (ver Figura 8.12B). A maioria das carboxilases necessita da coenzima biotina. Outras ligases são chamadas de *sintetases* (p. ex., ácido graxo acil-CoA-sintetase). As sintetases diferem das sintases mencionadas em "liases" e "transferases de grupos", pois a sintetase obtém energia para uma nova ligação da quebra de ligações fosfato de alta energia, e a sintase utiliza uma fonte diferente de energia.

Leituras Sugeridas

Dressler D, Potter H. Discovering enzymes. Scientific American Library. New York: W.H. Freeman, 1991. Fersht A. Structure and Mechanism in Protein Science. New York: W.H. Freeman, 1999.

EPA tem uma boa página de internet para informação sobre compostos organofosfatos em www.epa.gov/pesticides.

O banco de dados ENZIMA (http://www.expasy.ch/enzime/) fornece informação básica sobre enzimas específicas. Ele é fundamentado nas recomendações do Comite de Nomenclatura da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology). Nesse banco de dados, pode-se obter o número EC de qualquer enzima, seu nome recomendado, nomes alternativos, co-fatores e doenças humanas associadas à enzima. Pode-se também encontrar a enzima a partir do nome da reação que ela catalisa – na via metabólica na qual ela participa – até o esquema intrincado de vias bioquímicas da firma Boehringer Mannheim. Pode-se, ainda, pesquisar o banco de dados para metabólitos ou vias.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 8

As questões a seguir se referem ao material dos Capítulos 6 e 7, bem como do Capítulo 8 (incluindo Comentários Bioquímicos).

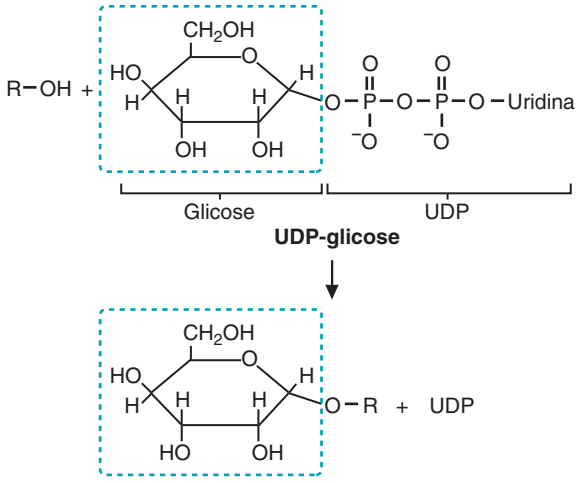
1. Um paciente nasceu com uma mutação congênita em uma enzima, afetando gravemente sua habilidade de ligar uma coenzima de ativação-transferência. Como uma conseqüência,
   (A) a enzima seria capaz de ligar o substrato da reação.
   (B) a enzima não seria capaz de formar o complexo de estado transitório.
   (C) a enzima utilizaria normalmente uma coenzima de ativação-transferência diferente.
   (D) a enzima normalmente substituiria o grupo funcional de um resíduo de aminoácido do sítio ativo por uma coenzima.
   (E) a reação poderia ser realizada por outra coenzima livre, se a dieta tivesse uma quantidade adequada de sua vitamina precursora.

2. Um indivíduo tem uma mutação congênita na glicoquinase na qual uma prolina foi substituída por uma leucina em uma hélice da superfície longe do sítio ativo, mas dentro da região de dobradiça da dobra de actina. Espera-se que essa mutação
   (A) não tenha efeito sobre a velocidade da reação, pois ela não está no sítio ativo.
   (B) não tenha efeito na velocidade da reação, pois prolina e leucina são aminoácidos apolares.
   (C) não tenha efeito no número de moléculas que atingem o estado transitório.
   (D) provavelmente afete a ligação de ATP ou uma etapa subseqüente na seqüência da reação.
   (E) provavelmente faça a reação proceder por um mecanismo alternativo.

3. Um paciente desenvolveu um crescimento exagerado de bactérias no intestino que diminui o pH dos conteúdos luminais do pH normal de aproximadamente 6,5 para 5,5. Essa diminuição do pH provavelmente

(A) desnatura proteínas que chegam ao intestino com sua estrutura nativa intacta.
(B) rompe pontes de hidrogênio essenciais para a manutenção da estrutura terciária.
(C) inibe enzimas intestinais dependentes da histidina para a catálise ácido-base.
(D) inibe enzimas intestinais dependentes de uma lisina do sítio ativo para a ligação do substrato.
(E) tem pouco efeito sobre hidrolases.

As questões 4 e 5 se referem à reação mostrada a seguir:



4. O tipo de reação mostrada se encaixa em qual das seguintes classificações?

(A) Transferência de grupo
(B) Isomerização
(C) Quebra de ligação carbono-carbono
(D) Formação de ligação carbono-carbono
(E) Oxirredução

5. O tipo de enzima que catalisa esta reação é uma

(A) quinase
(B) desidrogenase
(C) glicosiltransferase
(D) transaminase
(E) isomerase

9 Regulação de Enzimas

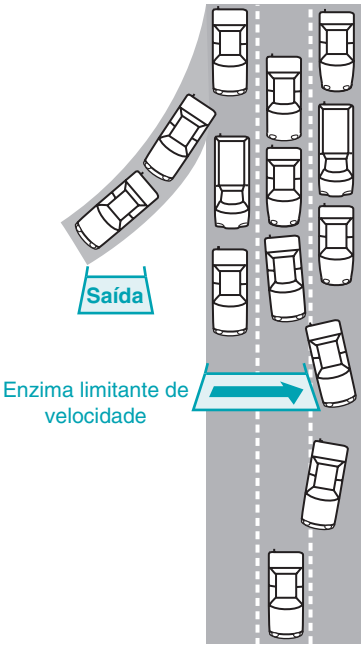


Figura 9.1 O fluxo de substratos pela rota metabólica é análogo a carros viajando por uma auto-estrada. A enzima limitante de velocidade é a porção da auto-estrada que é estreitada para uma pista por uma barreira. Essa única porção da auto-estrada limita a velocidade com a qual os carros chegam ao seu destino final milhas mais tarde. Os carros se acumularão antes da barreira (similar ao aumento da concentração de um precursor quando a enzima limitante de velocidade é inibida). Alguns carros podem sair e pegar uma rota alternativa (similar a precursores entrando em outra rota metabólica). Movimentar a barreira apenas um pouco para abrir uma pista adicional é como ativar a enzima limitante de velocidade; ela aumenta o fluxo através de toda a extensão da via.

No corpo, milhares de enzimas diferentes são reguladas para realizar suas funções individuais sem a perda de componentes da dieta. Assim, com alterações em estado fisiológico, horário da alimentação, ambiente, dieta ou idade, as velocidades de algumas enzimas podem aumentar e de outras diminuir. Neste capítulo, serão descritos os mecanismos para a regulação da atividade de enzimas e as estratégias empregadas para regular as vias metabólicas nas quais elas estão.

***Regulação corresponde à função**. As alterações na velocidade de uma rota metabólica ocorrem porque pelo menos uma enzima naquela via, a **enzima regulatória**, foi **ativada** ou **inibida**, ou a quantidade de enzima foi aumentada ou diminuída. As enzimas regulatórias em geral catalisam a etapa **limitante de velocidade**, ou mais lenta, na via, de tal modo que um aumento ou uma diminuição de sua velocidade altera a velocidade de toda a rota (Figura 9.1). Os mecanismos utilizados para regular a enzima limitante de velocidade em uma rota refletem a função da via.*

***Concentração do substrato**. A velocidade de todas as enzimas é dependente da concentração de substrato. As enzimas exibem **cinética de saturação**; sua velocidade aumenta com o aumento da concentração do substrato [S], mas elas atingem uma velocidade máxima ($V_{máx}$) quando estão saturadas com substrato. Para muitas, a **equação de Michaelis-Menten** descreve a relação entre v_i (a velocidade inicial da reação), [S], $V_{máx}$ e $\mathbf{K_m}$ (a concentração do substrato na qual $v_i = 1/2\ V_{máx}$).*

***Inibição reversível**. As enzimas são reversivelmente inibidas por **análogos estruturais** e **produtos**. Esses inibidores são classificados como **competitivo, não-competitivo** ou **incompetitivo**, dependendo de seu efeito na formação do **complexo enzima-substrato**.*

***Enzimas alostéricas**. **Ativadores** ou **inibidores alostéricos** são compostos que se ligam a outros sítios, e não no sítio catalítico ativo, e regulam a enzima por **alterações conformacionais** afetando o sítio catalítico.*

***Modificação covalente**. A atividade da enzima também pode ser regulada por uma modificação covalente, como a **fosforilação** de um resíduo de serina, treonina ou tirosina por uma **proteína-quinase**.*

***Interações proteína-proteína**. A atividade da enzima pode ser modulada por ligação reversível de uma **proteína moduladora**, como **Ca^{2+}-calmodulina**. As **proteínas G monoméricas** (proteínas ligadoras de GTP) ativam proteínas-alvo por ligação reversível.*

***Quebra de zimogênio**. Algumas enzimas são sintetizadas como precursores inativos, chamados de zimogênios, que são ativados pela **proteólise** (p. ex., a enzima digestiva quimotripsina).*

***Alterações na concentração da enzima**. A concentração pode ser regulada por alterações na velocidade de síntese de uma enzima (p. ex., indução de transcrição gênica) ou na velocidade de degradação.*

***Regulação das vias metabólicas**. Os mecanismos regulatórios para a enzima limitante de velocidade de uma rota sempre refletem a **função da rota em um tecido particular**. Na **regulação por feedback (retroalimentação)**, o produto final de uma rota direta ou indiretamente controla sua própria velocidade de síntese; na*

*regulação por **feedforward (ântero-alimentação)**, o substrato controla a velocidade da via. As vias **biossintéticas** e **de degradação** são controladas por **regulações** diferentes, mas **complementares**. As vias também são reguladas por **compartimentalização** de enzimas.*



SALA DE ESPERA



Al Martini é um homem de 44 anos que tem sido alcoólatra desde os últimos cinco anos. Ele recentemente foi hospitalizado por insuficiência cardíaca congestiva (ver Capítulo 8). Após ter sido liberado do hospital, ele continuou a beber. Uma noite ele chegou na casa de um amigo às 19 horas. Entre sua chegada e as 23 horas, ele bebeu quatro cervejas e cinco martinis (um consumo total de etanol de 269,92 mL). Seus amigos o encorajaram a ficar por mais uma hora e a beber café para ficar sóbrio. Contudo, na estrada, a caminho para casa, colidiu seu carro. Ele foi levado para a emergência do hospital local e preso por dirigir alcoolizado. Sua concentração de álcool no sangue no momento da prisão era de 240 mg/dL, comparado com o limite legal de etanol para dirigir de 80 mg/dL.



Ann O'Rexia, uma mulher de 23 anos, 1,70 m, está sendo tratada para anorexia nervosa (ver Capítulos 1 a 3). Ela tem ganho peso e está agora de volta a 45 kg após uma baixa para 38,5 kg. A glicose sangüínea ainda está abaixo do normal (glicose sangüínea em jejum de 72 mg/dL, comparada com um espectro normal de 80 a 100 mg/dL). Ela se queixa de cansaço quando corre e está preocupada se o "peso extra" que ganhou está diminuindo seu ritmo.

Embora a regulação de vias metabólicas seja um assunto excessivamente complexo, que é tratado na maioria dos capítulos subseqüentes deste texto, diversos temas comuns estão envolvidos. A regulação fisiológica de uma rota metabólica depende da habilidade de alterar o fluxo através da rota pela ativação da enzima catalisadora da etapa limitante de velocidade na rota (ver Figura 9.1). O tipo de regulação empregada sempre reflete a função e a necessidade da rota em um tecido ou tipo celular específico. Vias produzindo um produto necessário em geral são reguladas por um mecanismo de retroalimentação envolvendo direta ou indiretamente a concentração do produto (p. ex., inibição ou inibição/repressão alostérica da síntese da enzima). A concentração de produto sinaliza quando uma quantidade suficiente do produto foi sintetizada. As vias de armazenamento e excreção tóxica em geral são reguladas direta ou indiretamente por um mecanismo de *feedforward* (ântero-alimentação), refletindo a disponibilidade de precursor. As enzimas regulatórias com freqüência são isoenzimas tecido-específicas, cujas propriedades refletem as diferentes funções de uma rota em tecidos específicos. As vias também são reguladas por meio de compartimentalização, agrupamento de enzimas com uma função dentro de uma organela ou em um sítio específico na célula.

Os mecanismos empregados para regular as enzimas foram organizados em três categorias gerais: regulação por compostos que se ligam reversivelmente no sítio ativo (incluindo dependência de velocidade na concentração do substrato e níveis de produto); regulação por alteração da conformação do sítio ativo (incluindo reguladores alostéricos, modificação covalente, interações proteína-proteína e quebra de zimogênio), e regulação por alteração da concentração de enzima (síntese e degradação de enzima).



Em geral, serão utilizadas as vias de oxidação de substratos para energia para ilustrar o papel de vários mecanismos de regulação de enzimas nas vias metabólicas. Os Capítulos 1 a 3 fornecem uma visão geral dos nomes e das funções dessas vias, incluindo ciclo TCA, glicólise, síntese de glicogênio, glicogenólise e oxidação de ácidos graxos.

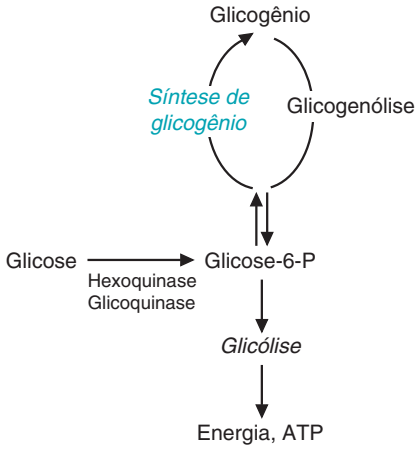


Al Martini não foi capaz de retirar o etanol do sangue rápido o suficiente para ficar dentro do limite legal para dirigir. O etanol é retirado do sangue em cerca de 15 mg/dL por hora. O metabolismo hepático é responsável por mais de 90% da depuração do sangue. A maior rota do metabolismo do etanol no fígado é a enzima hepática álcool-desidrogenase (ADH), a qual oxida etanol a acetaldeído com a produção de NADH.

$$\text{Etanol} + NAD^+ \rightarrow \text{Acetaldeído} + NADH + H^+$$

O complexo multienzimático MEOS (sistema microssomal de oxidação do etanol, do inglês *microsomal ethanol oxidizing system*), o qual também é chamado de P450-2E1, fornece uma rota adicional para a oxidação de etanol a acetaldeído no fígado.

Um dos substratos energéticos utilizados pelos músculos esqueléticos de **Ann O'Rexia** para correr é a glicose, a qual é convertida em glicose-6-fosfato (glicose-6-P) pelas enzimas hexoquinase (HK) e glicoquinase (GK). A glicose-6-P é metabolizada na rota da glicólise para gerar ATP. Essa rota é regulada por retroalimentação, de tal modo que, à medida que seus músculos utilizarem ATP, a velocidade da glicólise será aumentada para gerar mais ATP.



Quando ela está descansando, os músculos e o fígado convertem glicose-6-fosfato em glicogênio (uma rota de armazenamento de substrato energético, mostrada em azul). A síntese de glicogênio é regulada por *feedforward* (ântero-alimentação) pelo suprimento de glicose e por insulina e outros hormônios que sinalizam a disponibilidade de glicose.

A glicogenólise (degradação de glicogênio) é ativada durante o exercício para fornecer glicose-6-fosfato adicional para a glicólise. A menos que Ann consuma calorias suficientes, suas reservas de glicogênio não serão refeitas após o exercício, e ela ficará cansada facilmente.

I. REGULAÇÃO POR CONCENTRAÇÃO DE SUBSTRATO E PRODUTO

A. Velocidade e Concentração de Substrato

A velocidade de todas as reações enzimáticas é dependente da concentração de substrato. Essa dependência é evidenciada em condições como jejum, na qual diversas vias são desprovidas de substrato. Em contraste, as vias de armazenamento (p. ex., conversão da glicose a glicogênio no fígado) e as vias de excreção de lixo tóxico (p. ex., o ciclo da uréia, o qual impede a toxicidade de NH_4^+ por sua conversão em uréia) normalmente são reguladas para acelerar quando mais substrato está disponível. Nas seções seguintes, será utilizada a equação de Michaelis-Menten para descrever a resposta das alterações na concentração do substrato e a glicoquinase para ilustrar o papel do suprimento de substrato na regulação da atividade da enzima.

1. EQUAÇÃO DE MICHAELIS-MENTEN

As equações da cinética enzimática fornecem uma maneira quantitativa de descrever como a velocidade de enzima depende da concentração do substrato. A mais simples dessas equações, a equação de Michaelis-Menten, relaciona a velocidade inicial (v_i) à concentração de substrato [S] e os dois parâmetros K_m e $V_{máx}$ (Equação 9.1). A $V_{máx}$ da enzima é a velocidade máxima que pode ser atingida com uma concentração infinita de substrato, e o K_m da enzima para um substrato é a concentração de substrato necessária para atingir 1/2 $V_{máx}$. O modelo de Michaelis-Menten de cinética de enzimas se aplica para uma reação simples na qual a enzima e o substrato formam um complexo enzima-substrato (ES) que pode se dissociar, novamente, em enzima livre e substrato. A velocidade inicial da formação de produto, v_i, é proporcional à concentração de complexos de enzima-substrato [ES]. À medida que a concentração do substrato é aumentada, a concentração dos complexos enzima-substrato e a velocidade da reação aumentam proporcionalmente.

O gráfico da equação de Michaelis-Menten (v_i como uma função da concentração de substrato) é uma hipérbole retangular que se aproxima de um limite finito, $V_{máx}$, à

A equação de Michaelis-Menten relaciona a velocidade inicial da reação (v_i) com a concentração do complexo enzima-substrato (ES). Essa equação é desenvolvida para uma reação na qual um único substrato, S, é convertido em um produto, P. A enzima (E) e o S se associam para formar ES com a velocidade constante de k_1. O complexo se dissocia com velocidade constante de k_2, ou é convertido em P com a velocidade constante k_3. Sob condições nas quais [S] >> [E], [P] é desprezível, e a velocidade de conversão de ES para um complexo enzima-produto é muito rápida, $v_i = k_3$ [ES]. A concentração de ES é uma fração de E_T, a quantidade total de enzima presente como ES e E.

Portanto,

$$v_i = k_3[ES] = \frac{k_3[ET][S]}{K_m + [S]}$$

Onde $K_m = (k_2 + k_3)/k_1$. A substituição de $V_{máx}$ por k_3 [ET] resulta na equação de Michaelis-Menten (ver Equação 9.1).

Equação 9.1 A equação de Michaelis-Menten:

Para a reação

$$E + S \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} ES \xrightarrow{k_3} P$$

A equação de Michaelis-Menten é dada por:

$$v_i = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

Onde $K_m = (k_2 + k_3)/k_1$
e $V_{máx} = k_3 [ET]$

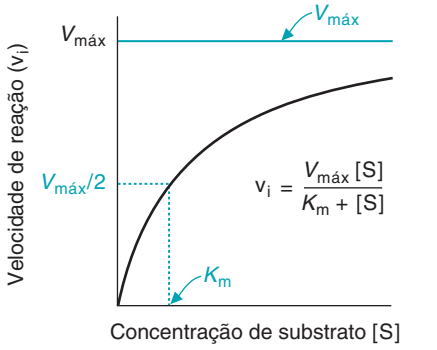


Figura 9.2 Um gráfico da equação de Michaelis-Menten. $V_{máx}$ (linhas azuis sólidas) é a velocidade inicial extrapolada para o infinito [S]. K_m (linha azul tracejada) é a concentração de S na qual $v_i = V_{máx}/2$.

medida que a fração total da enzima presente como complexo enzima-substrato aumenta (Figura 9.2).

A uma concentração de substrato hipoteticamente infinita, todas as moléculas da enzima contêm substrato ligado, e a velocidade da reação corresponde à $V_{máx}$. A aproximação do limite finito de $V_{máx}$ é chamada de cinética de saturação devido ao fato de a velocidade não poder mais ser aumentada uma vez que a enzima está saturada com substrato. A cinética de saturação é uma propriedade característica de todos os processos de velocidade dependentes da ligação de um composto a uma proteína.

O K_m da enzima por um substrato é definido como a concentração de substrato, na qual v_i é igual a 1/2 $V_{máx}$. A velocidade de uma enzima é mais sensível a alterações na concentração do substrato quando a variação da concentração está abaixo de seu K_m (ver Figura 9.2). Em concentrações de substrato menores do que 1/10 do K_m, dobrar a concentração do substrato quase dobra a velocidade da reação; em concentrações de substrato 10 vezes o K_m, dobrar a concentração do substrato tem pouco efeito na velocidade.

O K_m de uma enzima por um substrato está relacionado com a constante de dissociação, K_d, a qual é a velocidade de liberação do substrato dividida pela velocidade de ligação do substrato. Por exemplo, uma mutação genética que diminui a velocidade de ligação do substrato à enzima diminui a afinidade da enzima pelo substrato e aumenta o K_d e o K_m da enzima por aquele substrato. Quanto maior o Km, tanto maior a concentração do substrato necessária para atingir 1/2 $V_{máx}$.

2. ISOENZIMAS HEXOQUINASE TÊM DIFERENTES VALORES DE K_M PARA A GLICOSE

Uma comparação entre as isoenzimas da hexoquinase encontradas em células sangüíneas vermelhas e no fígado ilustra o significado do K_m de uma enzima pelo seu substrato. A hexoquinase catalisa a primeira etapa do metabolismo da glicose na maioria das células, a transferência de um fosfato do ATP para a glicose formando glicose-6-fosfato. A glicose-6-fosfato pode, então, ser metabolizada na glicólise, a qual gera energia na forma de ATP, ou ser convertida em glicogênio, um polímero de armazenamento de glicose. A hexoquinase 1, a isoenzima nas células sangüíneas vermelhas (eritrócitos), tem um K_m para a glicose de aproximadamente 0,05 mM (Figura 9.3). A isoenzima da hexoquinase, chamada de glicoquinase, a qual é encontrada no fígado e no pâncreas, tem um K_m muito maior de aproximadamente 5 a 6 mM. As células sangüíneas vermelhas são totalmente dependentes do metabolismo da glicose para obter suas necessidades de ATP. No jejum normal, a glicose sangüínea pode diminuir drasticamente para menos de seu nível normal dos eritrócitos, cerca de 5 mM. Devido ao K_m baixo da hexoquinase, a célula sangüínea vermelha consegue, ainda, fosforilar glicose em velocidades próximas à $V_{máx}$. O fígado, contudo, armazena grandes quantidades do excesso de glicose como glicogênio ou a converte em gordura. Devido ao fato de a glicoquinase ter um K_m de aproximadamente 5 mM, a velocidade de fosforilação da glicose no fígado tenderá a aumentar à medida que a glicose sangüínea aumenta após uma refeição rica em carboidratos e diminuir à medida que os níveis de glicose sangüínea diminuem. O alto K_m da glicoquinase hepática promove, assim, o armazenamento de glicose como glicogênio hepático ou como gordura, mas apenas quando a glicose está sendo fornecida em excesso.

MODY. Os pacientes com diabetes do jovem com início na maturidade (do inglês *maturity onset diabetes of the young*, MODY) têm uma forma genética rara de diabetes melito, na qual a quantidade de insulina sendo secretada pelo pâncreas é baixa demais, resultando em hiperglicemia. A doença é causada por mutações no gene da glicoquinase pancreática (uma isoenzima intimamente relacionada com a glicoquinase hepática) que afetam suas propriedades cinéticas (K_m ou $V_{máx}$). A glicoquinase é parte do mecanismo controlador da liberação de insulina pelo pâncreas. Uma atividade diminuída da glicoquinase resulta em secreção mais baixa de insulina para um dado nível sangüíneo de glicose.

Quando **Ann O'Rexia** come uma refeição rica em carboidratos, sua glicose sangüínea sobe para aproximadamente 20 mM na veia porta, e muito da glicose de sua refeição de carboidratos entrará no fígado. Como é alterada a atividade da glicoquinase no fígado à medida que a glicose aumenta de 4 mM para 20 mM? (Dica: Calcule v_i como uma fração de $V_{máx}$ para ambas as condições, utilizando um K_m para a glicose de 5 mM e a equação de Michaelis-Menten.)

R: A glicoquinase, a qual tem um K_m alto para a glicose, fosforila glicose a glicose-6-fosfato cerca de duas vezes mais rapidamente depois de uma refeição com carboidratos do que durante o jejum. Substitua o valor de S e K_m na equação de Michaelis-Menten. A velocidade inicial será 0,44 vezes a $V_{máx}$ quando a glicose sangüínea é de 4 mM e cerca de 0,80 vezes a $V_{máx}$ quando a glicose sangüínea é de 20 mM. No fígado, a glicose-6-fosfato é um precursor tanto do glicogênio como da síntese de gordura. Assim, essas vias de armazenamento são parcialmente reguladas por um efeito direto do suprimento de substrato. Elas também são parcialmente reguladas por um aumento na insulina e uma diminuição do glucagon, dois hormônios que sinalizam o suprimento de substratos combustíveis da dieta.

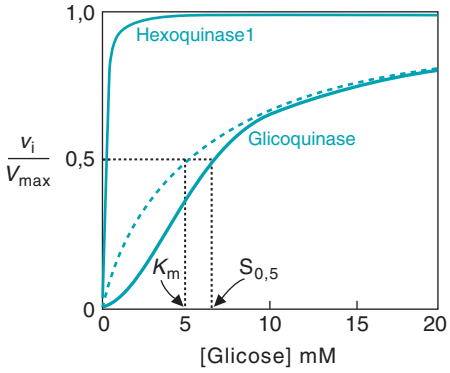


Figura 9.3 Uma comparação entre hexoquinase I e glicoquinase. A velocidade inicial (v_i) como uma fração de $V_{máx}$ é colocada em um gráfico como função da concentração de glicose. O gráfico para a glicoquinase (linhas azuis grossas) é levemente sigmoidal (forma S), possivelmente devido ao fato de a velocidade de uma etapa intermediária na reação ser tão lenta que a enzima não segue a cinética de Michaelis-Menten. A linha tracejada azul foi derivada da equação de Michaelis-Menten obtida com os dados de concentrações de glicose acima de 5 mM. Para curvas com forma S, a concentração de substrato necessária para atingir metade da $V_{máx}$, ou meia saturação, algumas vezes é chamada de $S_{0,5}$ ou $K_{0,5}$, em vez de K_m. A $v_i/V_{máx}$ = 0,5, o K_m é 5 mM, e o $S_{0,5}$ é 6,7 mM.

3. VELOCIDADE E CONCENTRAÇÃO DA ENZIMA

A velocidade de uma reação é diretamente proporcional à concentração da enzima; se a quantidade de enzima é dobrada, a quantidade de produto produzido por minuto será dobrada, em concentrações baixas ou de saturação do substrato. Essa importante relação entre velocidade e concentração da enzima não é imediatamente aparente na equação de Michaelis-Menten, pois a concentração de enzima total presente (E_t) foi incorporada ao termo $V_{máx}$ (isto é, $V_{máx}$ é igual à velocidade constante k_3 vezes E_t). Contudo, $V_{máx}$ é expressa com mais freqüência como produto produzido por minuto por miligrama de enzima e deve refletir uma propriedade da enzima que não é dependente de sua concentração.

O uso de $V_{máx}$ na literatura médica para descrever a velocidade máxima na qual certa quantidade de tecido converte substrato a produto pode ser confuso. A melhor maneira para descrever um aumento na atividade da enzima em um tecido é dizer que houve um aumento da capacidade metabólica máxima do tecido. Em contraste, o termo k_{cat} se desenvolveu para descrever claramente a velocidade na qual uma enzima pode catalisar uma reação sob condições de saturação de concentração do substrato. A constante de velocidade k_{cat}, o número de renovação da enzima, tem como unidade min^{-1} (micromoles de produto formados por minuto dividido pelos micromoles de sítio ativo).

4. REAÇÕES COM MÚLTIPLOS SUBSTRATOS

Algumas enzimas têm mais de um substrato, e os sítios de ligação de substrato se sobrepõem no sítio (ativo) catalítico. Quando uma enzima tem mais de um substrato, a seqüência de ligação de substrato e a liberação de produto afetam a velocidade da reação. Como conseqüência, um valor aparente de K_m ($k_{m,ap}$) depende da concentração de co-substrato ou produto presente.

A álcool-desidrogenase hepática, mais ativa em oxidar o etanol, tem um K_m muito baixo para etanol, de aproximadamente 0,04 mM, e está acima de 99% de sua $V_{máx}$ no limite legal da concentração de álcool no sangue para dirigir (80 mg/dL ou cerca de 17 mM). Em contraste, a isoenzima MEOS mais ativa para o etanol tem um K_m de aproximadamente 11 mM. Assim, MEOS dá uma contribuição maior para a oxidação e a depuração do etanol do sangue em níveis mais altos de etanol do que em níveis mais baixos. Lesão do fígado, tal como cirrose, resulta parcialmente dos produtos tóxicos da oxidação do etanol gerados por MEOS. **Al Martini**, o qual tem níveis sangüíneos de álcool de 240 mg/dL (aproximadamente 52 mM), está bebendo o suficiente para causar lesão hepática, bem como acidente de carro e prisão por dirigir alcoolizado. As várias isoenzimas e os polimorfismos da álcool-desidrogenase e MEOS são discutidos em mais detalhes no Capítulo 25.

5. VELOCIDADES DAS REAÇÕES CATALISADAS POR ENZIMAS NA CÉLULA

As equações para a velocidade inicial de uma reação catalisada por enzima, como a equação de Michaelis-Menten, podem fornecer parâmetros úteis para descrever ou comparar enzimas. Contudo, muitas enzimas com múltiplos substratos, como a glicoquinase, têm padrões cinéticos que não se encaixam no modelo de Michaelis-Menten (ou o fazem sob condições não-fisiológicas). O modelo de Michaelis-Menten também é inaplicável para as enzimas presentes em uma concentração mais alta do que seus substratos. Contudo, o termo "K_m" ainda é utilizado para essas enzimas para descrever a concentração aproximada de substrato na qual a velocidade é igual 1/2 $V_{máx}$.

B. Inibição Reversível Dentro do Sítio Ativo

Uma das maneiras de alterar a atividade da enzima é por meio de compostos que se ligam ao sítio ativo. Se esses compostos não fazem parte da reação normal, eles inibem a enzima. Um inibidor de uma enzima é definido como um composto que diminui a velocidade da reação pela ligação à enzima. Ele é um inibidor reversível se não é covalentemente ligado à enzima e pode se dissociar com uma velocidade significativa. Os inibidores reversíveis em geral são classificados como competitivo, não-competitivo ou incompetitivo no que se refere à relação entre substrato e enzima. Na maioria das reações, os produtos da reação enzimática são inibidores reversíveis das enzimas que os produzem.

1. INIBIÇÃO COMPETITIVA

Um inibidor competitivo "compete" com um substrato pela ligação no sítio de reconhecimento do substrato na enzima e, portanto, em geral é um análogo estrutural do substrato (Figura 9.4). Um aumento de concentração do substrato pode vencer a inibição competitiva; quando a concentração do substrato é aumentada para um nível suficientemente alto, os sítios de ligação do substrato estão ocupados, e as moléculas inibidoras não podem se ligar. Os inibidores competitivos, portanto, aumentam o K_m aparente da enzima ($K_{m,ap}$), pois ela aumenta a concentração de substrato necessária para saturar a enzima. Eles não têm efeito na $V_{máx}$.

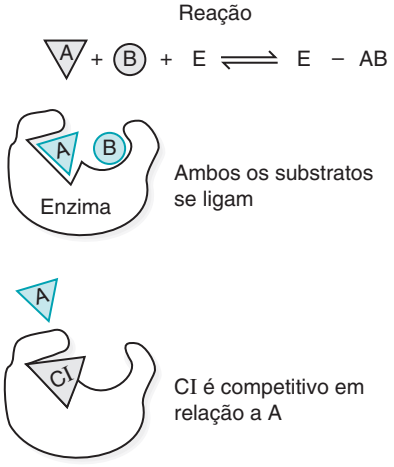


Figura 9.4 Inibição competitiva com respeito ao substrato A. A e B são substratos para a reação formando o complexo enzima-substrato (E-AB). A enzima tem sítios de ligação separados para cada substrato, os quais se sobrepõem ao sítio ativo. O inibidor competitivo (CI, do inglês *competitive inhibitor*) compete pelo sítio de ligação de A, o substrato com o qual ele mais se assemelha.

Alguns dos problemas de **Al Martini** se originaram da inibição por produto da álcool-desidrogenase por NADH. Como o etanol é oxidado nas células hepáticas, o NAD^+ é reduzido a NADH, e a relação NADH/NAD^+ se eleva. O NADH é um inbidor da álcool-desidrogenase, competitivo com respeito a NAD^+; assim, quando a razão NADH/NAD^+ aumenta, diminui a velocidade da oxidação e da retirada do etanol do sangue.

O NADH também é um produto inibidor de enzimas na rota que oxida ácidos graxos. Como conseqüência, esses ácidos graxos acumulam no fígado, eventualmente contribuindo para o fígado gorduroso alcoólico.

2. INIBIÇÃO NÃO-COMPETITIVA E INCOMPETITIVA

Se um inibidor não compete com um substrato por seu sítio de ligação, ele é um inibidor não-competitivo ou incompetitivo com respeito àquele substrato específico (Figura 9.5). Para ilustrar a inibição não-competitiva, considere uma reação de múltiplos substratos na qual os substratos A e B reagem para formar um produto. Um inibidor (NI) que é um análogo estrutural do substrato B se encaixaria no sítio de ligação do B, mas o inibidor seria não-competitivo em relação ao outro substrato, substrato A. Um aumento de A não impediria o inibidor de se ligar ao sítio de ligação do substrato B. O inibidor, em efeito, diminui a concentração da enzima ativa e, portanto, altera a $V_{máx}$ da enzima. Se o inibidor não tem absolutamente nenhum efeito sobre a ligação do substrato A, ele não altera o K_m para A (um inibidor não-competitivo puro).

Alguns inibidores, como os metais, podem não se ligar ao mesmo sítio de reconhecimento do substrato. Nesse caso, o inibidor seria não-competitivo em relação a ambos os substratos.

Um inibidor que é incompetitivo com respeito a um substrato irá se ligar apenas à enzima contendo aquele substrato. Suponha, por exemplo, que na Figura 9.5 um inibidor que é um análogo estrutural de B e se liga ao sítio B poderia se ligar apenas a uma enzima que contém A. Esse inibidor seria chamado de incompetitivo com respeito a A. Ele diminuiria ambos o $V_{máx}$ da enzima e seu K_m aparente para A.

3. INIBIÇÃO SIMPLES POR PRODUTO EM VIAS METABÓLICAS

Todos os produtos são inibidores reversíveis das enzimas que os produzem e podem ser competitivos, não-competitivos ou incompetitivos em relação a um substrato específico. A inibição por produto simples, uma diminuição na velocidade de uma enzima causada pela acumulação de seu próprio produto, tem um papel importante nas vias metabólicas; ela impede uma enzima em uma seqüência de reações de gerar um produto mais rápido do que ele pode ser utilizado pela próxima enzima na seqüência.

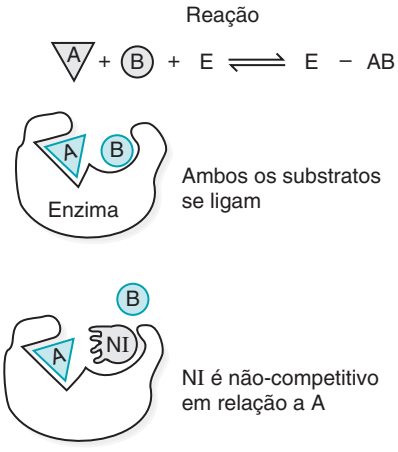


Figura 9.5 NI é um inibidor não-competitivo com respeito ao substrato A. A pode ainda se ligar ao sítio de ligação na presença de NI. Contudo, NI é competitivo com respeito a B, pois se liga ao sítio de ligação de B. Em contraste, um inibidor que é incompetitivo com respeito a A também pode ser parecido com B, mas ele poderia se ligar ao sítio B apenas após A estar ligado.

A inibição por produto da hexoquinase por glicose-6-fosfato diminui a utilização da glicose do sangue necessária para os outros tecidos. Os tecidos captam a glicose do sangue e fosforilam a glicose-6-fosfato, a qual, então, entra em um número diferente de vias (incluindo glicólise e síntese de glicogênio). À medida que essas vias se tornam mais ativas, a concentração de glicose-6-fosfato diminui, e a velocidade da hexoquinase aumenta. Quando essas vias estão menos ativas, a concentração de glicose-6-fosfato aumenta, a hexoquinase é inibida, e a glicose permanece no sangue para outros tecidos.

III. REGULAÇÃO POR MEIO DE ALTERAÇÕES CONFORMACIONAIS

Na resposta do substrato e na inibição por produto, a velocidade da enzima é afetada principalmente pela ligação de um substrato ou produto dentro do sítio catalítico. A maioria das enzimas limitantes de velocidade também é controlada por mecanismos regulatórios que alteram a conformação da enzima de um modo que afetam o sítio catalítico. Esses mecanismos regulatórios incluem: (1) ativação ou inibição alostérica; (2) fosforilação ou outra modificação covalente; (3) interações proteína-proteína entre subunidades regulatórias e catalíticas, ou entre duas proteínas, e (4) quebra proteolítica. Esses tipos de regulação podem rapidamente alterar uma enzima de uma forma inativa para uma conformação totalmente ativa.

Nas seções a seguir, serão descritas as características gerais desses mecanismos regulatórios e serão ilustrados os três primeiros com a glicogênio-fosforilase, glicogênio-fosforilase-quinase e proteína-quinase A.

A. Alterações Conformacionais nas Enzimas Alostéricas

Os ativadores e os inibidores alostéricos (efetores alostéricos) são compostos que se ligam ao sítio alostérico (um sítio separado do sítio catalítico) e causam uma alteração conformacional que afeta a afinidade da enzima pelo substrato. Em geral uma enzima alostérica tem múltiplas subunidades interativas que podem existir em conformações ativas e inativas, e o efetor alostérico promove ou impede a conversão de uma conformação na outra.

1. COOPERATIVIDADE NA LIGAÇÃO DO SUBSTRATO A ENZIMAS ALOSTÉRICAS

As enzimas alostéricas em geral contêm duas ou mais subunidades e exibem cooperatividade positiva; a ligação do substrato a uma subunidade facilita a ligação do substrato a outra subunidade (Figura 9.6). A primeira molécula de substrato tem dificuldade em se ligar à enzima, pois todas as subunidades estão na conformação com baixa afinidade para o substrato (a conformação tensa "T") (ver Capítulo 7, Seção VII.B). A primeira molécula de substrato que se liga altera sua própria subunidade e pelo menos uma subunidade subjacente à conformação de alta afinidade (o estado relaxado "R"). No exemplo do tetrâmero da hemoglobina, discutido no Capítulo 7, a alteração em uma subunidade facilitava alterações em todas as quatro subunidades, e a molécula em geral muda a sua estrutura para a nova conformação. Contudo, a maioria das enzimas alostéricas segue uma progressão com mais etapas (seqüencial) por estágios intermediários (ver Figura 9.6).

2. ATIVADORES E INIBIDORES ALOSTÉRICOS

Os ativadores se ligam no sítio alostérico das enzimas alostéricas, um sítio fisicamente separado do sítio catalítico. A ligação de um ativador alostérico altera a conformação do sítio catalítico de uma maneira que aumenta a afinidade da enzima pelo substrato.

Em geral, os ativadores de enzimas alostéricas se ligam mais fortemente ao estado de alta afinidade R da enzima que ao estado T (ou seja, o sítio alostérico é aberto apenas na enzima R) (Figura 9.7). Assim, os ativadores aumentam a quantidade de enzima no estado ativo, facilitando, assim, a ligação do substrato na sua própria subunidade e nas outras. Em contraste, os inibidores alostéricos se ligam mais fortemente ao estado T; assim, tanto a concentração do substrato como a concentração do ativador devem estar aumentadas para vencer os efeitos do inibidor alostérico. Os inibidores alostéricos podem ter seu próprio sítio de ligação na enzima ou podem competir com o substrato no sítio ativo e impedir a cooperatividade. Assim, o termo "inibidor alostérico" em geral é mais aplicado a qualquer inibidor de uma enzima alostérica.

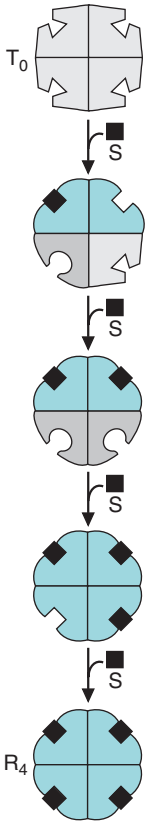


Figura 9.6 Um modelo seqüencial para uma enzima alostérica. O modelo seqüencial é de fato o caminho preferido da conformação de baixa afinidade T_0 (tensa, com nenhum substrato ligado) para a conformação R_4 (relaxada, com quatro moléculas de substrato ligadas), escolhido de todas as possíveis conformações de equilíbrio que diferem pela conformação em uma única subunidade. O resultado final é uma rota em etapas na qual conformações intermediárias existem, e subunidades podem mudar de conformação de forma independente, tendo em vista sua relação geométrica com as subunidades já contendo substrato ligado.

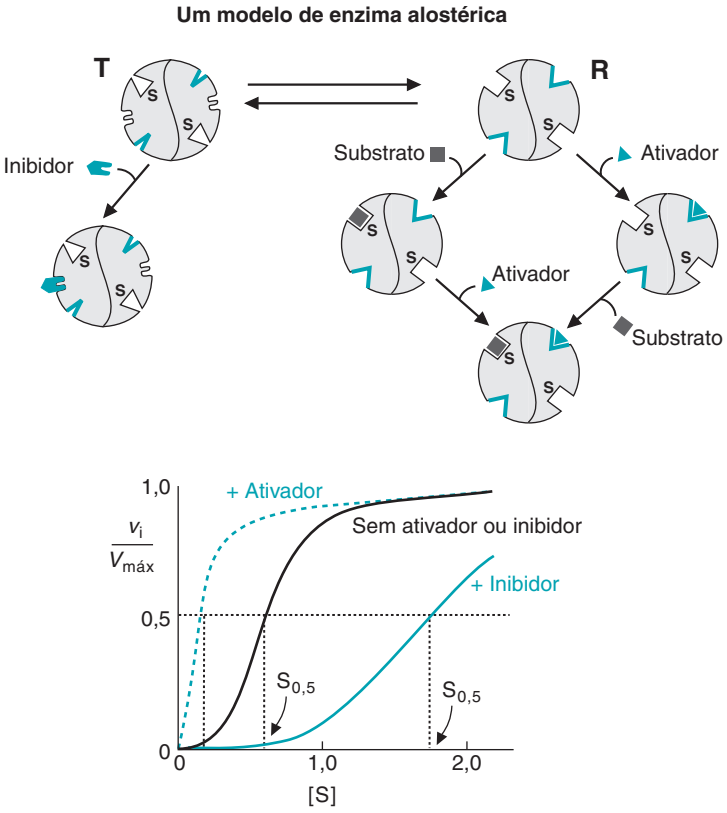


Figura 9.7 Ativadores e inibidores de uma enzima alostérica (modelo simplificado). Essa enzima tem duas subunidades idênticas, cada uma contendo três sítios de ligação: um para o substrato (s), um para o ativador alostérico (triângulo azul) e um para o inibidor alostérico (duas depressões). A enzima tem duas conformações, uma conformação relaxada ativa (R) e uma conformação inativa (T). O ativador se liga apenas ao seu sítio ativador quando a enzima está na configuração R. O sítio de ligação para o inibidor está aberto quando a enzima está no estado T.

Um gráfico de velocidade ($v_i/V_{máx}$) *versus* concentração do substrato revela que a ligação do substrato ao seu sítio de ligação estabiliza a conformação ativa de tal modo que o segundo substrato se liga mais prontamente, resultando em uma curva em forma de S (sigmoidal). O gráfico de $v_i/V_{máx}$ se torna hiperbólico na presença de ativador (o qual estabiliza a forma R de alta afinidade) e mais sigmoidal com uma $S_{0,5}$ mais alta na presença de inibidor (o qual estabiliza a forma de baixa afinidade).

Algumas das enzimas limitantes de velocidade nas vias de oxidação de substratos energéticos (p. ex., glicogênio-fosforilase do músculo na glicogenólise, fosfofrutoquinase-1 na glicólise e isocitrato-desidrogenase no ciclo TCA) são enzimas alostéricas reguladas por alterações na concentração de ADP ou AMP, os quais são ativadores alostéricos. A função das vias de oxidação de substratos energéticos é a geração de ATP. Quando a concentração de ATP nas células musculares começa a diminuir, ADP e AMP aumentam; o ADP ativa a isocitrato-desidrogenase, e o AMP ativa a glicogênio-fosforilase e a fosfofrutoquinase-1. A resposta é muito rápida, e pequenas alterações na concentração do ativador podem causar grandes alterações na velocidade da reação.

Na ausência de ativador, um gráfico de velocidade *versus* concentração do substrato para uma enzima alostérica em geral resulta em uma curva sigmóide ou em forma de S (em vez da hipérbole retangular das enzimas de Michaelis-Menten) à medida que a ligação sucessiva de moléculas de substrato ativa as subunidades adicionais (ver Figura 9.7). Nos gráficos de velocidade *versus* concentração de substrato, o efeito de um ativador alostérico em geral torna a curva sigmoidal em forma de S mais parecida com a hipérbole retangular, com uma diminuição substancial na $S_{0,5}$ (K_m) da enzima, devido ao fato de o ativador alterar todas as subunidades do estado de alta afinidade. Tais efetores alostéricos são "efetores K", alteram o K_m, mas não a $V_{máx}$ da enzima. Um inibidor alostérico torna mais difícil para o substrato ou os ativadores converterem subunidades para a conformação mais ativa, e, assim, os inibidores em geral deslocam a curva para a direita, aumentando apenas a $S_{0,5}$ ou a aumentando junto com uma diminuição na $V_{máx}$.

3. ENZIMAS ALOSTÉRICAS NAS VIAS METABÓLICAS

A regulação de enzimas por efetores alostéricos fornece várias vantagens sobre outros métodos de regulação. Os inibidores alostéricos em geral têm um efeito muito mais

forte sobre a velocidade de enzimas do que inibidores competitivos, não-competitivos e incompetitivos no sítio catalítico ativo. Devido ao fato de efetores alostéricos não ocuparem o sítio catalítico, eles podem funcionar como ativadores. Assim, as enzimas alostéricas não estão limitadas à regulação por inibição. Além disso, os efetores alostéricos necessitam ter uma semelhança com o substrato ou o produto da enzima. Finalmente, o efeito de um efetor alostérico é rápido, ocorrendo assim que a sua concentração se altera na célula. Essas características das enzimas alostéricas com freqüência são essenciais para a regulação de vias metabólicas por produtos finais da rota ou por moléculas sinalizadoras que coordenam múltiplas vias.

B. Alterações Conformacionais por Modificação Covalente

1. FOSFORILAÇÃO

A atividade de muitas enzimas é regulada por fosforilação por uma proteína-quinase ou por desfosforilação por uma proteína-fosfatase (Figura 9.8). Serina/treonina-proteína-quinases transferem um fosfato de ATP para o grupo hidroxila de uma serina específica (e algumas vezes treonina) da enzima-alvo; tirosina-quinases transferem um fosfato para o grupo hidroxila de um resíduo de tirosina. O fosfato é um resíduo grande, negativamente carregado, que interage com outros resíduos de aminoácidos próximos da proteína para criar uma alteração conformacional no sítio catalítico. A alteração conformacional torna algumas enzimas mais ativas e outras menos ativas. O efeito é revertido por uma proteína-fosfatase específica que remove o fosfato por hidrólise.

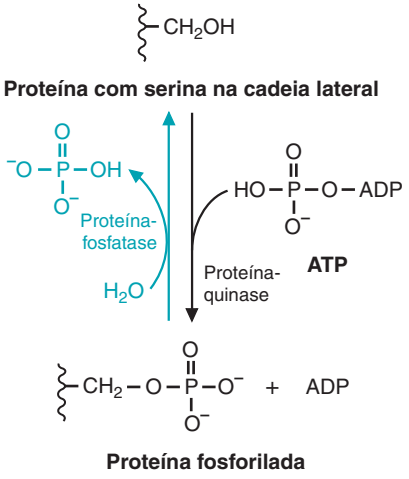


Figura 9.8 Proteína-quinases e proteína-fosfatases.

2. GLICOGÊNIO-FOSFORILASE DO MÚSCULO

A glicogênio-fosforilase do músculo, a enzima limitante de velocidade na rota da degradação do glicogênio, degrada glicogênio em glicose-1-fosfato. Ela é regulada pelo ativador alostérico AMP, o qual aumenta na célula à medida que o ATP é utilizado para a contração muscular (Figura 9.9). Assim, um aumento rápido na velocidade da degradação do glicogênio a glicose-1-fosfato é conseguido quando um aumento de AMP sinaliza que mais substrato energético é necessário para a geração de ATP na rota glicolítica.

A glicogênio-fosforilase também pode ser ativada por fosforilação pela glicogênio-fosforilase-quinase. A fosforilação ou a ligação de AMP podem alterar a enzima para a mesma conformação totalmente ativada. O fosfato é removido por uma proteína-fosfatase 1.



Quando **Ann O'Rexia** começa a correr, o AMP ativa sua glicogênio-fosforilase muscular, a qual degrada glicogênio a glicose-1-fosfato. Esse composto é convertido a glicose-6-fosfato, a qual alimenta a rota glicolítica para gerar ATP para a contração muscular. À medida que ela continua a correr, seus níveis de adrenalina (epinefrina) se elevam, produzindo o sinal que ativa a glicogênio-fosforilase-quinase. Essa enzima fosforila a glicogênio-fosforilase, fazendo com que ela se torne ainda mais ativa do que quando ativada apenas pelo AMP (ver Figura 9.9).

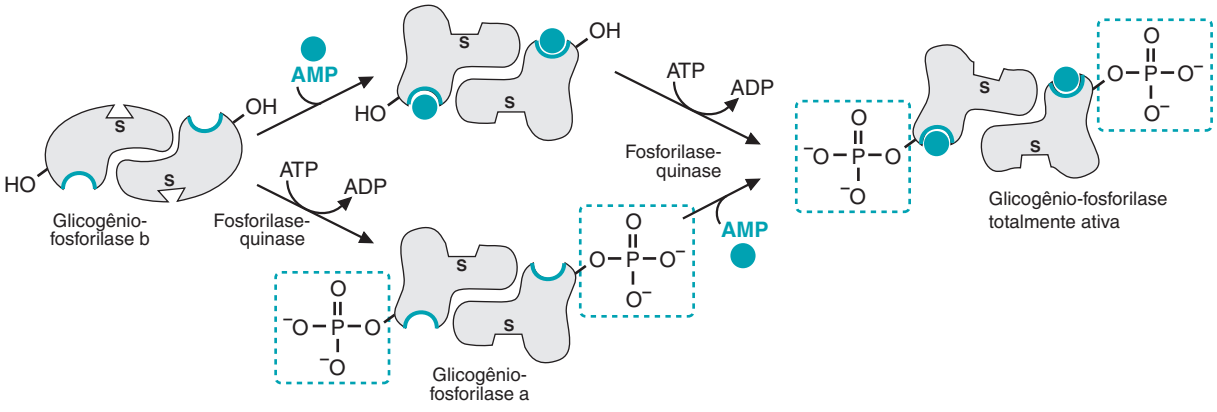


Figura 9.9 Ativação de glicogênio-fosforilase do músculo por AMP e por fosforilação. A glicogênio-fosforilase do músculo é composta por duas subunidades idênticas. Os sítios de ligação do substrato no sítio catalítico ativo são destacados por S. O AMP se liga ao sítio alostérico, um sítio separado do sítio catalítico ativo. A glicogênio-fosforilase-quinase pode transferir um fosfato de ATP para um resíduo de serina em cada subunidade. A fosforilação ou a ligação de AMP causa uma alteração no sítio ativo que aumenta a atividade da enzima. O primeiro efeito em uma subunidade facilita os eventos subseqüentes que convertem a enzima em forma totalmente ativa.

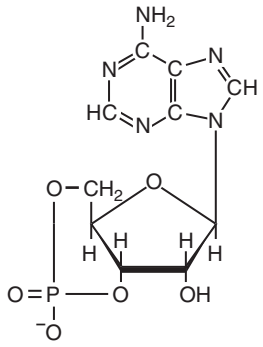


Figura 9.10 Estrutura do AMPc (3',5'-AMP cíclico). O grupo fosfato é ligado a grupos hidroxila em ambos os carbonos 3 (3') e 5 (5') da ribose, formando um ciclo.

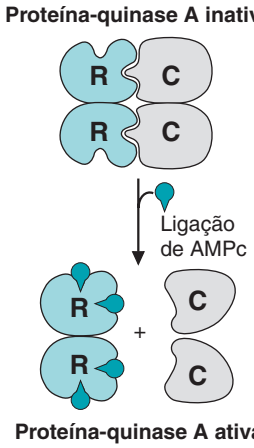


Figura 9.11 Proteína-quinase A. Quando as subunidades regulatórias (R) da proteína-quinase A se ligam ao ativador alostérico, AMPc, elas se dissociam da enzima, liberando, assim, subunidades catalíticas ativas (C).

A glicogênio-fosforilase-quinase conecta a ativação da glicogênio-fosforilase a alterações no nível do hormônio adrenalina no sangue. Ela é regulada por fosforilação por proteína-quinase A e por ativação de Ca^{2+}-calmodulina (uma proteína moduladora) durante a contração.

3. PROTEÍNA-QUINASE A

Algumas proteína-quinases, chamadas de proteína-quinases específicas, são fortemente ligadas a uma única proteína e regulam apenas a proteína à qual elas estão fortemente ligadas. Contudo, outras proteína-quinases e proteína-fosfatases regularão simultaneamente diversas enzimas limitantes de velocidade em uma célula para obter uma resposta coordenada. Por exemplo, a proteína-quinase A, uma serina/treonina-proteína-quinase, fosforila um número de enzimas que regulam diferentes rotas metabólicas. Uma dessas enzimas é a glicogênio-fosforilase-quinase (ver Figura 9.9).

A proteína-quinase A fornece um meio de os hormônios controlarem as vias metabólicas. A adrenalina e muitos outros hormônios aumentam a concentração intracelular do regulador alostérico 3',5'-AMP cíclico (AMPc), o qual é referido com um segundo mensageiro hormonal (Figura 9.10). O AMPc se liga às subunidades regulatórias da proteína-quinase A, a qual se dissocia e libera as subunidades catalíticas ativadas (Figura 9.11). A dissociação das subunidades regulatórias inibitórias é um tema comum em regulação enzimática. As subunidades catalíticas ativas fosforilam a glicogênio-fosforilase e outras enzimas nos resíduos de serina.

No exemplo mostrado na Figura 9.9, a adrenalina aumenta indiretamente o AMPc, o qual ativa a proteína-quinase A, que fosforila a fosforilase-quinase, a qual fosforila a glicogênio-fosforilase. A seqüência de eventos na qual uma quinase fosforila outra quinase é chamada de cascata de fosforilação. Devido ao fato de cada estágio da cascata de fosforilação ser associado a uma molécula de enzima ativando muitas moléculas, o evento ativador inicial é bastante amplificado.

4. OUTRAS MODIFICAÇÕES COVALENTES

Diversas proteínas são covalentemente modificadas pela adição de grupos como acetila, ADP-ribose ou porções lipídicas (ver Capítulo 6). Essas modificações podem ativar ou inibir a enzima. Contudo, elas também podem modificar a habilidade da enzima de interagir com outras proteínas ou de atingir sua localização correta na célula.

C. Alterações Conformacionais de Interações Proteína-Proteína

As alterações na conformação do sítio ativo também podem ser reguladas por interação direta proteína-proteína. Esse tipo de regulação é ilustrado por Ca^{2+}-calmodulina e proteínas G pequenas (monoméricas).

1. A FAMÍLIA CÁLCIO-CALMODULINA DE MODULADORES DE PROTEÍNAS

Os moduladores de proteínas se ligam a outras proteínas e regulam sua atividade por causarem uma alteração conformacional no sítio catalítico ativo ou por bloquearem o sítio catalítico (impedimento estérico). Eles são efetores de proteína alostérica que podem ativar ou inibir a enzima ou a proteína à qual eles se ligam.

A Ca^{2+}-calmodulina é um exemplo de um modulador de proteína dissociável que se liga a diversas proteínas diferentes e regula sua função. Ele também existe no citosol e funciona como uma proteína ligadora de Ca^{2+} (Figura 9.12). o centro da molécula simétrica é uma região de dobradiça que se dobra à medida que a Ca^{2+}-calmodulina se curva sobre a proteína que está regulando.

Uma das enzimas ativadas por Ca^{2+}-calmodulina é a glicogênio-fosforilase-quinase do músculo, a qual também é ativada por proteína-quinase A (ver Figura 9.9). Quando um impulso neural dispara a liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático,

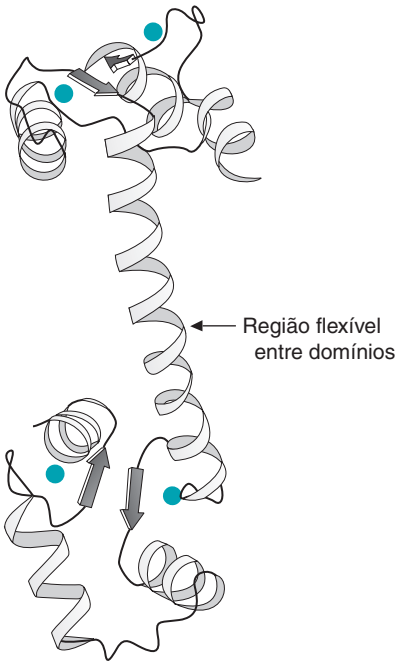


Figura 9.12 A cálcio-calmodulina tem quatro sítios de ligação para cálcio (mostrados em azul). Cada cálcio forma uma esfera de coordenação com múltiplos ligantes pela ligação de vários resíduos de aminoácidos à calmodulina. Assim, ele pode criar grandes alterações conformacionais nas proteínas quando ele se liga. A calmodulina tem uma região flexível no meio conectando dois domínios.

Ca^{2+} se liga à subunidade da calmodulina-glicogênio-fosforilase quinase do músculo, a qual sofre uma alteração conformacional. Essa quinase ativada, então, fosforila a glicogênio-fosforilase, aumentando enfim a geração de ATP para fornecer energia para a contração muscular. Simultaneamente, Ca^{2+} se liga à troponina-C, um membro da superfamília Ca^{2+}-calmodulina que serve como uma subunidade não-dissociável regulatória da troponina, um regulador da contração muscular. A ligação de cálcio à troponina prepara o músculo para a contração. Assim, o suprimento de energia para a contração é ativado simultaneamente com o conjunto de fatores responsáveis (maquinaria) pela contração.

2. PEQUENAS PROTEÍNAS G (MONOMÉRICAS) REGULADAS POR ALTERAÇÕES CONFORMACIONAIS

Os mestres de regulação por associação reversível com proteínas nas células são as proteínas G monoméricas, pequenas proteínas de uma única subunidade que ligam e hidrolisam GTP. O GTP (trifosfato de guanosina) é um nucleotídeo púrico que, como o ATP, contém ligações fosfo-anidridas de alta energia que liberam energia quando hidrolisadas. Quando as proteínas G ligam o GTP, suas conformações alteram de tal forma que elas podem se ligar a uma proteína-alvo, que, então, é ativada ou inibida para realizar sua função (Figura 9.13, etapa 1).

É dito que as proteínas G possuem um relógio interno devido ao fato de serem GTPases que lentamente hidrolisam seu próprio GTP ligado a GDP e fosfato. À medida que elas hidrolisam GTP, suas conformações se alteram, e o complexo que elas formaram com a proteína-alvo se desfaz (ver Figura 9.13, etapa 2). O GDP ligado na proteína inativa G é finalmente susbtituído por GTP, e o processo pode iniciar novamente (ver Figura 9.13, etapa 3).

A atividade de muitas proteínas G é regulada por proteínas acessórias (GAP, GEF e GDI), as quais podem, por sua vez, ser reguladas por efetores alostéricos. As GAP (proteínas ativadoras de GTPase, do inglês *GTPase activating proteins*) aumentam a

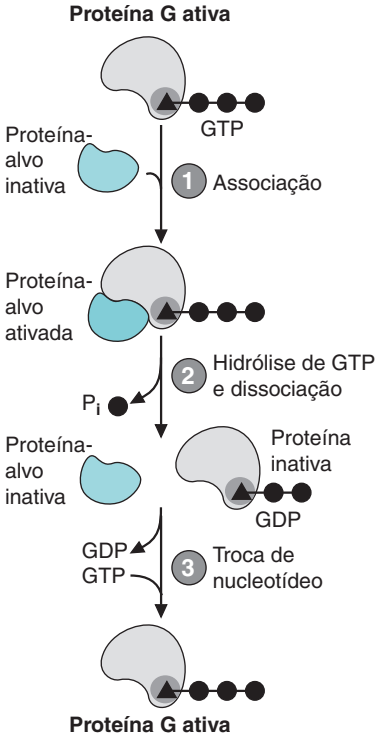


Figura 9.13 Proteínas G monoméricas. (1) Quando o GTP está ligado, a conformação da proteína G permite que ela se ligue a proteínas-alvo, as quais são ativadas. (2) A proteína G hidrolisa um fosfato do GTP para formar GDP, o qual altera a conformação da proteína G e faz com que ela se dissocie da proteína-alvo. (3) O GDP é trocado por GTP, o qual reativa a proteína G.

velocidade da hidrólise de GTP pela proteína G e, portanto, a velocidade de dissociação do complexo proteína G-proteína-alvo (ver Figura 9.13, etapa 2).

Quando uma proteína GEF (fator de troca de nucleotídeo guanina, do inglês *guanine nucleotide exchange factor)* se liga a uma proteína G, ela aumenta a velocidade de troca de GTP por um GDP ligado e, portanto, ativa a proteína G (ver Figura 9.13, etapa 3). As proteínas GDI (inibidor da dissociação de GDP, do inglês *GDP dissiciation inhibitor*) se ligam aos complexos GDP-proteína G e inibem a dissociação de GDP, mantendo, assim, a proteína G inativa.

A superfamília Ras de pequenas proteínas G é dividida em cinco famílias: Ras, Rho, Arf, Rab e Ran. Essas proteínas G monoméricas têm papéis maiores na regulação de crescimento, morfogênese, motilidade celular, direcionamento axonal, citoquinese (*citokinesis*) e tráfego através do complexo de Golgi, núcleo e endossomas. Elas em geral estão ligadas a uma membrana lipídica por uma âncora lipídica, com um grupo miristoil ou farnesil, e regulam a associação e a atividade de complexos protéicos nesses sítios. A pequena proteína G, Ras, por exemplo, está envolvida na regulação da proliferação celular por diversos hormônios chamados de fatores de crescimento (Figura 9.14). Ela é ligada à membrana plasmática por um grupo farnesil (ver Capítulo 6, Seção IV.B.). A atividade da Ras é regulada por uma proteína trocadora de nucleotídeo guanina chamada de SOS (*son of sevenless*). Quando a SOS está em sua conformação ativa, ela se liga à Ras, ativando, assim, a dissociação de GDP e a ligação de GTP. Quando a Ras liga o GTP, ela é ativada, permitindo que se ligue e ative uma proteína-quinase chamada de Raf. O efeito líquido será a ativação da transcrição de certos genes (Rho, Arf, Rab e Ran estão ilustradas no Capítulo 10, e a função da Ras é discutida em detalhes maiores no Capítulo 11).



Muitas das proteases envolvidas na coagulação sangüínea são zimogênios, como o fibrinogênio e a protrombina, que circulam no sangue na forma inativa. Esses compostos evoluem para a forma ativa (fibrina e trombina, respectivamente) por ação de outras proteases, as quais agem na sua ligação ao local de lesão na parede do vaso sangüíneo. Assim, formam-se coágulos no local da lesão e de forma não-aleatória na circulação.

D. Quebra Proteolítica

Embora muitas enzimas sofram alguma quebra durante a síntese, outras entram nos lisossomas, nas vesículas secretoras ou são secretadas como pró-enzimas, as quais são precursores de proteínas que devem sofrer quebra proteolítica para se tornarem completamente funcionais. Diferente de muitas outras formas de regulação, a quebra proteolítica é irreversível.

As proteínas precursoras de proteases (enzimas que quebram ligações peptídicas específicas) são chamadas de zimogênios. Para indicar a forma inativa de zimogênio de uma enzima, o nome é modificado pela adição do sufixo "ogênio" ou o prefixo "pró". A síntese de zimogênios como precursores inativos impede que eles quebrem proteínas prematuramente nos seus sítios de síntese ou secreção. O quimotripsinogênio, por exemplo, é armazenado em vesículas dentro das células pancreáticas até ser excretado nos ductos que vão ao lúmen intestinal. No trato digestivo, o quimotripsinogênio é convertido pela enzima proteolítica tripsina, a qual retira um pequeno peptídeo da região

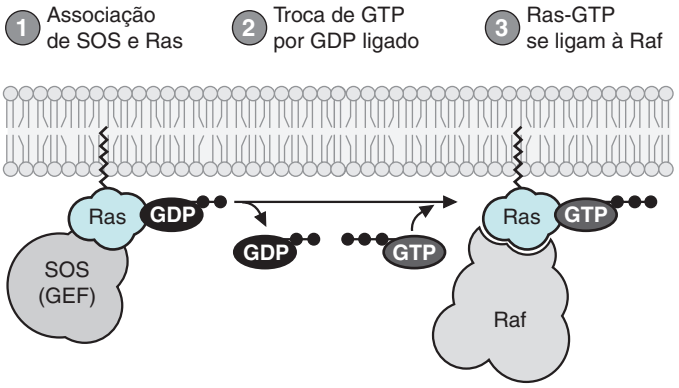


Figura 9.14 A proteína G monomérica Ras. Quando SOS é ativada, ela se liga à Ras, uma proteína G monomérica ancorada na membrana plasmática. A SOS é uma proteína trocadora de nucleotídeo guanina que ativa a troca de GTP por GDP ligado à Ras. A Ras ativada contendo GTP se liga à enzima-alvo Raf, tornando-a, assim, ativa.

N-terminal (e dois peptídeos internos). Essa quebra ativa a quimotripsina por causar uma alteração conformacional no espaçamento de resíduos de aminoácidos em torno do sítio de ligação para o substrato protéico desnaturado e em torno do sítio catalítico.

IV. REGULAÇÃO POR ALTERAÇÕES NA QUANTIDADE DE ENZIMA

Os tecidos continuamente ajustam a velocidade na qual diferentes proteínas são sintetizadas para variar a quantidade de diferentes proteínas presentes. A expressão para a $V_{máx}$ na equação de Michaelis-Menten incorpora o conceito de que a velocidade da reação é proporcional à quantidade de enzima presente. Assim, a capacidade máxima de um tecido pode mudar com o aumento da síntese protéica ou com o aumento da degradação protéica.

A. Regulação por Síntese de Enzima

A síntese protéica inicia com o processo de transcrição gênica, transcrevendo o código genético para aquela proteína do DNA em RNA mensageiro. O código no RNA mensageiro é, então, traduzido na seqüência primária de aminoácidos da proteína. Em geral, a velocidade da síntese de enzima é regulada por um aumento ou uma diminuição da velocidade de transcrição gênica, processos geralmente referidos como indução (aumento) e repressão (diminuição). Contudo, a velocidade da síntese de enzima algumas vezes é regulada pela estabilização do RNA mensageiro. (Esses processos são discutidos na Parte Três.) Comparado com os tipos mais imediatos de regulação discutidos anteriormente, a regulação por meio de indução/repressão da síntese de enzima em geral é lenta nos humanos, ocorrendo em horas ou dias.



A capacidade máxima de MEOS (citocromo P450-2E1) está aumentada no fígado com a ingestão continuada de etanol por um mecanismo envolvendo indução da transcrição gênica. Assim, **Al Martini** tem uma capacidade maior de oxidar etanol a acetaldeído do que um "bebedor social" (uma pessoa que não foi previamente exposta ao álcool). Contudo, a persistência de seu nível sangüíneo elevado de álcool mostra que ele saturou sua capacidade de oxidação de etanol (atingiu a $V_{máx}$). Uma vez que suas enzimas estão operando próximo a $V_{máx}$, qualquer etanol adicional que ele beber não aumentará apreciavelmente a velocidade de depuração de etanol de seu sangue.

B. Regulação por Degradação de Proteína

O conteúdo de uma enzima na célula pode ser alterado por degradação seletiva regulada bem como por síntese regulada. Embora todas as proteínas na célula possam ser degradadas com uma meia-vida característica dentro de lisossomas, a via de degradação de proteínas por dois sistemas especializados, proteossomas e caspases, é altamente seletiva e regulada. A degradação de proteína é tratada em mais detalhes no Capítulo 37.



Durante jejum ou doença infecciosa, a degradação de proteína no músculo esquelético é ativada para aumentar o fornecimento de aminoácidos no sangue para a gliconeogênese ou para a síntese de anticorpos e outros componentes da resposta imune. Sob essas condições, a síntese de ubiquitina, uma proteína que ataca proteínas para a degradação nos proteossomas, está aumentada pelo hormônio esteróide cortisol.

V. REGULAÇÃO DE VIAS METABÓLICAS

Os diferentes meios de regular a atividade enzimática descritos anteriormente são utilizados para controlar vias metabólicas, eventos celulares e processos fisiológicos para corresponder às necessidades do corpo. Embora muitas vias metabólicas estejam presentes no corpo, alguns poucos temas ou princípios estão envolvidos na sua regulação. É claro que o princípio geral é: **A regulação de uma rota está de acordo com a sua função**.

A. Princípios de Regulação de Via

As vias metabólicas são uma série de reações seqüenciais nas quais o produto de uma reação é o substrato da próxima (Figura 9.15). Cada etapa ou reação em geral é catalisada por uma enzima separada. As enzimas de uma rota têm uma função comum – a conversão de substrato nos produtos finais da via. Uma rota também pode ter um ponto de ramificação no qual um intermediário se torna o precursor para outra via.

1. A REGULAÇÃO OCORRE EM UMA ETAPA LIMITANTE DA VELOCIDADE

As vias são reguladas principalmente por uma enzima-chave, a enzima regulatória, a qual catalisa a etapa limitante de velocidade na via. Essa é a etapa mais lenta e em geral não é prontamente reversível. Assim, as alterações na etapa limitante de velocidade podem influenciar o fluxo através do resto da rota (ver Figura 9.1). A etapa limitante de

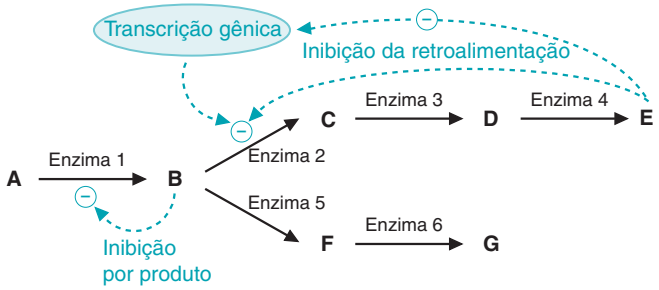


Figura 9.15 Um padrão comum de inibição por retroalimentação de vias metabólicas. As letras representam compostos formados por diferentes enzimas na rota da reação. O composto B está em um ponto de ramificação metabólica: ele pode ir por uma rota para E ou por uma rota alternativa para G. O produto final da via, E, pode controlar sua própria síntese, inibindo alostericamente a enzima 2, a primeira etapa comprometida da via, ou inibindo a transcrição do gene para a enzima 2. Como resultado de inibição por retroalimentação, B se acumula, e mais B entra na rota de conversão a G, que pode ser uma rota de armazenamento ou excreção. Nessa rota hipotética, B é um produto inibidor da enzima 1, competitivo em relação a A. O precursor A pode induzir a síntese da enzima 1, a qual permitiria que mais A fosse para G.



As vias de produção de energia devem ser reguladas por um mecanismo que possa responder rapidamente às necessidades de mais ATP, como a regulação alostérica da glicogênio-fosforilase por AMP. Contudo, as vias de armazenamento ou as vias biossintéticas podem ser reguladas por um mecanismo que responda mais lentamente a alterações de condições. Por exemplo, o colesterol regula parcialmente, por retroalimentação, sua própria velocidade de síntese por diminuição da transcrição do gene para a enzima limitante de velocidade (HMG-CoA-redutase). A concentração da enzima de um tecido pode se alterar de forma ainda mais lenta em resposta a alterações de desenvolvimento.



Quando **Ann O'Rexia** corre, o uso aumentado de ATP pela contração muscular resulta em um aumento de AMP, o qual alostericamente ativa tanto a enzima alostérica fosfofrutoquinase-1, a enzima limitante de velocidade da glicólise, como a glicogênio-fosforilase, a enzima limitante de velocidade da glicogenólise. Esse é um exemplo de regulação por retroalimentação pela razão ATP/AMP. Infelizmente, seu baixo consumo calórico não permitiu a ativação por ântero-regulação das enzimas limitantes de velocidade na sua rota de armazenamento de substrato energético, e ela tem baixas reservas de glicogênio. Conseqüentemente, ela tem reservas de substrato energético baixas para suprir as demandas aumentadas de energia durante exercício.

velocidade em geral é a primeira comprometida em uma via, ou uma reação que está relacionada ou influenciada pela primeira etapa comprometida.

Adicionalmente, enzimas reguladoras ocorrem após cada ponto de ramificação metabólica dirigir o fluxo para uma das ramificações (p. ex., na Figura 9.15, a inibição por retroalimentação da enzima 2 resulta em acúmulo de B, o qual a enzima 5 utiliza para a síntese do composto G). A inibição da enzima limitante de velocidade em uma rota em geral leva a acúmulo do precursor da via.

2. REGULAÇÃO POR RETROALIMENTAÇÃO

Regulação por retroalimentação se refere a uma situação na qual o produto final de uma rota controla sua própria velocidade de síntese (ver Figura 9.15). A regulação por retroalimentação em geral envolve a regulação alostérica da enzima limitante de velocidade pelo produto final de uma rota (ou um composto que reflete as alterações na concentração do produto final). O produto final de uma rota também pode controlar sua própria síntese por indução ou repressão do gene para a transcrição da enzima limitante de velocidade na rota. Esse tipo de regulação é muito mais lento para responder a alterações nas condições da reação do que a regulação alostérica.

3. REGULAÇÃO POR *FEED-FOWARD* (ÂNTERO-ALIMENTAÇÃO)

Certas rotas, como aquelas envolvidas na excreção de compostos tóxicos, são reguladas por ântero-alimentação. A regulação por ântero-alimentação pode ocorrer por um suprimento aumentado de substrato para uma enzima com um alto K_m, por ativação alostérica da enzima limitante de velocidade por um composto relacionado com o suprimento de substrato, por indução da transcrição gênica relacionada ao substrato (p. ex., indução de citocromo P450-2E1 por etanol) ou por concentração aumentada de um hormônio que estimula uma via de armazenamento pelo controle do estado de fosforilação da enzima.

4. ISOENZIMAS TECIDUAIS DE PROTEÍNAS REGULATÓRIAS

O corpo humano é composto de diversos tipos celulares diferentes que realizam funções únicas para determinado tipo celular e sintetizam apenas as proteínas consistentes com suas funções. Devido ao fato de a regulação corresponder à função, enzimas regulatórias de rotas em geral existem como isoenzimas tecido-específicas com algumas

propriedades regulatórias únicas para suas funções em diferentes tipos de células. Por exemplo, a hexoquinase e a glicoquinase são isoenzimas tecido-específicas com propriedades cinéticas diferentes.



As diferentes isoenzimas da hexoquinase (p. ex., hexoquinase 1 e glicoquinase) são isoenzimas tecido-específicas que surgiram da duplicação de um gene. A glicoquinase, a enzima de baixa afinidade encontrada no fígado, é uma cadeia polipeptídica única com um peso molecular de 55 kDa que contém um sítio catalítico ativo. As hexoquinases encontradas nos eritrócitos, nos músculos esqueléticos e na maioria dos outros tecidos têm 110 kDa e são essencialmente duas moléculas de glicoquinase mutantes sintetizadas como uma única cadeia polipeptídica. Contudo, apenas um sítio catalítico é funcional. Todas as hexoquinases tecido-específicas, com exceção da glicoquinase, têm K_ms para a glicose que são menores do que 0,2 mM.

5. CONTRA-REGULAÇÃO DE ROTAS OPOSTAS

Uma rota para a síntese de um composto em geral tem uma ou mais etapas enzimáticas que diferem da rota para a degradação daquele composto. Uma rota biossintética pode, portanto, ter uma enzima regulatória diferente da rota de degradação, e uma rota pode ser ativada, enquanto a outra é inibida (p. ex., a síntese de glicogênio é ativada, enquanto a degradação de glicogênio é inibida).

6. CANALIZAÇÃO DE SUBSTRATO POR COMPARTIMENTALIZAÇÃO

Na célula, a compartimentalização de enzimas em complexos multienzima ou organelas fornece uma maneira de regulação, ou porque o compartimento fornece condições únicas, ou porque ele limita ou canaliza o acesso das enzimas aos substratos. As enzimas ou as rotas com uma função comum com freqüência são agrupadas em organelas. Por exemplo, as enzimas do ciclo do TCA estão localizadas na mitocôndria. As enzimas catalisam reações seqüenciais, e o produto de uma reação é o substrato da próxima. A concentração dos intermediários da rota permanece muito mais alta dentro da mitocôndria do que no citoplasma celular circundante.

Outro tipo de compartimentalização envolve o agrupamento de enzimas catalisando as reações seqüenciais em complexos multienzima, de tal forma que intermediários da rota podem ser transferidos do sítio ativo de uma enzima para o sítio ativo de outra, prevenindo, assim, a perda de energia e informação.



Um exemplo de complexo multienzima é a MEOS (sistema microssomal de oxidação do etanol, do inglês *microsomal ethanol oxidizing system*), o qual é composto por duas subunidades diferentes com atividades enzimáticas diferentes. Uma subunidade transfere elétrons de NADPH para um grupo citocromo Fe-heme na segunda subunidade, a qual, então, transfere os elétrons para O_2.

7. NÍVEIS DE COMPLEXIDADE

A regulação de rotas metabólicas em humanos é extremamente complexa; este pode ser chamado o segundo princípio da regulação metabólica. À medida que forem estudadas diferentes rotas nos capítulos subseqüentes do texto, pode ser útil montar diagramas, como o da Figura 9.15, para acompanhar a função e a teoria por trás das diferentes interações regulatórias.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS



Al Martini. Na emergência, Al Martini foi avaliado para descartar lesões na cabeça. Pelo exame físico e níveis de álcool no sangue, foi determinado que seu estado mental resultava de seu consumo de álcool. Embora o consumo crônico de álcool tenha aumentado os níveis de MEOS (e, portanto, a velocidade de oxidação do etanol no fígado), sua ingestão excessiva de bebidas resultou em um nível sangüíneo de álcool maior do que o limite legal de 80 mg/dL. Ele teve hematomas e contusão, mas estava sem outras lesões. Ele saiu sob custódia da polícia.



Ann O'Rexia. O médico de Ann O'Rexia explicou que ela tinha reservas de substratos energéticos inadequadas para seu programa de exercícios. Para correr, os músculos requerem uma velocidade aumentada de oxidação de substrato energético para gerar o ATP para a contração muscular. Os substratos energéticos utilizados pelos músculos para o exercício incluem glicose do glicogênio muscular, ácidos graxos dos triacilgliceróis do tecido adiposo e glicose sangüínea fornecida pelo glicogênio hepático. Essas reservas de substratos energéticos estavam depletadas durante seu período de má nutrição prolongado. Além disso, sua má nutrição resultou em perda de massa muscular à medida que a proteína muscular estava sendo degradada para suprir outros processos com aminoácidos, inclusive gliconeogênese (a síntese de glicose a partir de aminoácidos e outros precursores não-carboidratos). Portanto, Ann



Os hormônios epinefrina (liberado durante estresse e exercício) e glucagon (liberado durante o jejum) ativam a síntese de AMPc em diversos tecidos. O AMPc ativa a proteína-quinase A. Devido ao fato de a proteína-quinase A ser capaz de fosforilar enzimas regulatórias-chave em muitas rotas, essas rotas podem ser coordenadamente reguladas. No músculo, por exemplo, a degradação de glicogênio é ativada, enquanto a síntese de glicogênio é inibida. Ao mesmo tempo, a liberação de ácidos graxos do tecido adiposo é ativada para fornecer mais substrato para o músculo. A regulação da glicólise, do metabolismo do glicogênio e de outras rotas metabólicas é muito mais complexa do que aqui ilustrado e é discutida em muitos capítulos subseqüentes neste texto.

necessitará aumentar seu consumo calórico para refazer suas reservas de substratos energéticos. Seu médico a auxiliou a calcular a quantidade adicional de calorias que seu programa de corridas necessita, e eles discutiram quais alimentos ela comeria para corresponder a essas necessidades calóricas aumentadas. Ele também a ajudou a visualizar o aumento de peso como um aumento de força.

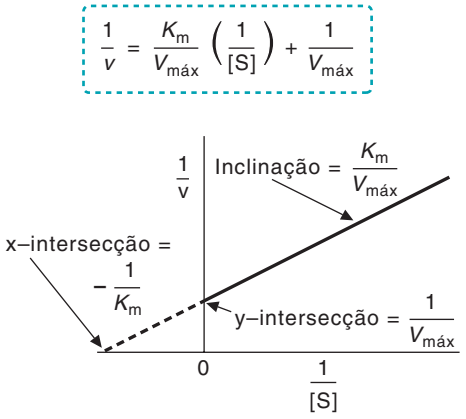


Figura 9.16 A transformação de Lineweaver-Burk (mostrada em azul) para a equação de Michaelis-Menten a converte em uma linha reta de forma y = mx + b. Quando [S] é infinito, 1/[S] = 0, e a linha cruza a ordenada (eixo y) em $1/v = 1/V_{máx}$. A inclinação da linha é $K_m/V_{máx}$. Onde a linha intercepta a abscissa (eixo x), $1/[S] = -1/K_m$.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

A transformação de Lineweaver-Burk. O K_m e a $V_{máx}$ para uma enzima podem ser visualmente determinados a partir de um gráfico de $1/v_i$ *versus* 1/S, chamado de gráfico de Lineweaver-Burk ou duplo recíproco. Os recíprocos de ambos os lados da equação de Michaelis-Menten geram uma equação que tem a forma de uma linha reta, y = mx + b (Figura 9.16). O K_m e a $V_{máx}$ são iguais aos recíprocos das intersecções da abscissa e da ordenada, respectivamente. Embora gráficos de recíprocos duplos com freqüência sejam utilizados para ilustrar certas características de reações enzimáticas, eles não são utilizados diretamente para a determinação de valores de K_m e $V_{máx}$ por pesquisadores.

Para a reação na qual uma enzima forma um complexo com ambos os substratos, o K_m para um substrato pode variar com a concentração do co-substrato (Figura 9.17). A cada concentração constante do co-substrato, o gráfico de $1/v_i$ *vs* 1/[S] é uma linha reta. Para obter a $V_{máx}$, o gráfico deve ser extrapolado para concentrações de saturação de ambos os substratos, o que é equivalente ao ponto de intersecção dessas linhas para diferentes concentrações de co-substrato.

Os gráficos de Lineweaver-Burk fornecem uma boa ilustração de inibição competitiva e inibição pura não-competitiva (Figura 9.18). Na inibição competitiva, os gráficos de $1/v_i$ *vs* 1/[S] com uma série de concentrações de inibidor se interseccionam na ordenada. Assim, em uma concentração infinita de substrato, ou 1/[S] = 0, não há efeito do inibidor. Na inibição não-competitiva pura, o inibidor diminui a velocidade mesmo quando [S] foi extrapolado para uma concentração infinita. Contudo, se o inibidor não tem efeito sobre a ligação do substrato, o K_m é o mesmo para cada concentração de inibidor, e as linhas se interseccionam na abcissa.

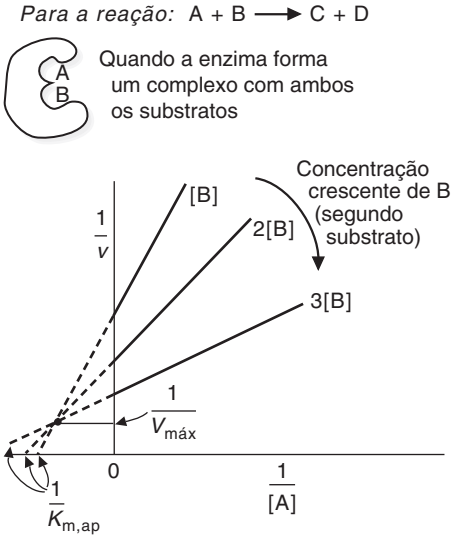


Figura 9.17 Um gráfico de Lineweaver-Burk para uma reação de dois substratos na qual A e B são convertidos a produtos. No gráfico, 1/[A] está colocado contra 1/v para três concentrações diferentes do co-substrato, [B], 2[B] e 3[B]. Com o aumento da concentração de B, a intersecção com a abscissa, que é igual a $1//K_{m,ap}$, aumenta. O "ap" representa "aparente", como o $K_{m,ap}$ é o K_m em qualquer concentração do co-substrato, inibidor ou outro fator que está presente durante o experimento.

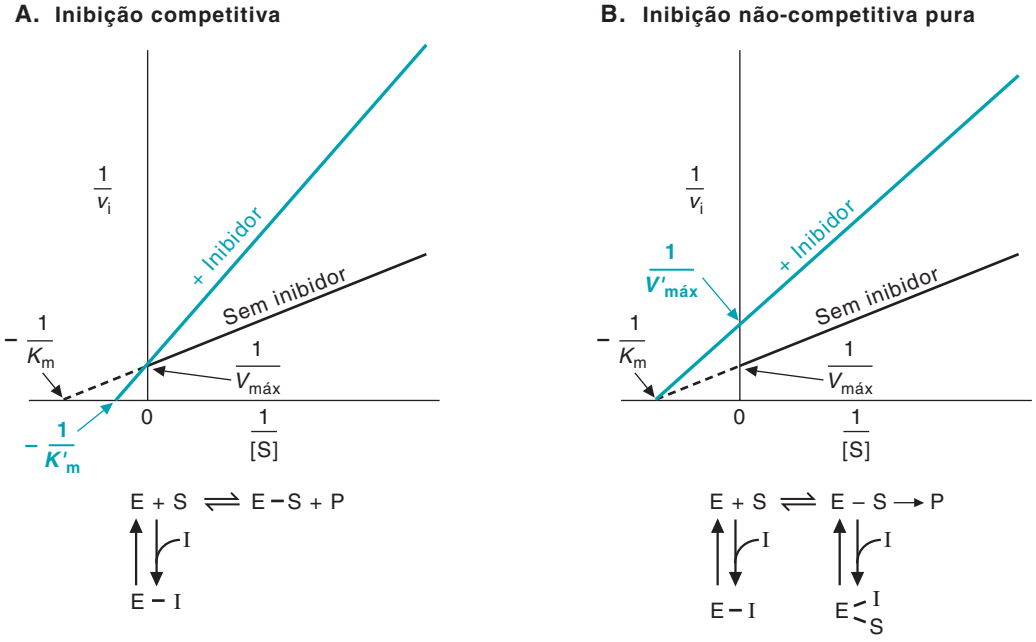


Figura 9.18 Gráficos de Lineweaver-Burk para inibição competitiva e não-competitiva pura. A. $1v_i$ *versus* 1/[S] na presença de um inibidor competitivo. O inibidor competitivo altera a intersecção sobre a abscissa. A nova intersecção é $1/K_{m,ap}$ (também chamado de $1/K'_m$). Um inibidor competitivo não afeta a $V_{máx}$. B. 1/Vi *versus* 1/[S] na presença de um inibidor competitivo puro. O inibidor não-competitivo altera a intersecção sobre a ordenada, $1/V_{máx'ap}$ ou $1/V'_{máx'}$ mas não afeta $1/K_m$. Um inibidor não-competitivo se liga a E e ES com a mesma afinidade. Se o inibidor tem afinidades diferentes para E e ES, as linhas se interceptarão acima ou abaixo da abscissa, e o inibidor não-competitivo alterará ambos K'_m e $V'_{máx}$.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 9

1. Qual das seguintes afirmações descreve um aspecto característico de uma enzima obedecendo a cinética de Michaelis-Menten?

   (A) A velocidade da enzima é metade da velocidade máxima quando 100% das moléculas da enzima contêm substrato ligado.
   (B) A velocidade da enzima é metade da velocidade máxima quando 50% das moléculas da enzima contêm substrato ligado.
   (C) A velocidade da enzima é máxima quando 50% das moléculas contêm substrato ligado.
   (D) A velocidade da enzima é máxima quando todas as moléculas de substrato em solução estão ligadas na enzima.
   (E) A velocidade da reação é independente da concentração da enzima.

2. A glicoquinase pancreática de um paciente com MODY tem uma mutação substituindo uma leucina por uma prolina. O resultado foi que o K_m para a glicose diminuiu de um valor normal de 6 mM para um valor de 2,2 mM, e a $V_{máx}$ mudou de 93 unidades/mg de proteína para 0,2 unidades/mg de proteína. Qual das seguintes melhor descreve a glicoquinase do paciente comparada à enzima normal?

   (A) A enzima do paciente necessita de uma concentração mais baixa de glicose para atingir 1/2 $V_{máx}$.
   (B) A enzima do paciente é mais rápida do que a enzima normal em concentrações de glicose abaixo de 2,2 mM.
   (C) A enzima do paciente é mais rápida do que a enzima normal em concentrações de glicose acima de 2,2 mM.
   (D) Próximo à concentração de saturação da glicose, o paciente necessita de 90 a 100 vezes mais enzima do que o normal para atingir velocidades normais de fosforilação de glicose.
   (E) À medida que os níveis de glicose aumentam após uma refeição de um valor em jejum de 5 mM para 10 mM, a velocidade da enzima do paciente aumentará mais do que a velocidade da enzima normal.

3. O metanol (CH_3OH) é convertido pela álcool-desidrogenase em formaldeído (CHO), um composto que é altamente tóxico em humanos. Os pacientes que ingeriram níveis tóxicos de metanol algumas vezes são tratados com etanol (CH_3CH_2OH) para inibir a oxidação do metanol pela álcool-desidrogenase-nase. Qual das seguintes afirmações fornece a melhor explicação para esse tratamento?

   (A) O etanol é um análogo estrutural do metanol e pode, portanto, ser um inibidor não-competitivo efetivo.
   (B) Etanol é um análogo estrutural do metanol, o qual se espera que vá competir com o metanol por seu sítio de ligação na enzima.
   (C) Espera-se que o etanol altere a $V_{máx}$ da álcool-desidrogenase para oxidação de metanol a formaldeído.

(D) O etanol seria um inbidor efetivo da oxidação do metanol independentemente da concentração de metanol.
(E) Espera-se que o etanol iniba a enzima se ligando ao sítio de ligação do formaldeído na enzima, embora ele não possa se ligar ao sítio de ligação de substrato para o metanol.

4. Qual das seguintes afirmações descreve uma característica da maioria das enzimas alostéricas?

(A) Elas são compostas por subunidades únicas.
(B) Na ausência de efetores, elas geralmente seguem a cinética de Michaelis-Menten.
(C) Elas mostram cooperatividade na ligação de substrato.
(D) Elas têm ativadores alostéricos que se ligam ao sítio catalítico.
(E) Elas têm inibidores alostéricos que se ligam a sítios alostéricos.

5. Uma enzima limitante de velocidade catalisa a primeira etapa de conversão de um metabólito tóxico em um produto de excreção urinária. Qual dos seguintes mecanismos para a regulação dessa enzima forneceria a maior proteção para o corpo?

(A) O produto da rota deve ser um inibidor alostérico da enzima limitante de velocidade.
(B) O produto da rota deve agir por transcrição gênica para diminuir a síntese da enzima.
(C) A toxina deve agir por transcrição gênica para aumentar a síntese da enzima.
(D) A enzima deve ter um K_m alto para a toxina.
(E) O produto da primeira enzima deve ativar de forma alostérica a enzima subseqüente na rota.

10 Relação entre Biologia Celular e Bioquímica

A unidade básica de um organismo vivo é a célula. Nos seres humanos, cada tecido é composto de tipos celulares similares, os quais diferem daqueles em outros tecidos. A diversidade de tipos celulares serve à função do tecido e dos órgãos na qual ela se localiza, e cada tipo de células tem características estruturais únicas que refletem seu papel. Apesar da diversidade na estrutura, os tipos de células humanas têm certas características arquitetônicas em comum, como membranas plasmáticas, membranas em torno do núcleo e das organelas e um citoesqueleto (Figura 10.1). Neste capítulo, serão revisados alguns dos aspectos químicos dessas características comuns, a função das organelas e o sistema de transporte de compostos nas células e entre as organelas.

Membrana plasmática**. A membrana da célula é uma **bicamada lipídica** que serve como uma barreira seletiva; ela restringe a entrada e a saída de compostos. Dentro da membrana plasmática, diferentes **proteínas integrais** facilitam o **trans-

As células de humanos e de outros animais são eucariotos (*eu*, bom; *karyon*, núcleo) devido ao fato de o material genético ser organizado em um núcleo limitado por uma membrana. Ao contrário, as bactérias são procariotos (*pro*, antes; *karyon*, núcleo); elas não contêm núcleos ou outras organelas encontradas nas células eucarióticas.

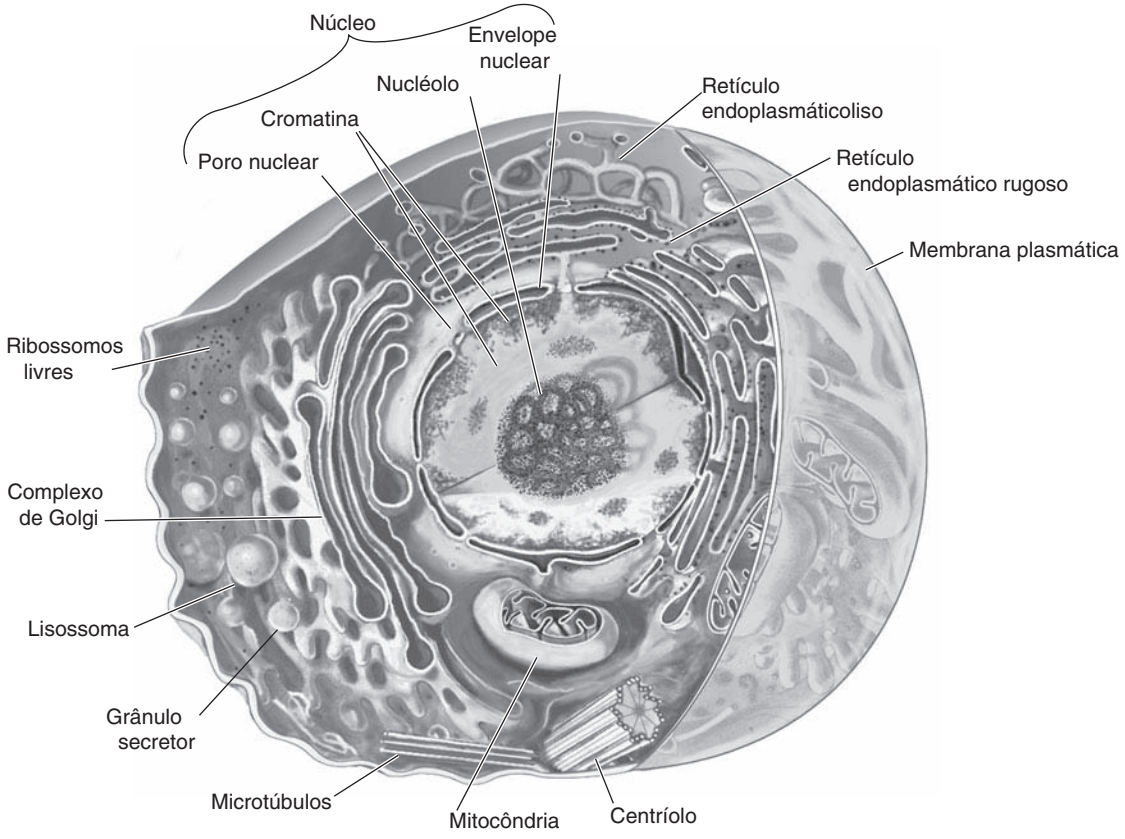


Figura 10.1 Componentes comuns de células humanas.

porte *de compostos específicos por* ***transporte ativo que requer energia***, ***difusão facilitada*** *ou pela formação de* ***poros*** *ou* ***canais regulados*** *(*"gated channels"*). A* ***membrana plasmática*** *é sustentada por um esqueleto de membrana composto de proteínas.*

Sistemas de organelas e de membranas citoplasmáticas*. As organelas dentro da célula em sua maior parte são compartimentos circundados por um sistema de membrana que restringe a troca de compostos e informação com outros compartimentos (ver Figura 10.1). Em geral, cada organela tem funções únicas que são realizadas pelas enzimas e outros compostos que ela contém, ou pelo ambiente que ela mantém. Os* ***lisossomas*** *contêm* ***enzimas hidrolíticas*** *que degradam proteínas e outras moléculas grandes. O* ***núcleo*** *contém o material genético que realiza a* ***replicação gênica*** *e a* ***transcrição de DNA****, a primeira etapa da síntese de proteínas. A última fase da síntese de proteínas ocorre nos ribossomos. Para certas proteínas, os* ***ribossomos*** *se ligam a um sistema de membrana complexo chamado de* ***retículo endoplasmático****; para outras proteínas, a síntese é completada nos ribossomos que permanecem no citoplasma. O* ***retículo endoplasmático*** *também está envolvido na síntese de lipídeos e no transporte de moléculas para o Golgi. O* ***Golgi*** *forma vesículas para o transporte de moléculas para a membrana plasmática, outros sistemas de membranas e para a secreção. As* ***mitocôndrias*** *são organelas de* ***oxidação de substratos energéticos e geração de ATP****. Os* ***peroxissomas*** *contêm muitas enzimas que utilizam ou produzem* ***peróxido de hidrogênio****. O* ***citosol*** *é o compartimento intracelular livre de organelas e de sistemas de membranas.*

Citoesqueleto*. O* ***citoesqueleto*** *é um sistema de suporte de proteínas fibrosas flexíveis que mantém a geometria da célula, fixa a posição das organelas e move compostos dentro da célula (ou a própria célula). Ele é composto principalmente de* ***microfilamentos de actina, filamentos intermediários, microtúbulos de tubulina*** *e suas proteínas ligadas.*

O citoplasma é a porção da célula entre a membrana celular e o núcleo. As mitocôndrias, os lisossomas e os peroxissomas são referidos como sendo organelas citoplasmáticas. O Golgi e o retículo endoplasmático são referidos como um sistema de membranas citoplasmático. A membrana celular pode ser delicadamente rompida por detergentes ou por estresse sem lesão dos outros sistemas de membranas. Quando uma suspensão que foi tratada dessa maneira é centrifugada por um longo período de tempo (100.000*g* por 1 hora), as organelas e os sistemas de membrana irão se agrupar no fundo do tubo. O líquido claro remanescente de enzimas, co-fatores e metabólitos é o citosol.

Epidemias por *V. cholerae* estão associadas a condições sanitárias inadequadas afetando o suprimento de água potável e são raras nos Estados Unidos. Contudo, essas bactérias crescem bem nas condições alcalinas encontradas na água do mar e ligadas à quitina de mariscos. Assim, casos esporádicos ocorrem no sudoeste dos Estados Unidos associados a ingestão de marisco contaminado.

A lise da célula, ou a quebra da membrana celular e a liberação dos conteúdos da célula, ocorre quando a continuidade da membrana celular é rompida.

SALA DE ESPERA

Al Martini tem bebido muito desde que saiu da estrada com seu carro e foi levado para a emergência do hospital (ver Capítulos 8 e 9). Embora tenha sofrido apenas pequenas lesões, sua licença para dirigir foi suspensa.

Dois anos após **Dennis "o travesso" Veere** se recuperar com sucesso de seu envenenamento por malatião, ele visitou seu avô, **Percy Veere**. O Sr. Veere levou Dennis para um piquenique na praia, onde comeram caranguejos no vapor. Mais tarde naquela noite, Dennis apresentou episódios de vômitos com diarréia aquosa, e o Sr. Veere levou-o rapidamente para a emergência do hospital. As mãos e os pés de Dennis estavam frios, ele parecia gravemente desidratado e estava se aproximando de um choque hipovolêmico (uma queda grave na pressão sangüínea). Ele teve o diagnóstico de cólera, causado pela bactéria *Vibrio cholerae*.

Antes de **Lotta Topaigne** ser tratada com alopurinol (ver Capítulo 8), sua médica prescreveu colchicina (ácido acetiltrimetilcolchicínico) para o ataque agudo de gota afetando seu dedão do pé. Após tomar uma alta dose de colchicina dividida em intervalos de várias horas, a dor em pulsação no dedão do pé diminuiu de forma significativa. A vermelhidão e o edema também pareceram diminuir levemente.

I. COMPARTIMENTALIZAÇÃO NAS CÉLULAS

As membranas são estruturas lipídicas que separam de seu ambiente os conteúdos do compartimento que elas envolvem. Uma membrana plasmática externa separa a célula do ambiente aquoso externo. As organelas (como núcleo, mitocôndria, lisossomas e peroxissomas) também são circundadas por um sistema de membrana que separa o compartimento interno da organela do citosol. A função dessas membranas é agrupar ou concentrar enzimas e outras moléculas que servem a uma função comum dentro de um compartimento com um ambiente localizado. Os transportadores e os receptores em cada sistema de membranas controlam esse ambiente localizado e a comunicação da célula ou da organela com o meio circundante.

As seções seguintes descrevem várias organelas e sistemas de membrana encontrados na maioria das células humanas e destacam a relação entres suas propriedades e função. Cada organela tem enzimas diferentes e realiza funções gerais diferentes. Por exemplo, o núcleo contém as enzimas para a síntese de DNA e RNA.

Nem todas as células nos seres humanos são semelhantes. Diferentes tipos celulares diferem quantitativamente em seu conteúdo de organelas, ou suas organelas podem conter quantidades muito diferentes de uma enzima em particular, de acordo com a função da célula. Por exemplo, a mitocôndria do fígado contém uma enzima-chave para a síntese de corpos cetônicos, mas não tem a enzima-chave para seu uso. O inverso é verdadeiro para a mitocôndria do músculo. Assim, o conteúdo enzimático das organelas varia um pouco de um tipo de célula para outro.

II. MEMBRANA PLASMÁTICA

A. Estrutura da Membrana Plasmática

Todas as células de mamíferos são limitadas por uma membrana plasmática composta por uma bicamada lipídica (duas camadas) contendo proteínas embebidas nela (Figura 10.2). As membranas são contínuas e seladas de tal forma que a bicamada lipídica restringe seletivamente a troca de compostos polares entre o fluido externo e o compartimento intracelular. A membrana é referida como um mosaico fluido, pois ela consiste em um mosaico de proteínas e moléculas de lipídeo que pode, na maior parte, mover-se lateralmente no plano da membrana. As proteínas são classificadas como proteínas integrais, as quais se estendem pela membrana celular, ou proteínas periféricas, as quais se ligam à superfície da membrana por ligações eletrostáticas a lipídeos ou proteínas integrais. Muitas das proteínas e muitos dos lipídeos da folha externa contêm cadeias de carboidratos ligadas de forma covalente e, portanto, são glicoproteínas ou glicolipídeos. Essa camada de carboidratos na superfície externa da célula é chamada de glicocálice.

1. LIPÍDEOS NA MEMBRANA PLASMÁTICA

Cada camada da bicamada lipídica da membrana plasmática é formada primariamente por fosfolipídeos, os quais são dispostos com suas cabeças de grupos hidrofílicas voltadas para o meio aquoso e suas caudas acilas formando o interior hidrofóbico da membrana (ver Figura 10.2). Os principais fosfolipídeos na membrana são os glicerolipídeos fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina e fosfatidilserina e o esfingolipídeo esfingomielina (Figura 10.3). A composição de lipídeos varia entre diferentes tipos celulares, sendo a fosfatidilcolina o principal lipídeo de membrana plasmática na maioria dos tipos celulares, e os esfingolipídeos, os mais variáveis.

A composição lipídica da bicamada é assimétrica, com um conteúdo maior de fosfatidilcolina e esfingomielina na folha externa e um conteúdo maior de fosfatidilserina e fosfatidiletanolamina na folha interna. A fosfatidilserina contém uma carga total negativa que contribui para o potencial de membrana e deve ser importante para ligar moléculas positivamente carregadas dentro da célula. O fosfatidilinositol, o qual é encontrado apenas na membrana interna, exerce função na transferência de informação a partir de hormônios e neurotransmissores através da membrana celular para dentro da célula (Figuras 10.4).



As bactérias são células individuais circundadas por uma membrana celular e uma parede celular exterior à membrana. Elas são procariotos, que não contêm núcleos ou outras organelas (ou seja, estruturas subcelulares circundadas por membrana) encontrados em células eucarióticas. Todavia, as bactérias têm muitas rotas metabólicas similares, com as enzimas localizadas no compartimento intracelular ou na membrana celular.

O *Vibrio cholerae* responsável pelo cólera de **Dennis Veere** são bactérias gram-negativas. Sua membrana plasmática é circundada por uma fina parede celular composta de uma estrutura de proteína-polissacarídeo chamada de peptidoglicano e uma membrana externa. Ao contrário, as bactérias grampositivas têm uma membrana plasmática e uma parede celular de peptidoglicano espessa que retém a coloração Gram. O vibrião cresce melhor sob condições aeróbicas, mas também sob condições de pouco oxigênio. Elas possuem enzimas similares àquelas nas células humanas para glicólise, ciclo do TCA e fosforilação oxidativa. Elas têm uma baixa tolerância para ácidos, o que é parcialmente responsável por sua presença em água marinha levemente básica e mariscos.



Os componentes de carboidratos variáveis dos glicolipídeos na superfície da célula funcionam como marcadores de reconhecimento celular. Por exemplo, os grupos sangüíneos A, B ou O são determinados pela composição de carboidratos dos glicolipídeos. Os glicolipídeos da superfície celular também podem servir como sítios de ligação para vírus e toxinas de bactérias antes de penetrarem na célula. Por exemplo, a toxina AB do coléra se liga a gangliosídeos GM_1 na superfície das células epiteliais intestinais. A toxina é, então, endocitada em *caveola* (invaginações ou "cavernas" que podem se formar em regiões específicas da membrana).



Uma das toxinas bacterianas secretadas pelo *Clostridium perefringens*, a bactéria que causa gangrena gasosa, é uma lipase que hidrolisa fosfocolina a partir de fosfatidilcolina e de esfingomielina. A lise resultante da membrana celular libera conteúdos intracelulares que fornecem à bactéria nutrientes para seu crescimento rápido. Essas bactérias são anaeróbios estritos e crescem apenas na ausência de oxigênio. À medida que suas toxinas rompem as membranas das células endoteliais dos vasos sangüíneos, os capilares são destruídos, e as bactérias são protegidas do oxigênio transportado pelas células vermelhas sangüíneas. Elas também são protegidas de antibióticos e componentes do sistema imune carregados no sangue.

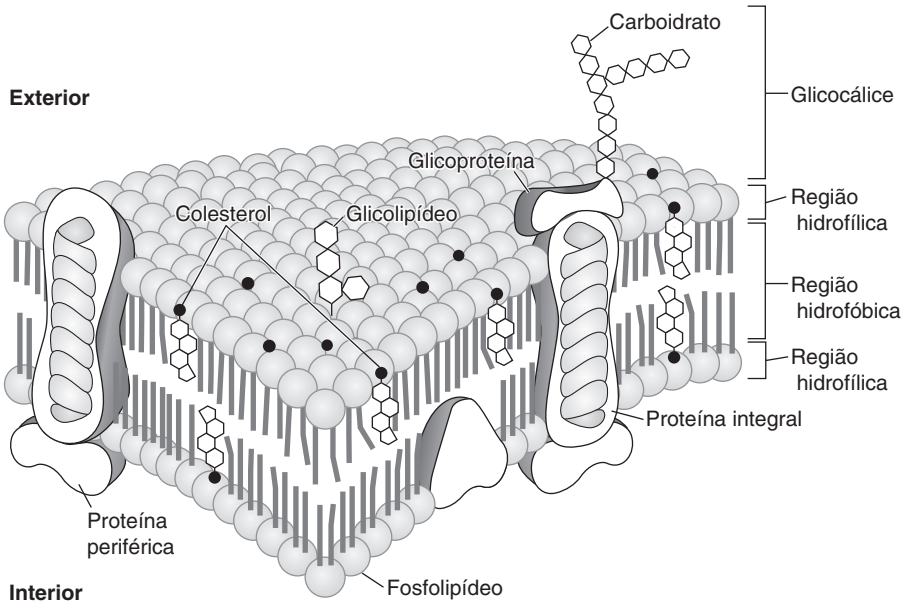


Figura 10.2 Estrutura básica da membrana de célula animal.

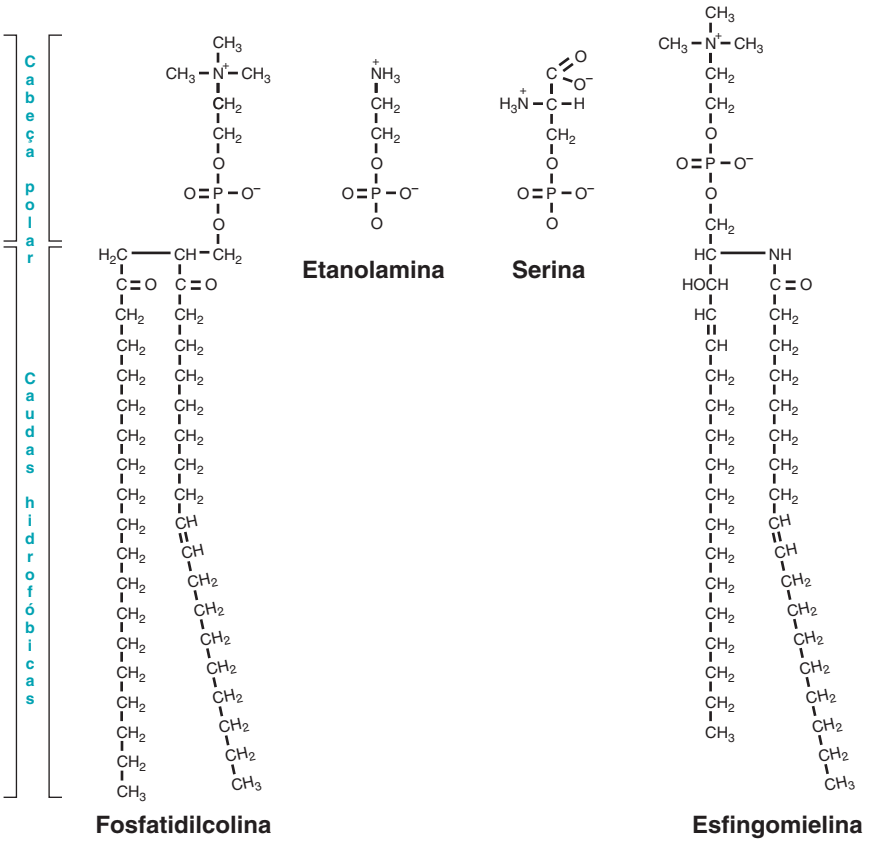


Figura 10.3 Fosfolipídeos comuns nas membranas das células de mamíferos. Os grupos de cabeças polares da etanolamina e da serina substituem a colina na fosfatidilcolina para formar fosfatidiletanolamina e fosfatidilserina, respectivamente. Fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina e fosfatidilserina são fosfoacilgliceróis. Diferentemente, a esfingomielina não contém o esqueleto de glicerol, mas tem um esqueleto de esfingosina e é um esfingolipídeo.

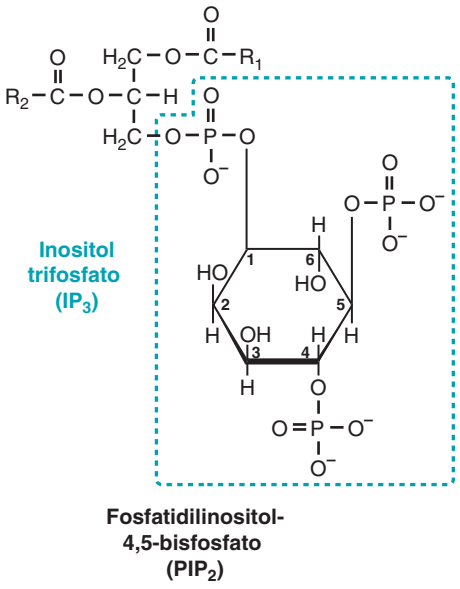


Figura 10.4 Fosfatidilinositol-bisfosfato (PIP_2). R_1 e R_2 são cadeias de acila. A porção de PIP_2 que se torna inositol-trifosfato, o grupo de cabeça polar se estendendo para o citosol, é mostrada em azul.

O colesterol, o qual está disperso entre os fosfolipídeos, mantém a fluidez da membrana. Nos fosfoacilgliceróis, as cadeias de ácidos graxos insaturados se dobram na conformação *cis* e formam uma bolsa para o colesterol, o qual se liga com seu grupo hidroxila na região hidrofílica externa da membrana e com seu núcleo esteróide hidrofóbico no interior hidrofóbico da membrana (Figura 10.5). A presença do colesterol e dos ácidos graxos insaturados *cis* na membrana impedem que as cadeias hidrofóbicas se agrupem próximas demais. Como conseqüência, as moléculas de lipídeo e as proteínas que não estão ligadas às proteínas estruturais externas e internas podem girar e mover-se lateralmente no plano da folha da membrana. Esse movimento permite que a membrana plasmática realize a partição entre as células-filhas durante a divisão celular,

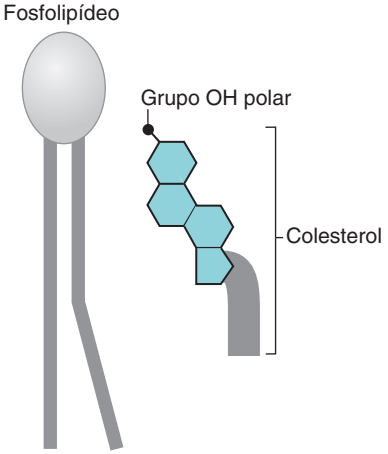


Figura 10.5 Colesterol na membrana plasmática. O grupo hidroxila polar do colesterol é orientado em direção à superfície. A cauda de hidrocarboneto e o núcleo esteróide (azul) ficam no interior hidrofóbico. Uma ligação dupla *cis* na cadeia de ácido graxo de um fosfolipídeo dobra a cadeia para criar um sítio de ligação hidrofóbico para o colesterol.



Al Martini está sofrendo os efeitos a curto e longo prazo do etanol sobre seu sistema nervoso central. Dados reforçam a teoria de que os efeitos a curto prazo do etanol sobre o cérebro ocorrem parcialmente por um aumento na fluidez causado quando o etanol se intercala entre os lipídeos de membrana. As alterações na fluidez podem afetar as proteínas que se estendem pela membrana (proteínas integrais), como os canais iônicos e os receptores para neurotransmissores envolvidos na condução do impulso nervoso.

deforme-se à medida que as células passam através de capilares e forme e funda-se com membranas de vesículas. A fluidez da membrana é parcialmente determinada pelo conteúdo de ácidos graxos insaturados da dieta.

A composição da membrana é dinâmica. As seções de membrana formam botões que se destacam em vesículas, e as vesículas de membrana formadas no Golgi e em outros lugares levam componentes novos e reciclados de volta para a membrana. As cadeias individuais de acil graxos são renovadas à medida que são hidrolisadas dos lipídeos e substituídas, e as enzimas chamadas de lipases transferem lipídeos entre os folhetos da membrana.

2. PROTEÍNAS NA MEMBRANA PLASMÁTICA

As proteínas integrais contêm domínios transmembrana com cadeias laterais de aminoácidos hidrofóbicos que interagem com as porções hidrofóbicas dos lipídeos para fechar a membrana (ver Figura 10.2). As regiões hidrofílicas das proteínas protuberam para o meio aquoso em ambos os lados da membrana. Muitas dessas proteínas funcionam como canais ou como transportadores para o movimento de compostos através da membrana, como receptores para a ligação de hormônios e neurotransmissores ou como proteínas estruturais (Figura 10.6).

As proteínas periféricas de membrana, as quais foram originalmente definidas como aquelas proteínas que podem ser liberadas da membrana por solventes iônicos, são ligadas por interações eletrostáticas fracas com os grupos de cabeça polar de lipídeos ou proteínas integrais. Uma das classes de proteínas periféricas mais bem caracterizada é a família de proteínas da espectrina, as quais são ligadas à superfície intracelular e fornecem suporte mecânico para a membrana. A espectrina é ligada à actina, formando juntas uma estrutura que é chamada de esqueleto interno da membrana ou esqueleto cortical (ver Figura10.6).

Uma terceira classificação das proteínas de membrana consiste em proteínas ancoradas por lipídeos ligadas à superfície interna ou externa da membrana. A âncora de glicofosfatidilinositolglicano (GPI, do inglês *glycophosphatidylinositoglycan*) é um

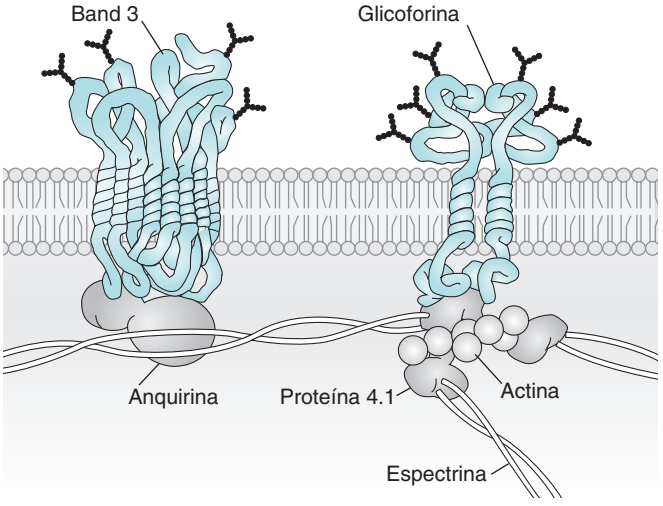


Figura 10.6 Proteínas na membrana da célula sangüínea vermelha. As proteínas chamadas de Band 3 (o transportador de troca bicarbonato-cloreto) e glicoforina contêm segmentos apolares de hélice α atravessando a bicamada lipídica. Essas proteínas contêm grandes quantidades de aminoácidos hidrofílicos polares e com carga nos domínios intra e extracelular. No lado de dentro da célula, elas estão ligadas a proteínas periféricas constituindo o esqueleto da membrana interna. A band 3 está conectada a filamentos de espectrina através da proteína anquirina. A glicoforina está conectada a filamentos curtos de actina e espectrina através da proteína 4.1.

Duas das proteínas integrais importantes na membrana da célula vermelha sangüínea são a glicoforina, a qual fornece uma carga externa negativa que repele outras células, e a band 3, a qual é um canal para a troca de bicarbonato e cloreto. O transporte de bicarbonato para dentro da célula vermelha sangüínea em troca de cloreto auxilia a carregar bicarbonato para os pulmões, onde ele é expirado como CO_2.

Todas as células contêm na membrana um esqueleto interno de proteínas semelhantes à espectrina. A espectrina da célula vermelha sangüínea foi o primeiro membro da família de espectrinas descrito. A proteína distrofina presente nas células do músculo esquelético é um membro da família de espectrinas. Os defeitos genéticos no gene da distrofina são responsáveis pelas distrofias musculares de Duchenne e Becker.

lipídeo covalentemente ligado que ancora proteínas à superfície externa da membrana (Figura 10.7). Um grande número de proteínas, envolvidas na regulação hormonal, está ancorado na superfície interna da membrana através de grupos acil graxos palmitil (C16) ou miristil (C14) ou através de grupos isoprenil geranilgeranil (C20) ou farnesil (C15) (ver Ras, Capítulo 9, Figura 9.14, ou Capítulo 6, Figura 6.14). Contudo, muitas proteínas integrais também contêm grupos lipídicos ligados para aumentar sua estabilidade na membrana.

3. O GLICOCÁLICE DA MEMBRANA PLASMÁTICA

Algumas das proteínas e alguns dos lipídeos da superfície externa da membrana contêm cadeias curtas de carboidratos (oligossacarídeos) que se estendem para o meio aquoso. Os carboidratos, portanto, constituem 2 a 10% do peso das membranas plasmáticas. Essa camada hidrofílica de carboidratos, chamada de glicocálice, protege a célula contra a digestão e restringe a captação de compostos hidrofóbicos.

As glicoproteínas em geral contêm cadeias de oligossacarídeos ramificados de aproximadamente 15 resíduos de açúcar que são ligadas por ligações N-glicosídicas ao nitrogênio amida de uma cadeia lateral de asparagina (ligação N-glicosídica) ou por uma ligação glicosídica ao oxigênio da serina (O-glicoproteínas). Os glicolipídeos de membrana em geral são galactosídeos ou cerebrosídeos. As cadeias de carboidratos específicas nos glicolipídeos servem como moléculas de reconhecimento da célula (ver Capítulo 5 para estruturas de classes de compostos).

B. Transporte de Moléculas através da Membrana Plasmática

As membranas formam barreiras hidrofóbicas em torno das células para controlar o ambiente interno pela restrição da entrada e saída de moléculas. Como conseqüência, as células precisam de sistemas de transporte para permitir a entrada de pequenos compostos polares de que elas necessitam (p. ex., glicose) para concentrar compostos no lado interno da célula (p. ex., K^+) e para expelir outros compostos (p. ex., Ca^{2+} e

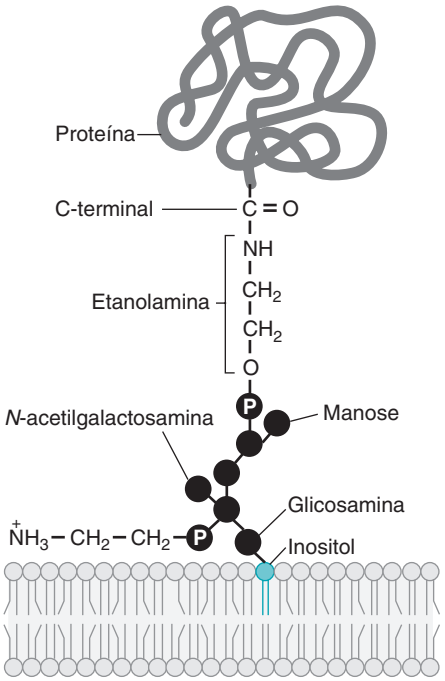


Figura 10.7 A âncora glicano glicosilfosfatidilinositol (GPI). A extremidade carboxiterminal da proteína é ligada à fosfoetanolamina, a qual está ligada a um oligossacarídeo ramificado que é ligado à porção inositol do fosfatidilinositol. As cadeias acil graxas hidrofóbicas da porção fosfatidilinositol são ligadas na porção central hidrofóbica da membrana.

A proteína príon, presente em membranas neuronais, fornece um exemplo de uma proteína ligada à membrana através de uma âncora GPI. Essa é a proteína que desenvolve uma conformação alterada na doença da vaca louca e na doença de Creutzfeldt-Jakob (ver Capítulo 7, Comentários Bioquímicos).

Na^+). Os sistemas de transporte para pequenas moléculas orgânicas e íons inorgânicos pertencem a quatro categorias: difusão simples através da bicamada lipídica ou através de poros grandes; difusão facilitada; canais regulados, e bombas de transporte ativo (Figura 10.8). Esses mecanismos de transporte são classificados como passivo, se não há necessidade de energia, ou ativo, se energia é necessária. A energia com freqüência é fornecida pela hidrólise de ATP.

Além desses mecanismos para o transporte de pequenas moléculas individuais, as células podem realizar endocitose. A membrana plasmática se estende ou se invagina para envolver uma partícula, uma célula estranha ou líquido extracelular, fechando-se, então, uma vesícula que é liberada para o citoplasma (ver Figura 10.8).

1. DIFUSÃO SIMPLES

Gases como O_2 e CO_2 e substâncias lipossolúveis (como hormônios esteróides) podem atravessar as membranas por difusão simples (ver Figura 10.8). Na difusão simples (difusão livre), as moléculas se movem envolvendo-se em colisões aleatórias com outras moléculas semelhantes. Há uma movimentação líquida de uma região de alta concentração para uma região de baixa concentração, pois moléculas seguem batendo-se umas nas outras, onde a concentração é maior. Não é necessária energia para difusão, e compostos que não têm carga finalmente atingem as mesmas concentrações em ambos os lados da membrana.

É considerado que a água se difunde através das membranas por uma movimentação inespecífica através de canais de íons, poros ou proteínas embebidas nos lipídeos. Certas células (p. ex., células tubulares renais) também contêm grandes poros protéicos, chamados de aquaporinas, os quais permitem uma alta taxa de fluxo de água de uma região de alta concentração (baixa concentração de soluto) para uma de baixa concentração de água (alta concentração de soluto).

2. DIFUSÃO FACILITADA POR LIGAÇÃO A PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS

A difusão facilitada necessita que a molécula transportada se ligue a um carreador específico ou a uma proteína transportadora na membrana (Figura 10.9). A proteína

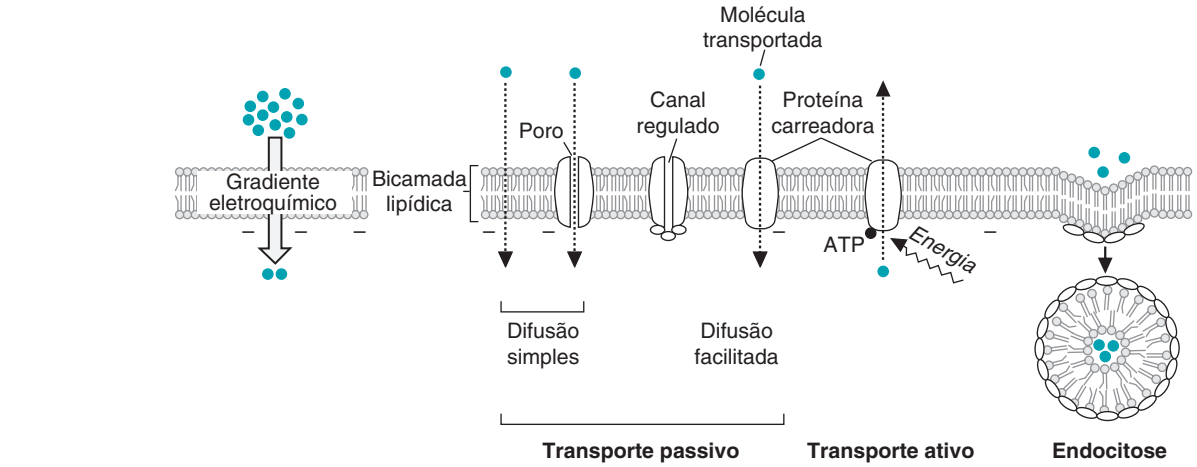


Figura 10.8 Tipos comuns de mecanismos de transporte em células humanas. O gradiente eletroquímico consiste no gradiente de concentração do composto e da distribuição de carga na membrana, o qual afeta o transporte de íons carregados, como Cl^-. Tanto os resíduos de aminoácidos da proteína quanto os grupos de cabeça polar de lipídeos contribuem para a carga total negativa no lado de dentro da membrana. Geralmente, transporte passivo (a difusão de moléculas sem carga) é a movimentação líquida de uma região de alta concentração para uma de baixa concentração, e o transporte ativo (que necessita de energia) é a movimentação líquida de uma região de baixa concentração para uma de alta concentração.



Dennis Veere ficou desidratado porque perdeu muita água por vômito e diarréia (ver Capítulo 4). A toxina do cólera aumenta o efluxo de íons sódio e cloreto de suas células da mucosa intestinal para o lúmen intestinal. O aumento da água nas fezes resulta da transferência passiva de água de dentro das células e dos líquidos corporais, onde ela está em alta concentração (ou seja, as concentrações intracelulares de Na^+ e Cl^- são baixas), para o lúmen do intestino delgado e grosso, onde está em concentração mais baixa (em relação a Na^+ e Cl^- altos). A diarréia aquosa também é rica em íon K^+ e bicarbonato. Todos os sinais e sintomas do cólera em geral derivam dessa perda de líquido.

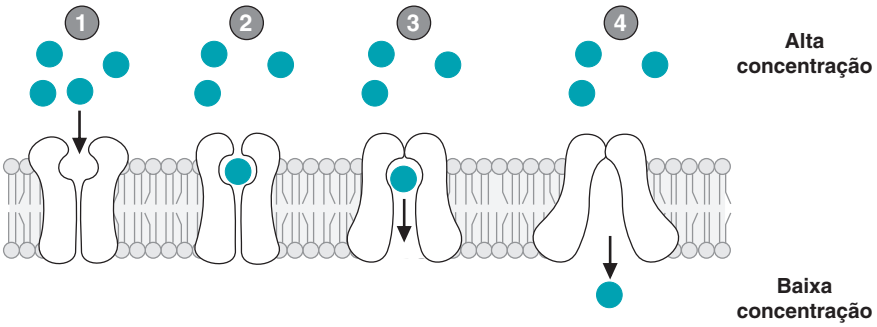


Figura 10.9 Transporte facilitado. Embora a molécula sendo transportada deva ligar-se a uma proteína transportadora, o mecanismo é a difusão passiva, e a molécula se move de uma região de alta concentração para uma de baixa concentração. "Passivo" se refere à não-necessidade de energia para o transporte.

transportadora sofre, então, uma mudança conformacional que permite que a molécula transportada seja liberada no outro lado da membrana. Embora as moléculas transportadas sejam ligadas a proteínas, o processo de transporte ainda é classificado como difusão, pois não é necessária energia, e o composto alcança o equilíbrio em ambos os lados da membrana (atinge um equilíbrio de concentração e carga).

As proteínas transportadoras, assim como as enzimas, exibem cinética de saturação; quando todos os sítios de ligação em todas as proteínas transportadoras na membrana estão ocupados, o sistema está saturado, e a taxa de transporte atinge um platô (a velocidade máxima). Por analogia com as enzimas, a concentração de um composto transportado necessária para atingir metade da velocidade máxima com freqüência é chamada de K_m (Figura 10.10). Os transportadores facilitados são similares a enzimas em relação a duas características adicionais: são relativamente específicos aos compostos que ligam e podem ser inibidos por compostos que bloqueiam seus sítios de ligação ou alteram sua conformação.

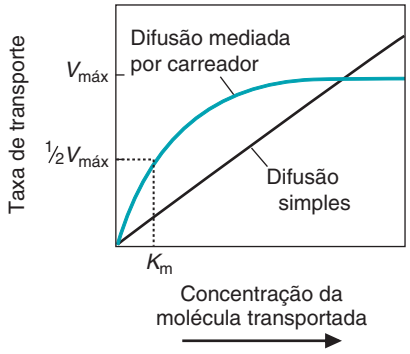


Figura 10.10 Cinética de saturação de proteínas transportadoras. Quando um composto deve ligar-se a uma proteína para ser transportado através de uma membrana, a velocidade de transporte depende da quantidade do composto ligado. Ele atinge uma velocidade máxima quando a concentração do composto é elevada a tão alto que todos os sítios de ligação do transportador estão ocupados. A curva é uma hipérbole retangular que se aproxima da $V_{máx}$ em concentração infinita de substrato, idêntica àquela das enzimas de Michaelis-Menten. O K_m do transporte é a concentração de composto necessária para 1/2 $V_{máx}$. Ao contrário, a difusão simples de um composto não necessita de sua ligação a uma proteína, e a taxa de transporte aumenta linearmente com o aumento da concentração do composto.



Todas as células do corpo têm transportadores facilitados de glicose que a transportam através da membrana plasmática a favor de um gradiente eletroquímico (concentração) à medida que é rapidamente metabolizada na célula. No músculo e no tecido adiposo, a insulina aumenta o conteúdo de transportadores de glicose na membrana celular, aumentando, assim, a habilidade desses tecidos de captar glicose. Os pacientes com diabetes melito tipo 1, que não produzem insulina (p. ex., **Di Abietes**, ver Capítulo 7), têm uma habilidade diminuída para transportar glicose nesses tecidos, contribuindo, assim, para a hiperglicemia (glicose sangüínea elevada).

3. CANAIS REGULADOS (*GATED CHANNELS*) NAS MEMBRANAS PLASMÁTICAS

Nos canais regulados, as proteínas transmembrana formam um poro para íons que é aberto ou fechado em resposta a um estímulo: alterações de voltagem através da membrana (canais regulados por voltagem; *voltage-gated channels*), a ligação de um composto (canais regulados por ligante; *ligand-gated channels*) ou uma alteração regulatória no domínio intracelular (canais regulados por fosforilação ou pressão; *phosphorylation-gated channels*, *pressure-gated channels*). Por exemplo, a condução de um impulso nervoso ao longo do axônio depende do fluxo passivo de íons Na^+ através de um canal regulado por voltagem que é aberto por despolarização da membrana. O CFTR é um canal de Cl^- que fornece um exemplo de um canal regulado por ligante controlado por fosforilação (regulada por fosforilação; *phosphorylation-gated*) (Figura 10.11). O CFTR é um membro da superfamília ABC de proteínas transportadoras (cassete de ligação de nucleotídeo de adenina, ou cassete de ligação de ATP). Ele tem dois domínios transmembrana que formam um canal fechado, cada um conectado a um sítio de ligação de ATP, e um domínio regulatório que fica em frente ao canal. Quando o domínio regulatório é fosforilado por uma quinase, sua conformação se altera, e ele se afasta do domínio de ligação do ATP. À medida que o ATP se liga e é hidrolisado, o domínio transmembrana altera a conformação e abre o canal, e íons cloreto se difundem através dele. À medida que a conformação reverte para sua forma original, o canal se fecha.

O transporte através de um canal regulado por ligante é considerado difusão, embora o ATP esteja envolvido, pois apenas poucas moléculas de ATP estão sendo usadas para abrir e fechar o canal através do qual muitos e muitos íons cloreto se difundem. Entretanto, a distinção entre canais regulados por ligante e transportadores facilitados nem sempre é tão clara assim. Muitos canais regulados apresentam cinética de saturação em concentrações muito altas dos compostos que são transportados.

O regulador de condutância transmembrana da fibrose cística (CFTR, do inglês *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) recebeu esse nome por seu papel na fibrose cística. Uma mutação em um gene que codifica suas subunidades transmembrana resulta em acumulação de muco seco nas vias aéreas e nos ductos pancreáticos.

O CFTR também está envolvido na desidratação causada pelo cólera em pacientes como **Dennis Veere**. Nas células da mucosa intestinal, a toxina A do cólera indiretamente ativa a fosforilação do domínio regulatório do CFTR pela proteína-quinase A. Assim, o canal permanece aberto, e Cl^- e H_2O fluem da célula para o lúmen intestinal, resultando em desidratação.

4. TRANSPORTE ATIVO NECESSITA DE ENERGIA E PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS

Tanto o transporte ativo quanto o facilitado são mediados por proteínas transportadoras (carreadores) na membrana. Contudo, no transporte facilitado, o composto é transportado a favor do gradiente eletroquímico (o equilíbrio de concentração e carga através de uma membrana), em geral de uma concentração alta para uma baixa, para atingir o equilíbrio entre os dois lados da membrana. Se energia é diretamente aplicada ao transportador (p. ex., hidrólise de ATP pela Na^+,K^+-ATPase), o transporte é chamado de transporte ativo primário; se energia é utilizada para estabelecer um gradiente de íons (p. ex., o gradiente de Na^+), e o gradiente é utilizado para concentrar outro composto, o transporte é chamado de transporte ativo secundário.

A Na^+,K^+-ATPase se estende na membrana plasmática de forma muito semelhante a um poro regulado (*gated pore*), com um sítio de ligação para três íons Na^+ aberto

Os sistemas de transporte mediado por proteína, facilitado ou ativo, são classificados como antiporte se trocam especificamente compostos de carga similar através de uma membrana; eles são chamados de simporte ou co-transportadores se transportam simultaneamente duas moléculas através da membrana na mesma direção. A band 3 na membrana das células sangüíneas vermelhas, as quais trocam íon cloreto por bicarbonato, é um exemplo de antiporte.

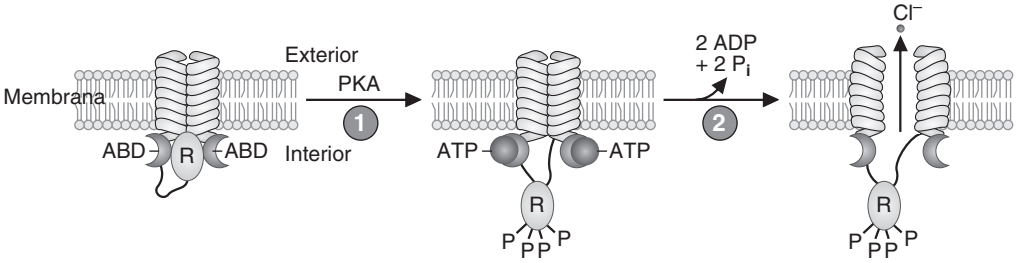


Figura 10.11 CFTR, um canal regulado por ligante controlado por fosforilação. Dois domínios intracelulares de ligação controlam a abertura do canal, um domínio de ligação de nucleotídeo da adenina (ABD, do inglês *adenine nucleotide binding domain*) e um domínio regulatório (R). **1.** A fosforilação da subunidade regulatória pela proteína-quinase A causa uma alteração conformacional que permite que o ATP se ligue ao domínio de ligação de nucleotídeo da adenina (ABD). **2.** A hidrólise do ATP ligado abre o canal de tal maneira que íons cloreto podem se difundir através dele.

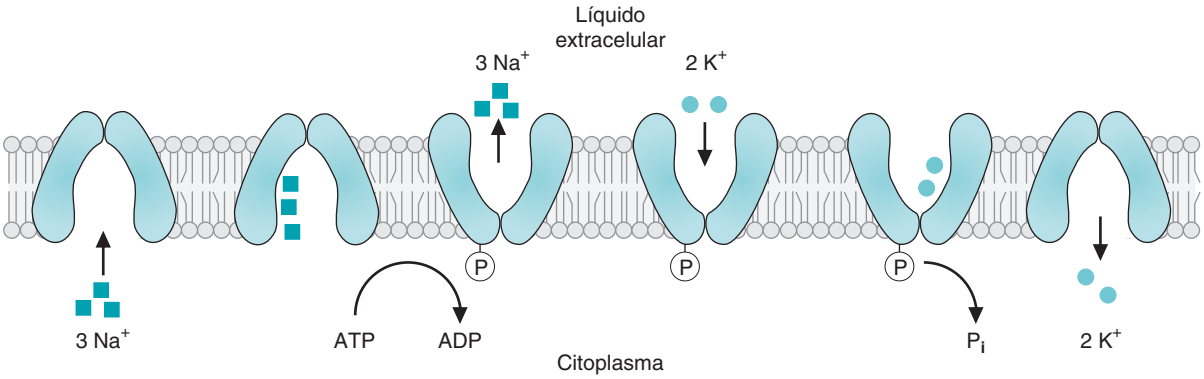


Figura 10.12 Transporte ativo pela Na^+,K^+-ATPase. Três íons sódio se ligam à proteína transportadora no lado citoplasmático da membrana. Quando o ATP é hidrolisado a ADP, a proteína carreadora é fosforilada e sofre uma alteração na conformação que faz com que íons sódio sejam liberados no líquido extracelular. Dois íons potássio, então, ligam-se no lado extracelular. A desfosforilação da proteína carreadora produz outra alteração conformacional, e os íons potássio são liberados no lado interno da membrana celular. A proteína transportadora, então, volta à sua conformação original, pronta para ligar mais íons sódio.

para o lado intracelular (Figura 10.12). A energia da hidrólise de ATP é utilizada para fosforilar um domínio interno e alterar a conformação do transportador de tal maneira que os íons Na^+ ligados são liberados no lado externo, e dois íons K^+ externos se ligam. A ligação de K^+ dispara a hidrólise do grupo fosfato ligado e um retorno à conformação original, acompanhado pela liberação de íons K^+ dentro da célula. Como conseqüência, as células são capazes de manter uma concentração intracelular de Na^+ muito mais baixa e uma concentração intracelular de K^+ muito mais alta do que a presente no líquido externo.

O gradiente de Na^+, o qual é mantido por transporte ativo primário, é utilizado para dar energia para o transporte de glicose, aminoácidos e muitos outros compostos para dentro da célula por meio de transporte ativo secundário. Um exemplo é o transporte de glicose para dentro das células do epitélio intestinal juntamente com íons Na^+ (Figura 10.13).

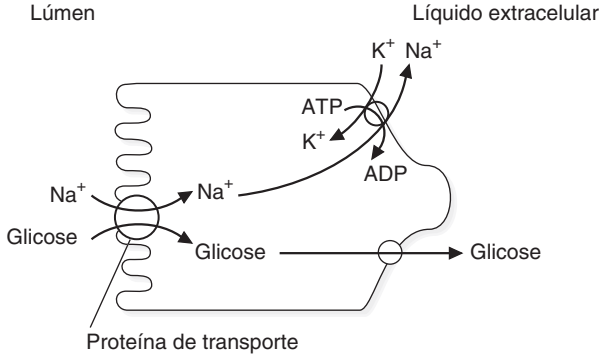


Figura 10.13 Transporte ativo secundário de glicose pelo co-transportador Na^+-glicose. Um íon sódio se liga à proteína carreadora na membrana luminal, estimulando a ligação de glicose. Após uma alteração conformacional, a proteína libera Na^+ e glicose dentro da célula e retorna a sua conformação original. A Na^+,K^+-ATPase na membrana basolateral bombeia Na^+ contra seu gradiente de concentração para o líquido extracelular. Assim, a concentração de Na^+ na célula fica baixa, e Na^+ se desloca do lúmen a favor do gradiente de concentração para dentro da célula, sendo bombeado contra seu gradiente para o líquido extracelular. A glicose, conseqüentemente, move-se contra seu gradiente de concentração do lúmen para dentro da célula, sendo transportada no mesmo carreador que Na^+. A glicose, então, passa a favor de seu gradiente de concentração para o líquido extracelular por meio de uma proteína de transporte passivo.

A Ca^{2+}-ATPase, uma bomba de cálcio, utiliza um mecanismo similar àquele da Na^+,K^+-ATPase para manter a concentração de Ca^{2+} intracelular abaixo de 10^{-7} M apesar da alta concentração extracelular de 10^{-3} M. Esse transportador é inibido pela ligação da proteína regulatória calmodulina. Quando a concentração intracelular de Ca^{2+} aumenta, o Ca^{2+} se liga à calmodulina, que se dissocia do transportador, desse modo ativando-o para bombear Ca^{2+} para fora da célula (ver Capítulo 9 para estrutura da calmodulina). Altos níveis de Ca^{2+} intracelular estão associados à progressão irreversível de lesão celular até morte celular.

A desidratação do cólera com freqüência é tratada com uma solução de reidratação oral contendo Na^+, K^+ e glicose ou uma dieta rica em arroz (que contém glicose e aminoácidos). A glicose é absorvida do lúmen intestinal por um co-transportador de glicose dependente de Na^+, o qual co-transporta Na^+ para dentro das células juntamente com glicose. Muitos aminoácidos também são absorvidos por co-transporte dependente de Na^+. Com o retorno do Na^+ para o citoplasma, a saída de água da célula para o lúmen intestinal diminui.

A vitamina folato é um exemplo de composto transportado para dentro das células por cavéolas, as quais se formam ao redor do receptor de folato ocupado. Por outro lado, a endocitose de muitos compostos, como receptores hormonais de membrana, ocorre através de invaginações cobertas por clatrina. Os receptores são alvos dessas invaginações por proteínas adaptadoras que se ligam a uma seqüência de aminoácidos específica no receptor.

Essas células criam um gradiente de Na^+ e, então, utilizam esse gradiente para direcionar o transporte de glicose do lúmen intestinal para dentro da célula contra seu gradiente de concentração.

D. Transporte Vesicular através da Membrana Plasmática

O transporte vesicular ocorre quando uma membrana circunda completamente um composto, partícula ou célula e os engloba em uma vesícula. Quando a vesícula se funde com outro sistema de membranas, o composto aprisionado é liberado. Endocitose se refere ao transporte vesicular para dentro da célula, e exocitose, ao transporte para fora da célula. A endocitose ainda é classificada como fagocitose se a vesícula se forma em torno de uma matéria particulada (como células bacterianas inteiras ou metais e corantes de tatuagens) e como pinocitose se a vesícula se forma em torno de um líquido contendo moléculas dispersas. Endocitose mediada por receptor é o nome dado à formação de vesículas cobertas por clatrina que medeiam a internalização de receptores ligados à membrana em vesículas cobertas no lado intracelular com subunidades da proteína clatrina (Figura 10.14). Potocitose é o nome dado à endocitose que ocorre através de cavéolas (pequenas invaginações ou "cavernas"), as quais são regiões da membrana celular com uma composição lipídica e protéica única (incluindo a proteína caveolina-1).

III. LISOSSOMAS

Os lisossomas são organelas intracelulares de digestão envolvidas por uma membrana única que impede a liberação de suas enzimas digestivas para o citosol. Eles são elementos centrais em uma ampla variedade de funções corporais que envolvem a eliminação do material não-desejado e a reciclagem de seus componentes, incluindo a

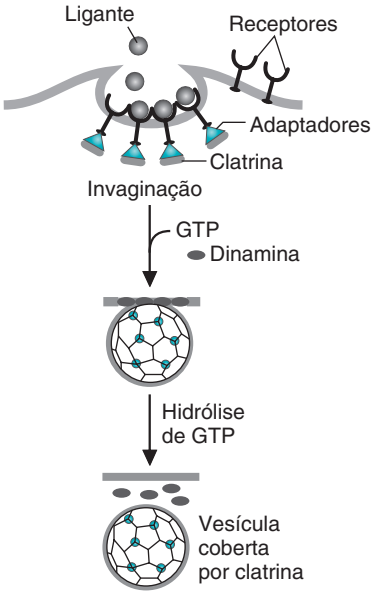


Figura 10.14 Formação de uma vesícula coberta por clatrina. Os ligantes entrando na célula por endocitose mediada por receptor se ligam a receptores que se agrupam em uma área da membrana. As proteínas adaptadoras se ligam às caudas do receptor e à molécula de clatrina para envolver a membrana que protubera em uma capa de clatrina tipo "gaiola".
As moléculas de uma proteína G monomérica chamada de dinamina (da família Rab) apertam o pescoço da vesícula e a desligam da membrana à medida que o GTP é hidrolisado.

destruição de bactérias e fungos infecciosos, a recuperação de lesão, a remodelagem tecidual, a involução de tecidos durante o desenvolvimento e a renovação normal de células e organelas.

A. Hidrolases Lisossomais

As enzimas digestivas lisossomais incluem nucleases, fosfatases, glicosidases, esterases e proteases chamadas de catepsinas (Figura 10.15). Todas essas enzimas são hidrolases, enzimas que rompem ligações amida, éster e outras pela adição de água. Muitos dos produtos da digestão lisossomal, como aminoácidos, retornam ao citosol. Os lisossomas estão, portanto, envolvidos na reciclagem de compostos.

A maioria dessas hidrolases lisossomais tem sua maior atividade próxima a um pH de cerca de 5,5 (o pH ótimo). O pH intralisossomal é mantido próximo a 5,5 principalmente por ν-ATPases (ATPases vesiculares), as quais bombeiam ativamente prótons para dentro do lisossoma. O citosol e outros compartimentos celulares têm um pH mais próximo a 7,2 e estão, portanto, protegidos de hidrolases que escapem.

B. Endocitose, Fagocitose e Autofagia

Os lisossomas são formados por vesículas digestivas chamadas de endossomas, os quais estão envolvidos na endocitose mediada por receptor. Eles também participam na digestão de células estranhas adquiridas por meio de fagocitose e digestão de conteúdos internos no processo de autofagocitose.

1. ENDOCITOSE MEDIADA POR RECEPTOR

Os lisossomas estão envolvidos na digestão de compostos levados para dentro da célula nas vesículas endocíticas cobertas por clatrina formadas pela membrana plasmática (Figura 10.16). Essas vesículas se fundem para formar corpos multivesiculares chamados de endossomas precoces. Os endossomas precoces amadurecem em endossomas



Doenças lisossômicas de depósito. Defeitos genéticos nas enzimas lisossomais ou em proteínas, como os receptores da manose-6-fosfato, necessárias para o direcionamento das enzimas para o lisossoma levam ao acúmulo anormal de material não-digerido nos lisossomas que pode ser convertido em corpos residuais. O acúmulo pode ser tão extenso que a função celular normal é comprometida, particularmente em células neuronais. Doenças genéticas como a doença de Tay-Sachs (um acúmulo de gangliosídeos parcialmente digeridos nos lisossomas) e a doença de Pompe (um acúmulo de partículas de glicogênio nos lisossomas) são causadas pela ausência ou deficiência de enzimas lisossomais específicas.

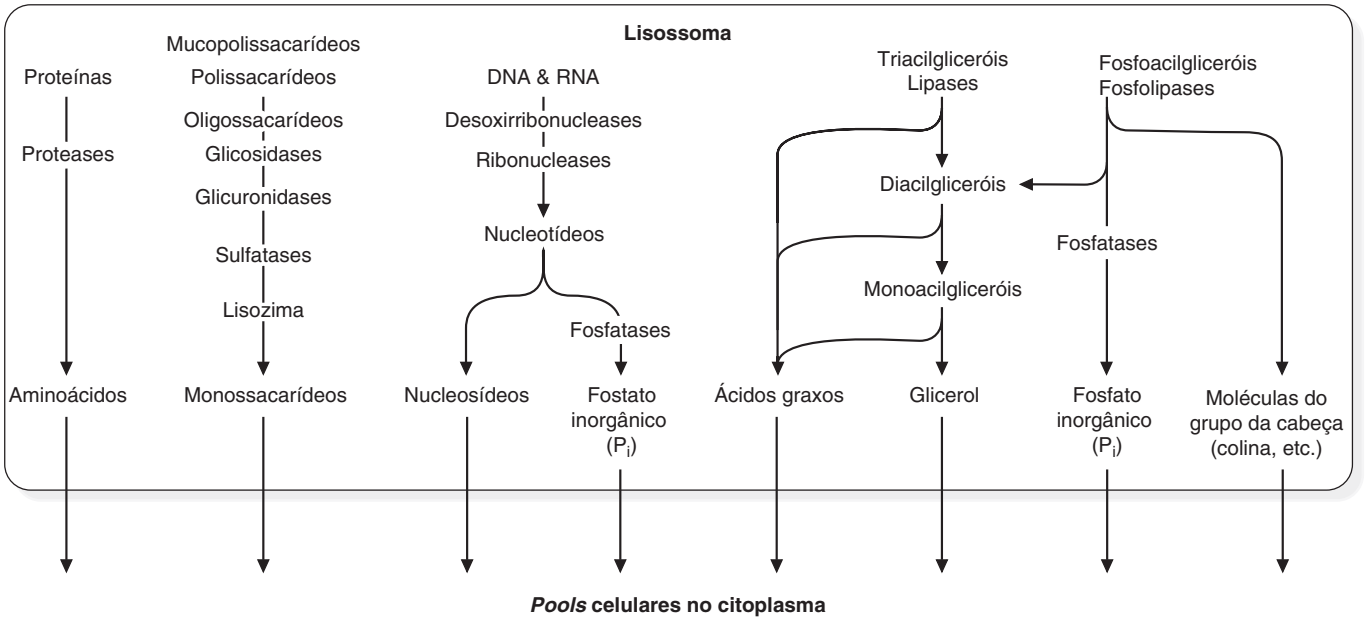


Figura 10.15 Reações lisossomais. As enzimas lisossomais em sua maioria são hidrolases, as quais quebram ligações peptídicas, éster e glicosídicas pela adição de componentes da água na ligação. Essas enzimas são ativas no pH ácido do lisossoma e inativas se acidentalmente liberadas no citosol.

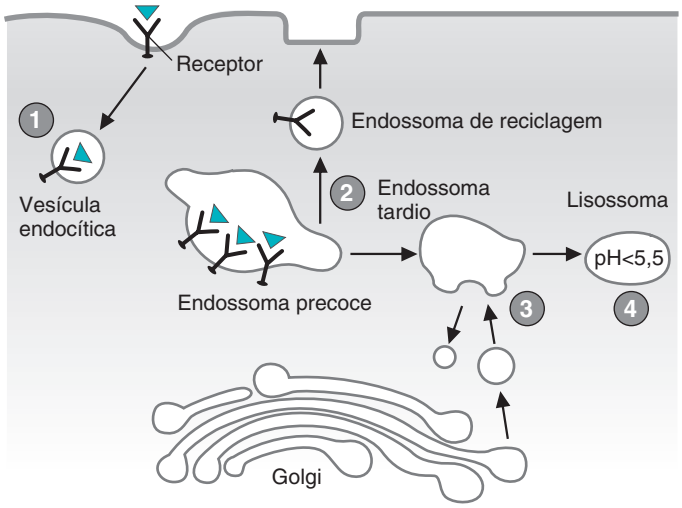


Figura 10.16 Lisossomas em endocitose mediada por receptor via invaginações cobertas por clatrina. **1.** As vesículas endocíticas se fundem para formar endossomas precoces. **2.** O conteúdo vesicular é separado, e receptores, clatrina e lipídeos são devolvidos para a membrana plasmática. **3.** As vesículas de transporte do Golgi *trans* levam as hidrolases lisossomais ao endossoma tardio. **4.** Os lisossomas contendo hidrolases concentradas digerem proteínas e outros componentes adquiridos das vesículas endocíticas.

Os níveis elevados de ácido úrico no sangue de **Lotta Topaigne** levaram à deposição de cristais de urato de monossódio no espaço articular (líquido sinovial) de seu dedão do pé direito, resultando em podagra (dedão do pé doloroso). Os neutrófilos, os mediadores da inflamação aguda que surgiram, tentaram fagocitar os cristais de urato. Os cristais engolfados foram depositados em endossomas tardios e lisossomas do neutrófilo. Como os cristais de urato são partículas que não podem ser degradadas por qualquer hidrolase ácida lisossomal, seu acúmulo causou a lise de membranas lisossomais, seguida pela lise da célula e liberação das enzimas lisossomais no espaço articular. Os cristais de urato também causaram a liberação de mediadores químicos de inflamação, que recrutaram outras células para a área. Isso ampliou ainda mais a reação inflamatória aguda nos tecidos da cápsula articular (sinovite), levando ao edema extremamente doloroso da artrite gotosa aguda.

tardios à medida que reciclam clatrina, lipídeos e outros componentes da membrana de volta à membrana plasmática nas vesículas chamadas de endossomas de reciclagem. Os endossomas tardios amadurecem a lisossomas à medida que progressivamente acumulam hidrolases ácidas recém-sintetizadas, e bombas de prótons vesiculares são levadas para eles em vesículas cobertas por clatrina a partir do Golgi. Assim, os lisossomas não adquirem sua força digestiva completa até após a separação de lipídeos de membrana e proteínas para reciclagem.

Dentro do Golgi, as enzimas são direcionadas para os endossomas (e finalmente lisossomas) pela adição de resíduos de manose-6-fosfato que se ligam a proteínas receptoras de manose-6-fosfato na membrana do Golgi. Os receptores de manose-6-fosfato, juntamente com suas hidrolases ácidas associadas, são incorporados nas vesículas de transporte do Golgi cobertas por clatrina e liberados. As vesículas de transporte liberam sua capa de clatrina e, então, fundem-se com a membrana dos endossomas tardios. A acidez dos endossomas libera as hidrolases ácidas dos receptores para dentro do lúmen da vesícula. Os receptores são finalmente reciclados de volta para o Golgi.

2. FAGOCITOSE E AUTOFAGIA

A fagocitose e a autofagia fazem parte da renovação normal dos componentes corporais, como a degradação de células que têm um tempo de vida menor do que o organismo como um todo e o remodelamento de tecidos durante a gestação. Por exemplo, os fagócitos, localizados principalmente no baço e no fígado, removem aproximadamente 3×10^{11} células sangüíneas vermelhas da circulação a cada dia. Durante a gestação, o tecido mamário é remodelado para desenvolver a capacidade de lactação; após o desmame, a mama lactente retorna ao seu estado original (involução).

Um dos maiores papéis dos lisossomas é a fagocitose (Figura 10.17). Os neutrófilos e os macrófagos, as principais células fagocíticas, devoram microrganismos patogênicos e limpam restos de feridas e células mortas, auxiliando, assim, no reparo. À medida que bactérias e outras partículas são englobadas em invaginações cobertas por clatrina na membrana plasmática, essas vesículas protuberam para formar fagossomas intracelulares. Os fagossomas se fundem com os lisossomas, onde a acidez e as enzimas digestivas destroem os conteúdos. As vesículas pinocíticas também podem se fundir com os lisossomas.

Na autofagia (autodevoração), componentes intracelulares, como organelas ou partículas de glicogênio, são circundados por uma membrana derivada de vesículas do RE, formando um autofagossoma. O autofagossoma se funde com um lisossoma, e os conteúdos do fagolisossoma são digeridos por enzimas lisossomais. As organelas em geral se renovam muito mais rapidamente do que as células nas quais elas residem (p.

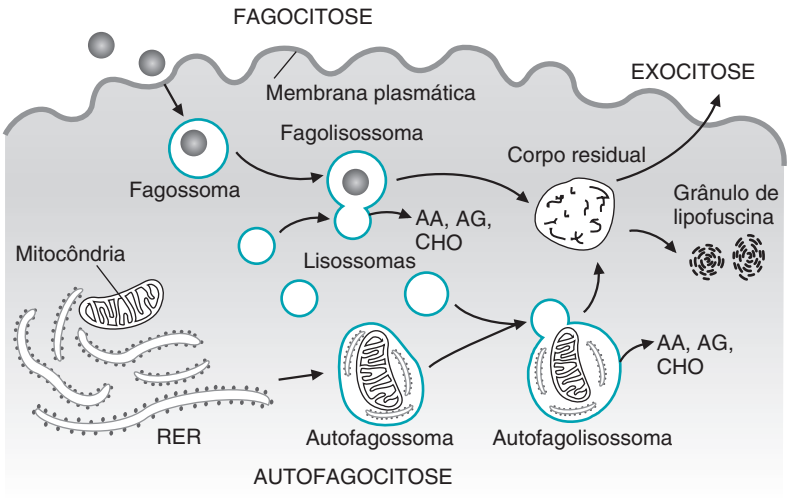


Figura 10.17 Fagocitose e autofagia. Células e partículas grandes são fagocitadas. Os fagossomas se fundem com lisossomas para formar fagolisossomas. Os aminoácidos (AA), ácidos graxos (AG) e carboidratos (CHO) recicláveis são liberados no citosol. Os autofagossomas são formados no RER à medida que a célula digere mitocôndria e suas próprias partículas grandes. Eles também se fundem com os lisossomas. O material não-digerido permanece nos lisossomas para formar corpos residuais, os quais são expulsos ou permanecem na célula como grânulos de lipofuscina.

ex., cerca de quatro mitocôndrias em cada célula hepática são degradadas por hora). Células que estão lesadas, mas ainda viáveis, recuperam-se em parte pelo uso de autofagia para eliminar componentes lesados.

Se uma quantidade significativa de material não-digerido permanece dentro do lisossoma após o processo de digestão estar completo, o lisossoma é chamado de corpo residual. Dependendo do tipo celular, os corpos residuais podem ser expelidos (exocitose) ou permanecer indefinidamente na célula como grânulos de lipofuscina que se acumulam com a idade.

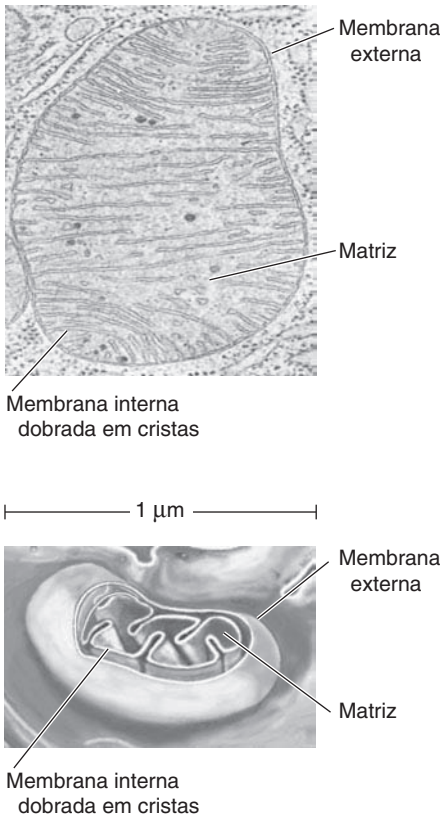


Figura 10.18 Mitocôndria. Eletromicrografia (superior); desenho tridimensional (inferior).

IV. MITOCÔNDRIA

As mitocôndrias contêm a maioria das enzimas para as rotas de oxidação de substratos energéticos e fosforilação oxidativa e, assim, geram a maioria do ATP necessário para as células de mamíferos. Cada mitocôndria é circundada por duas membranas: uma membrana externa e uma membrana interna separando a matriz mitocondrial do citosol (Figura 10.18). A membrana interna forma invaginações conhecidas como cristas contendo a cadeia de transporte de elétrons e a ATP-sintase. A maioria das enzimas para o ciclo do TCA e outras rotas para oxidação estão localizadas na matriz mitocondrial, o compartimento envolvido pela membrana mitocondrial interna. (O ciclo do TCA e a cadeia de transporte de elétrons estão descritos em mais detalhes nos Capítulos 20 e 21.)

A membrana interna da mitocôndria é altamente impermeável, e o gradiente de prótons que é formado por essa membrana durante a fosforilação oxidativa é essencial para a formação de ATP a partir de ADP e fosfato. O transporte de íons ocorre principalmente por transportadores facilitados em um tipo de transporte ativo secundário mantido pelo gradiente de prótons estabelecido pela cadeia de transporte de elétrons. A membrana externa contém poros constituídos por proteínas chamadas de porinas e é permeável a moléculas com um peso molecular de cerca de 1.000 g/mol.

As mitocôndrias podem se replicar por divisão; contudo, a maioria de suas proteínas deve ser importada do citosol. As mitocôndrias contêm uma pequena quantidade de DNA, a qual codifica apenas 13 diferentes subunidades de proteínas envolvidas na



Doenças mitocondriais. As mitocôndrias contêm DNA e podem se reproduzir replicando seu DNA e, então, dividindo-se ao meio. Embora o DNA nuclear codifique a maioria das enzimas encontradas nas mitocôndrias, o DNA mitocondrial codifica algumas das subunidades das proteínas da cadeia de transporte de elétrons e ATP-sintase. Mutações no DNA mitocondrial resultam em um grande número de doenças genéticas que afetam o músculo esquelético e os tecidos neuronal e renal. Elas estão relacionadas com o envelhecimento.

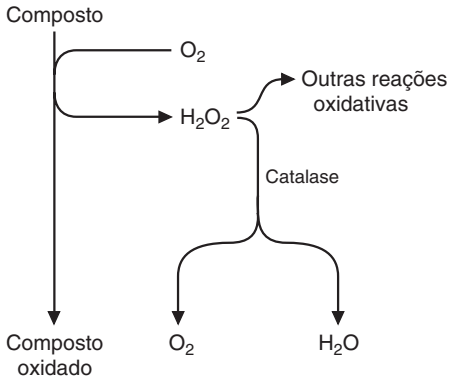


Figura 10.19 Tipos de reações nos peroxissomas.

fosforilação oxidativa. A maioria das enzimas e proteínas na mitocôndria é codificada por DNA nuclear e sintetizada nos ribossomos citoplasmáticos. Elas são importadas através de poros da membrana por um processo mediado por receptor envolvendo membros da família das proteínas de choque térmico (*heat shock proteins*).

V. PEROXISSOMAS

Os peroxissomas são organelas citoplasmáticas, similares em tamanho aos lisossomas, que estão envolvidas em reações oxidativas utilizando oxigênio molecular (Figura 10.19). Essas reações produzem o produto químico tóxico peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o qual é subseqüentemente utilizado ou degradado dentro do peroxissoma pela catalase e outras enzimas. Os peroxissomas têm função na oxidação de ácidos graxos de cadeia muito longa (contendo 20 ou mais carbonos) em ácidos graxos de cadeia mais curta, na conversão de colesterol a ácidos biliares e na síntese de éteres de lipídeos chamados de plasmalogênios. Eles são delimitados por uma única membrana.

Como as mitocôndrias, os peroxissomas podem se replicar por divisão. Contudo, eles são dependentes da importação de proteínas para exercer suas funções. Eles não contêm DNA.

Doenças peroxissomais. As doenças peroxissomais são causadas por mutações afetando a síntese de enzimas peroxissomais normais ou sua incorporação aos peroxissomas. Por exemplo, a adrenoleucodistrofia provavelmente envolve uma mutação que diminui a quantidade de um transportador na membrana peroxissomal. A síndrome de Zellweger é causada pela falha em completar a síntese de peroxissomas.

VI. NÚCLEO

A maior das organelas subcelulares das células animais é o núcleo (Figura 10.20). A maioria do material genético da célula está localizada nos cromossomos do núcleo, os

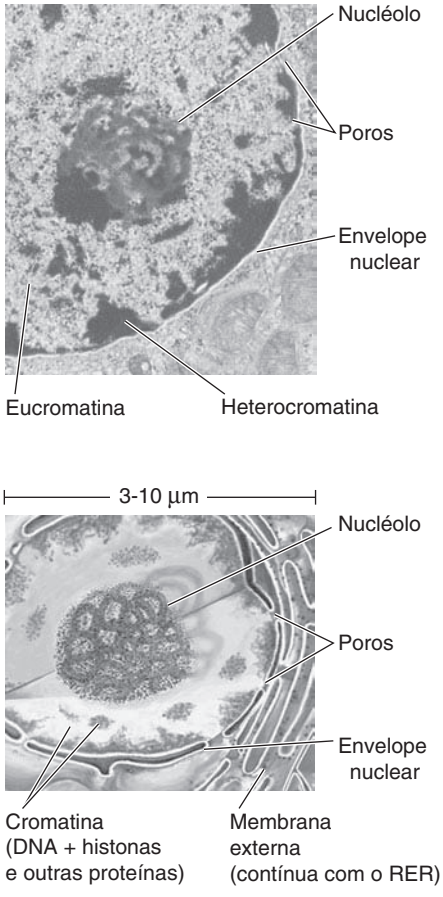


Figura 10.20 Núcleo. Eletromicrografia (superior); desenho tridimensional (inferior).

quais são compostos de DNA, uma quantidade igual de pequenas proteínas positivamente carregadas chamadas de histonas e uma quantidade variável de outras proteínas. Esse complexo de nucleoproteínas é chamado de cromatina. O nucléolo, uma subestrutura do núcleo, é o local de transcrição e processamento do rRNA e da montagem dos ribossomos. Replicação, transcrição, tradução e regulação desses processos é o foco principal da seção de biologia molecular deste texto (ver Parte Três).

O núcleo é separado do resto da célula (o citoplasma) pelo envelope nuclear, o qual consiste em duas membranas unidas nos poros nucleares. A membrana nuclear externa é contínua com o retículo endoplasmático rugoso. Para converter o código genético do DNA na seqüência primária de uma proteína, o DNA é transcrito em RNA, o qual é modificado e editado em mRNA. O mRNA passa através dos poros nucleares para o citoplasma, onde é traduzido na seqüência primária de uma proteína nos ribossomos (Figura 10.21). Os ribossomos, os quais são formados no nucléolo, também devem passar através dos poros nucleares para o citoplasma. Inversamente, as proteínas necessárias para replicação, transcrição e outros processos passam para o núcleo através desses poros. Assim, o transporte através do poro é específico para a molécula e para a direção do transporte.

A especificidade e a direção de passagem através dos poros nucleares (importação *versus*. exportação) são determinadas por proteínas de ligação (importinas *versus* exportinas), por uma pequena proteína GTP chamada de Ran e pela localização da proteína regulatória, RanGAP (proteína de ativação da GTPase) apenas no lado citoplasmático (Figura 10.22). As proteínas transportadas para o núcleo têm um sinal de localização nuclear que as leva a se ligarem a uma das subunidades das proteínas citosólicas chamadas de importinas. A outra subunidade da molécula de importina se liga a filamentos citoplasmáticos ligados ao anel externo do poro nuclear. À medida que o complexo importina-proteína entra no núcleo, a pequena proteína de ligação de GTP Ran se liga a uma subunidade de importina, causando a liberação da proteína transportada dentro do núcleo. O complexo Ran-importina retorna ao citosol, onde RanGAP ativa a hidrólise do GTP ligado a GDP e fosfato. A energia liberada pela hidrólise do GTP altera a conformação da Ran, e o complexo se dissocia. A importina livre pode, então, ligar-se a outra proteína.

Tabela 10.1 Proteínas G Monoméricas na Superfamília Ras

Família de Proteína G	Função	Alguns Membros da Família	Localização e Sítio de Ligação na Membrana
Ras	Regulador da expressão gênica e do crescimento celular, encontrado em formas mutadas oncogênicas em muitos tumores humanos	H-Ras, K-Ras, N-Ras, Ral A, Rad, Rap, Rit	Ancorada à membrana plasmática por farnesil, palmitoil ou outros grupos de lipídeos
Rho	Controla a organização do citoesqueleto de actina e a expressão gênica (formação dos feixes de actina F, montagem dos filamentos de miosina)	Rho (A-E), Cdc42, Rac (1-3)	Ancorada à membrana plasmática por lipídeos e transloca para o citosol
Arf/Sar	Montagem das vesículas cobertas com *coatomers* (COP I e COP II) para as rotas de tráfego vesicular no Golgi	Arf (1-6), Sar 1a, 1b; Arl (1-7)	Arf é ancorada às membranas vesiculares por grupos miristil, mas Sar é ancorada pela própria proteína
Rab	Direciona as vesículas envolvidas nas rotas secretoras e endocíticas e forma complexos v-SNARE-t-SNARE	Dinamina, Rab (11-33)	Ancorada às membranas lipídicas com grupos geranil-geranil (isoprenóide C20) e outros lipídeos
Ran	Transporte através dos complexos de poros nucleares	Ran	Não é ancorada às membranas lipídicas e é encontrada no citosol e no núcleo



A família Ras de proteínas G monoméricas. Ras e Ran pertencem a uma superfamília de proteínas chamadas de proteínas G pequenas (também chamadas de proteínas de ligação de GTP pequenas, GTPases pequenas ou proteínas G monoméricas; ver Capítulo 9, Seção III. C.2). Essas proteínas agem como reguladoras de tempo para uma variedade de funções celulares. Elas são referidas como "pequenas", pois são compostas de uma única subunidade com um peso de 20 a 40 kDa, e são chamadas de GTPases, pois hidrolisam lentamente GTP ligado. Quando proteínas pequenas G contêm GTP ligado, elas se ligam e ativam suas proteínas-alvo. À medida que seus GTPs ligados são hidrolisados a GDP e Pi, suas conformações se alteram drasticamente, e elas se dissociam da proteína-alvo. Elas atuam, assim, como "relógios automáticos" que se desligam. Muitas das proteínas monoméricas ligadoras de GTP são reguladas por GAP (proteínas ativadoras de GTPase), GEF (proteínas trocadoras de GTP, as quais estimulam a dissociação de GDP e a ligação de GTP) ou GDI (proteínas inibidoras da dissociação de GDP). (Ver Capítulo 9 para uma discussão mais completa sobre esses reguladores.) A função de cada uma das cinco principais classes de proteínas G monoméricas Ras em biologia celular está resumida na Tabela 10.1.

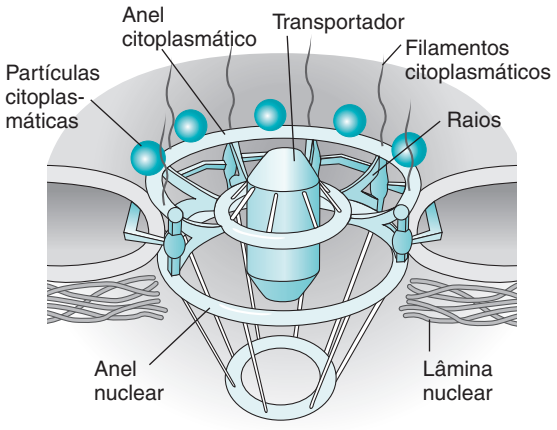


Figura 10.21 O complexo de poros nucleares. As aproximadamente 100 cadeias polipeptídicas diferentes do complexo de poro nuclear formam uma montagem de 8 raios ligados a duas estruturas em anel (um anel citoplasmático na membrana nuclear externa e um anel nuclear através da membrana interna) com um transportador *plug* no centro. Pequenas moléculas, íons e proteínas com massa menor de 50 kDa se difundem passivamente através do poro nas duas direções. Contudo, RNA e a maioria das proteínas são grandes demais para difundir através dele e são transportados ativamente em um processo que necessita de energia, é seletivo para a molécula transportada, é unidirecional e pode ser regulado.

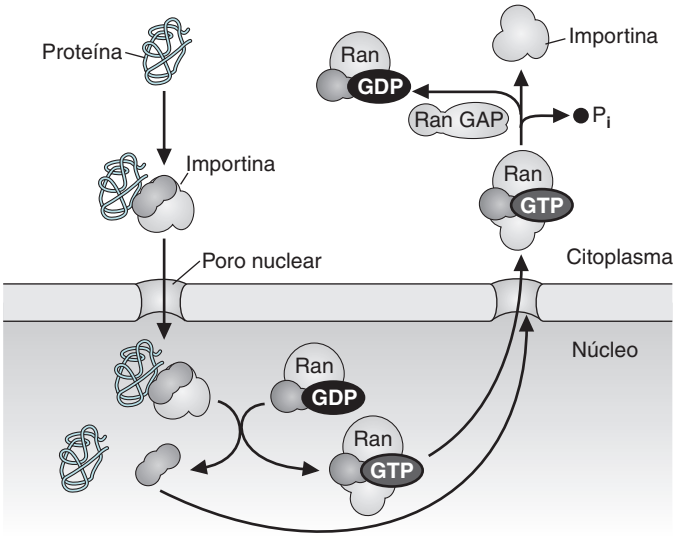


Figura 10.22 Importação nuclear. Proteínas com sinal de localização nuclear se ligam a importinas, as quais as carregam através do poro nuclear para o núcleo. A proteína G monomérica Ran contendo GTP ligado se liga a uma das subunidades da importina. Isso causa a dissociação das subunidades de importina e a liberação da proteína importada no núcleo. O complexo Ran-importina sai por um poro nuclear. No lado citoplasmático, uma RanGAP (proteína ativadora de GTPase) ativa a hidrólise de GTP a GDP, a qual causa dissociação do complexo. A RanGDP é subseqüentemente levada de volta para o núcleo, onde uma proteína acessória ativa a dissociação do GDP e a associação do GTP.

Os RNAs são transportados do núcleo para o citoplasma como ribonucleoproteínas, as quais são direcionadas para a exportação por uma seqüência específica de aminoácidos chamada de sinal de exportação nuclear. A nucleoproteína forma um complexo com proteínas adicionais chamadas de exportinas e com a Ran. Esse complexo é transportado através do poro para o citoplasma, onde a RanGAP ativa a hidrólise do GTP ligado. Na ausência de GTP, o complexo se dissocia com a liberação do RNA para o citoplasma, e as exportinas e a Ran são transportadas de volta para o núcleo.

VII. RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO

O retículo endoplasmático (RE) é uma rede de túbulos membranosos dentro da célula consistindo em retículo endoplasmático liso (REL), o qual não tem ribossomos, e retículo endoplasmático rugoso (RER), o qual é salpicado de ribossomos (Figura 10.23). O REL tem um grande número de funções. Ele contém enzimas para a síntese de muitos lipídeos, como triacilgliceróis e fosfolipídeos. Ele também contém as enzimas oxidativas citocromo P450 envolvidas no metabolismo de fármacos e produtos químicos tóxicos, como o etanol, e a síntese de moléculas hidrofóbicas, como os hormônios esteróides. O glicogênio é armazenado em regiões das células do fígado que são ricas em REL.

O RER está envolvido na síntese de certas proteínas. Os ribossomos ligados às membranas do RER dão sua aparência "rugosa". As proteínas produzidas nesses ribossomos entram para o lúmen do RER, passam para o complexo de Golgi em vesículas e são subseqüentemente secretadas pela célula, seqüestradas dentro de organelas envolvidas por membranas, como os lisossomas, ou inseridas na membrana plasmática. Modificações pós-traducionais dessas proteínas, como a iniciação de glicosilação ligada ao N e a adição de âncoras GPI, ocorrem no RER. Ao contrário, as proteínas codificadas pelo núcleo e encontradas no citosol, peroxissomas ou mitocôndrias são sintetizadas nos ribossomos livres no citosol e raramente são modificadas pela ligação de oligossacarídeos.

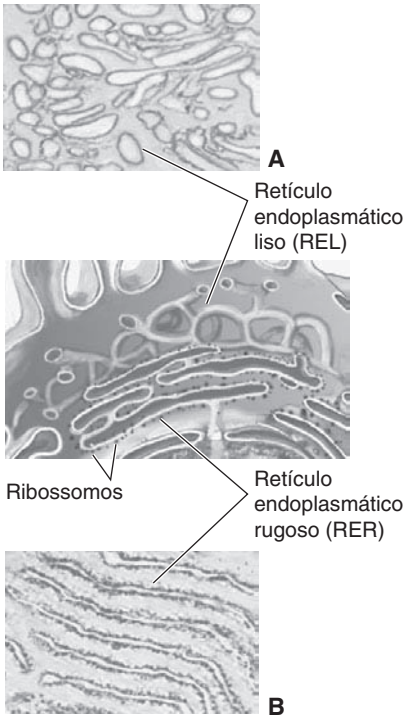


Figura 10.23 **A.** Retículo endoplasmático liso. **B.** Retículo endoplasmático rugoso. A e B são eletromicrografias. Um desenho tridimensional está no meio.



A ingestão crônica de etanol aumentou o conteúdo de MEOS, o sistema microssomal de oxidação do etanol, no fígado de **Al Martini**. O MEOS é uma enzima citocromo P450 que catalisa a conversão de etanol, NADPH e O_2 a acetaldeído, $NADP^+$ e 2 H_2O (ver Capítulo 9). O adjetivo *microssomal* é um termo derivado da biologia celular experimental que algumas vezes é utilizado para processos que ocorrem no RE. Quando células são rompidas em laboratório, o RE é fragmentado em vesículas chamadas de *microssomas,* as quais podem ser isoladas por centrifugação. Microssomas, como tais, não estão realmente presentes nas células.

VIII. COMPLEXO DE GOLGI

O complexo de Golgi está envolvido na modificação de proteínas produzidas no RER e na separação e na distribuição dessas proteínas para os lisossomas, as vesículas secretoras ou a membrana plasmática. Ele consiste em um empilhamento curvo de vesículas achatadas no citoplasma que em geral é dividido em três compartimentos: a rede Golgi *cis*, a qual com freqüência é convexa e virada para o núcleo; a pilha Golgi *medial*, e a rede Golgi *trans*, a qual freqüentemente está virada para a membrana plasmática (Figura 10.24).

As proteínas são transportadas para o Golgi e a partir dele em pelo menos três tipos de vesículas: vesículas COP I cobertas por *coatomer* ("encapadora"), vesículas COP II cobertas por *coatomer* e vesículas cobertas por clatrina (ver Figura 10.24). As proteínas produzidas no RER passam em vesículas COP II para o compartimento intermediário do retículo endoplasmático-Golgi (CIREG) e, então, para a rede Golgi *cis*, onde elas passam para o lúmen. No lúmen, as cadeias de oligossacarídeos ligados ao N que foram adicionadas a proteínas no RER são modificadas, e oligossacarídeos ligados ao O são adicionados. As vesículas COP I reciclam material do Golgi de volta para o RE e possivelmente transferem material do Golgi para outros locais.

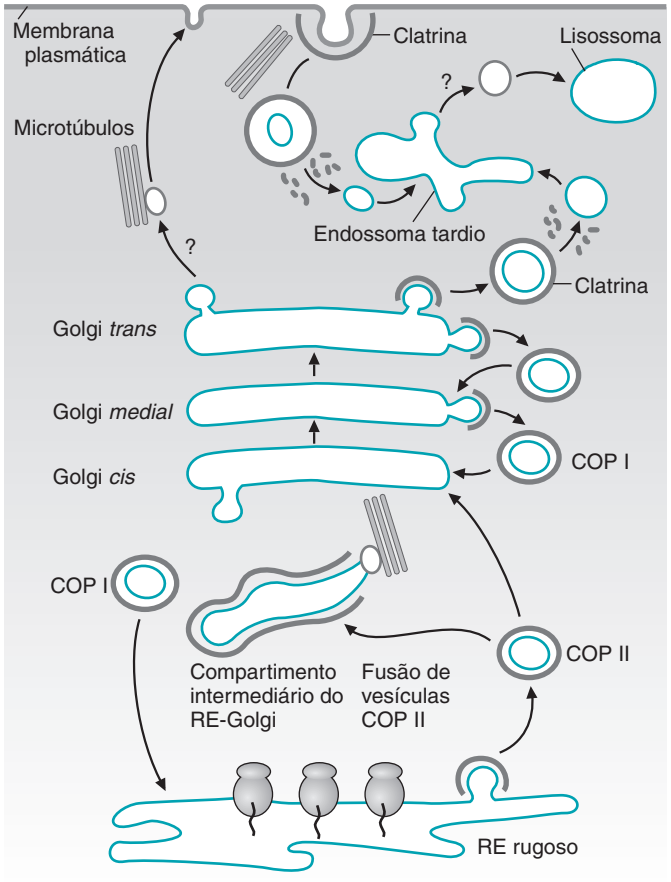


Figura 10.24 Transporte vesicular para o complexo de Golgi e a partir dele. As vesículas COP II (cobertas por *coatomer*) se formam no RE rugoso e se movem para o Golgi. As vesículas COP I em geral vão do Golgi *trans* para o *cis* e para o RE. As vesículas que vão para os endossomas tardios (e depois lisossomas) do Golgi ou da membrana plasmática são cobertas por clatrina. Menos é conhecido sobre as vesículas exocíticas. O transporte vesicular, bem como o transporte de organelas e proteínas secretoras, ocorre ao longo de microtúbulos (estruturas formadas a partir da proteína tubulina).

As vesículas liberadas da face *trans* do complexo de Golgi passam para os endossomas como vesículas cobertas por clatrina.

As vesículas COP são cobertas por um complexo composto de proteínas *coatomer* (COP), uma proteína G monomérica da família Arf que medeia a montagem da vesícula e outras proteínas (Figura 10.25). As vesículas COP I contêm a proteína G monomérica Arf (fator de ADP-ribosilação, do inglês *ADP-ribosylating factor*), e vesículas COP II contêm a proteína G monomérica Sar (um outro membro da família Arf). Em ambos os tipos de vesículas, a hidrólise de GTP causa a dissociação da proteína G e a desmontagem da cobertura da vesícula. Os componentes da vesícula são, então, reciclados. Glicoproteínas ou glicolipídeos uma vez ancorados na membrana da vesícula permanecem na membrana plasmática quando as membranas vesicular e plasmática se fundem.

As vesículas que perderam suas coberturas estão prontas para se fundirem com a membrana-alvo. As membranas das vesículas contêm proteínas chamadas de v-SNARES (SNARES-vesícular, do inglês *vesicle-SNARES*) (ver Figura 10.25). Cada tipo de v-SNARE é capaz de reconhecer e ligar-se à sua t-SNARE complementar (SNARE-alvo, do inglês *target-SNARE*) na membrana-alvo, garantindo, assim, que os conteúdos

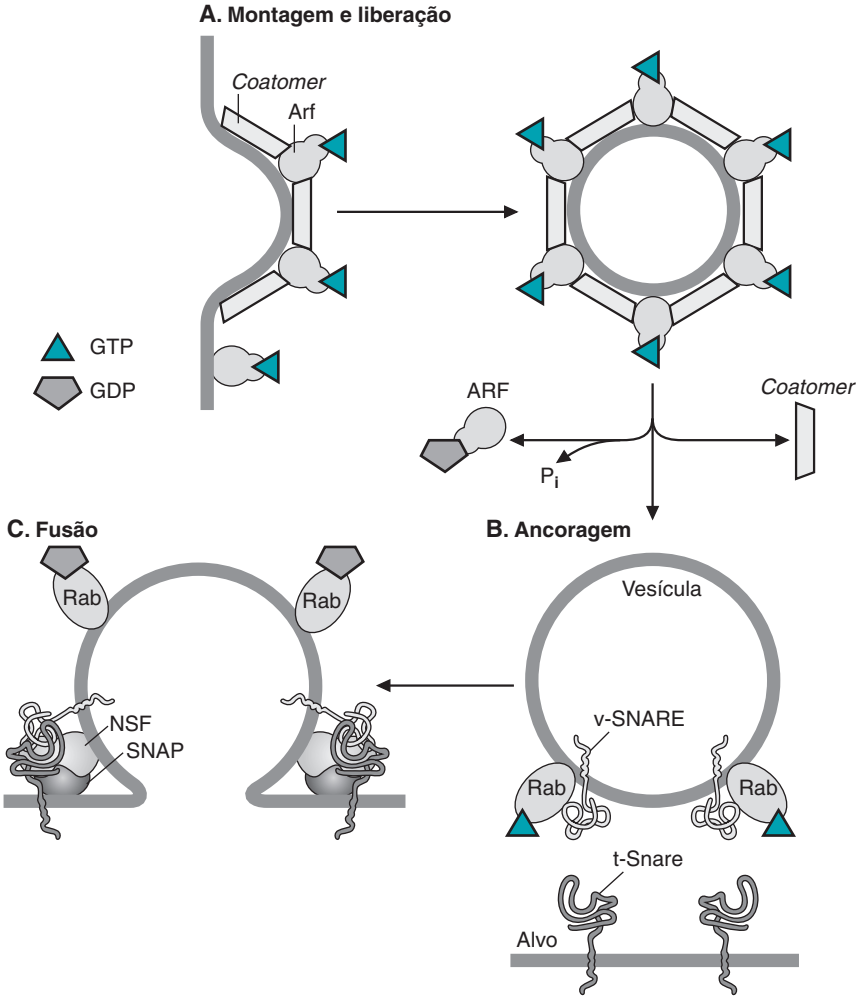


Figura 10.25 Transporte em vesículas cobertas por COP. **A.** Montagem e liberação. A Arf com GTP ligado monta uma região da membrana Golgi *trans* contendo receptores para a proteína a ser carregada e *coatomers*. À medida que o GTP é hidrolisado a GDP, a cobertura é liberada. **B.** Ancoragem. A proteína G pequena Rab auxilia na ancoragem. As v-SNARES na membrana da vesícula reconhecem as t-SNARES complementares na membrana-alvo. **C.** Fusão. NSF e SNAP são proteínas de fusão.



A proteína G monomérica Arf recebeu esse nome por sua contribuição para a patogênese do cólera e não por sua função normal na formação das vesículas COP I. Contudo, ela também é necessária para o transporte da toxina A do *V. cholerae*. A toxina do cólera é endocitada em vesículas caveolares que subseqüentemente se fundem com os lisossomas (ou são transformadas em lisossomas), onde o pH ácido contribui para a ativação da toxina. À medida que a toxina é transportada através do Golgi e do RE, ela é, ainda, processada e ativada. A Arf forma um complexo com a toxina A que promove sua passagem entre os compartimentos. A toxina A é na verdade uma ADP-ribosilase (uma enzima que quebra o NAD e liga a porção ADP a uma proteína) (ver Capítulo 6, Figura 6.14), e, assim, a Arf se tornou conhecida como o fator de ADP-ribosilação. A ADP-ribosilação de proteínas regulando os canais CFTR de cloreto causou a desidratação e a diarréia de **Dennis Veere**.

da vesícula sejam enviados para o local certo. Diversas proteínas adicionais são necessárias para a fusão da vesícula com a membrana-alvo, incluindo Rab (uma outra proteína G monomérica) e duas proteínas adicionais chamadas de SNAP (proteínas de ligação de NSF solúveis, do inglês *soluble NSF attachment proteins*) e NSF (fator sensível à N-etilmaleimida, do inglês *N-ethylmaleimide sensitive factor*).

As vesículas exocíticas liberam proteínas no espaço extracelular após a fusão das membranas vesicular e plasmática celular. As vesículas exocíticas contendo hormônios também contêm proteases que clivam o pró-hormônio em um local específico e *v*-ATPases que acidificam a vesícula e ativam a protease (similar aos lisossomas).



Vesículas secretoras. O hormônio insulina é sintetizado como um pró-hormônio, a pró-insulina, o qual é incorporado em vesículas secretoras. Essas vesículas contêm uma protease que é ativada pelo pH ácido da vesícula secretora. Ela quebra a pró-insulina nas cadeias A, B e C (ver Figura 6.13).

IX. CITOESQUELETO

A estrutura da célula, a forma da superfície celular e a distribuição das organelas subcelulares são organizadas por três componentes protéicos principais: microtúbulos compostos de tubulina, os quais movem e posicionam organelas e vesículas; filamentos finos compostos de actina, os quais formam um citoesqueleto, e filamentos intermediários compostos por diferentes proteínas fibrosas. A actina e a tubulina, as quais estão envolvidas no movimento celular, são estruturas dinâmicas compostas de subunidades globulares que continuamente se associam e dissociam. Os filamentos intermediários, os quais têm um papel estrutural, são compostos de proteínas fibrosas estáveis que são renovadas mais lentamente.

A. Microtúbulos

Os microtúbulos, tubos cilíndricos compostos de subunidades de tubulina, estão presentes em todas as células nucleadas e nas plaquetas no sangue (Figura 10.26). Elas são responsáveis pelo posicionamento de organelas no citoplasma celular e pelo movimento de vesículas, incluindo vesículas fagocíticas, vesículas exocíticas e vesículas de transporte entre o RE, o Golgi e os endossomas (ver Figura 10.24). Elas também formam o fuso para a divisão celular. A rede de microtúbulos (a extremidade *menos*) inicia no núcleo no centríolo e se estende para fora em direção à membrana plasmática (em geral a extremidade *mais*). As proteínas associadas aos microtúbulos (MAPs, do inglês *microtubule-associated proteins*) unem os microtúbulos a outros componentes celulares e podem determinar a forma celular e a polaridade.



Lotta Topaigne recebeu colchicina, um fármaco que com freqüência é utilizado para tratar gota. Uma de suas ações é prevenir a atividade fagocítica pela ligação a dímeros das subunidades α e β da tubulina. Quando o complexo dímero de tubulina-colchicina se liga aos microtúbulos, a polimerização posterior dos microtúbulos é inibida, a despolimerização predomina, e os microtúbulos se desmontam. Os microtúbulos são necessários para o movimento tubular dos cristais de urato durante a fagocitose e a liberação de mediadores que ativam a resposta inflamatória. Assim, a colchicina diminui a resposta inflamatória, o edema e a dor causados pela formação de cristais de urato.

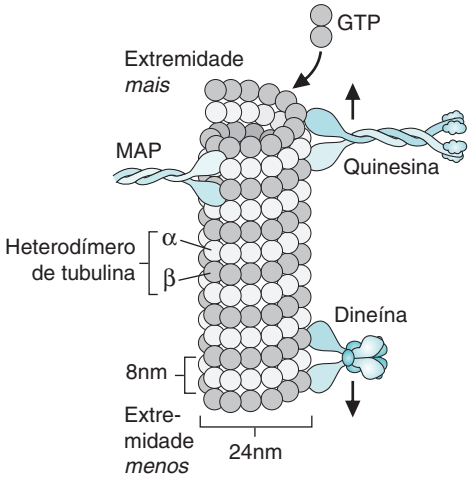


Figura 10.26 Microtúbulos compostos de heterodímeros αβ de tubulina. MAP, proteína associada a microtúbulos. Essas proteínas se projetam para fora para unir os microtúbulos a outros componentes celulares. O microtúbulo cresce por adição de dímeros αβ contendo GTP ligado à extremidade *mais* do polímero. Quinesina e dineínas são proteínas motoras que transportam cargas (p. ex., vesículas) ao longo do microtúbulo.

Proteínas motoras chamadas de quinesinas e dineínas citoplasmáticas utilizam energia do ATP para mover cargas ao longo dos microtúbulos. As quinesinas movem moléculas, vesículas e organelas em direção à extremidade *mais* dos microtúbulos, em geral em direção à membrana plasmática. As dineínas citoplasmáticas são proteínas grandes que movem vesículas e organelas para a extremidade *menos*, em geral em direção ao núcleo. Elas também estão envolvidas no posicionamento do complexo de Golgi e no movimento dos cromossomos durante a mitose.

Os microtúbulos consistem em arranjos polimerizados de dímeros de tubulina α e β que formam 13 protofilamentos organizados em torno de um núcleo oco (ver Figura 10.26). Três diferentes polipeptídeos de tubulina (α, β e γ) de composição de aminoácidos similar são codificados por genes relacionados; os dímeros α e β polimerizam para formar a maioria dos microtúbulos, e a γ-tubulina é encontrada apenas no centrossoma. Os dímeros de tubulina compostos de uma subunidade α e uma β ligam GTP, o qual cria uma alteração conformacional no dímero que favorece a adição de dímeros ao polímero de tubulina. Os dímeros podem ser adicionados ou dissociados em ambas as extremidades da tubulina, mas a extremidade à qual eles são adicionados mais rapidamente (a extremidade *mais*) tem uma taxa líquida de crescimento, e a extremidade à qual eles são adicionados mais lentamente (a extremidade *menos*) tem uma taxa líquida de perda. À medida que o GTP é hidrolisado a GDP, a ligação das subunidades de tubulina é enfraquecida, resultando em sua dissociação (instabilidade dinâmica). Assim, a taxa líquida e a direção de crescimento são determinadas pela extremidade de crescimento mais rápido do microtúbulo.

Uma variedade de células humanas tem cílios e flagelos, projeções semelhantes a pêlos da superfície que tem um movimento tipo golpes. Essas projeções contêm um grupo de microtúbulos flexíveis organizados. O fluido ou muco é empurrado sobre a superfície ciliada das células epiteliais pelo batimento coordenado dos cílios. Um espermatozóide nada por meio de um flagelo.

B. Filamentos de Actina

Os filamentos de actina formam uma rede controlando a forma da célula e o movimento da superfície celular, permitindo, assim, que células se movam, dividam, engolfem partículas e contraiam. A actina está presente em todas as células vivas. O polímero de actina, chamado de actina F, é composto por um arranjo helicoidal das subunidades de actina G globular (Figura 10.27). Dentro do polímero, cada subunidade de actina G

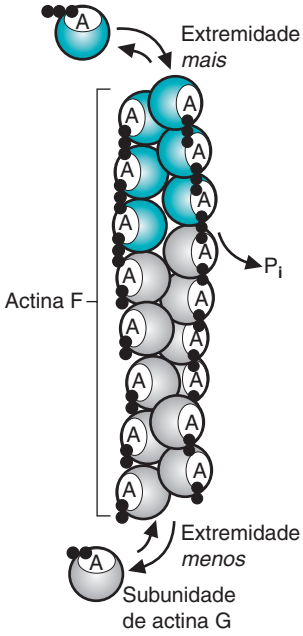


Figura 10.27 Filamentos de actina. O polímero de actina F é formado por subunidades de actina G contendo ATP ligado. Enquanto o ATP está ligado, ele é lentamente hidrolisado a ADP. A alteração conformacional desloca o equilíbrio de tal forma que a dissociação de subunidades de actina g é favorável na extremidade *menos* do polímero. Uma vez dissociadas, as subunidades de actina trocam ADP por ATP, o qual pode novamente se associar com o polímero de actina. Na extremidade *mais* da molécula, a associação é favorecida sobre a dissociação.

A colchicina tem um índice terapêutico estreito (ou seja, a quantidade de fármaco que produz o efeito terapêutico desejado não é muito mais baixa do que a quantidade que produz um efeito adverso). Seu efeito terapêutico depende da inibição da síntese de tubulina nos neutrófilos, mas ela também pode impedir a síntese de tubulina (e, assim, a divisão celular e outros processos celulares) em outras células. Felizmente, os neutrófilos concentram colchicina e, assim, são afetados com ingestões mais baixas do que outros tipos celulares. Os neutrófilos não têm a proteína de transporte glicoproteína P, um membro da família cassete ABC (a qual inclui o canal CFTR). Na maioria dos outros tipos celulares, a glicoproteína P exporta produtos químicos, como a colchicina, impedindo, assim, o seu acúmulo.

contém um ATP ou ADP ligados que mantém a dobra de actina em uma conformação fechada (ver Capítulo 7). O polímero de actina é dinâmico. Novas subunidades de actina G contendo ATP se combinam continuamente com o polímero de actina F formado na extremidade *mais*. À medida que a actina F se alonga, o ATP ligado é hidrolisado a ADP, de tal forma que a maioria do polímero contém subunidades ADP-actina G. A conformação de ADP-actina favorece a dissociação na extremidade *menos* do polímero; assim, o polímero é capaz de se alongar na extremidade *mais*. Esse crescimento direcional pode ser responsável por certos tipos de movimentos celulares e alterações de forma: a formação de pseudópodos que circundam outras células durante a fagocitose, a migração de células no embrião em desenvolvimento ou o movimento de células sangüíneas brancas através dos tecidos.

Os polímeros de actina formam filamentos finos (também chamados de microfilamentos) na célula que são organizados em feixes ordenados compactos ou arranjos de redes frouxas por proteínas de ligação cruzada. Os filamentos de actina curtos se ligam à proteína de ligação cruzada espectrina para formar a rede de esqueleto cortical de actina (ver Figura 10.6). Em células musculares, os filamentos longos de actina se combinam com os filamentos grossos, compostos pela proteína miosina, para produzir a contração muscular. A montagem de subunidades de actina G em polímeros, a formação de feixe de fibras e as ligações de actina à espectrina e a proteínas da membrana plasmática e organelas são mediadas por um grande número de proteínas ligadoras de actina e proteínas G da família Rho.

C. Filamentos Intermediários

Os filamentos intermediários (FIs) são compostos de polímeros de proteínas fibrosas que fornecem suporte estrutural às membranas das células e estrutura para a ligação de outros componentes celulares. Cada subunidade de FI é composta de um núcleo de hélice α longo semelhante a um cilindro contendo domínios de espaçamento globular e domínios globulares N- e C-terminais. Os segmentos de hélice α das duas subunidades se enrolam em torno um do outro para formar uma espiral trançada e, então, se combinam com outro dímero espiral para formar um tetrâmero. Dependendo do tipo de filamento, os dímeros podem ser hetero ou homodímeros. Os tetrâmeros se unem extremidade com extremidade para formar protofilamentos, e aproximadamente oito protofilamentos se combinam para formar filamentos (Figura 10.28). A montagem do filamento é parcialmente controlada por fosforilação.

Ao contrário dos filamentos finos de actina, os 50 ou mais tipos diferentes de filamentos intermediários são cada um compostos de uma proteína diferente tendo a mesma estrutura geral descrita anteriormente (Tabela 10.2). Alguns dos filamentos intermediários, como as lamininas nucleares, são comuns a todos os tipos de células. Esses filamentos fornecem uma rede de suporte tipo treliça ligada à membrana nuclear interna. Outros filamentos intermediários são específicos para tipos de células (p. ex., as células epiteliais têm citoqueratinas, e os neurônios têm neurofilamentos). Esses fornecem uma rede interna que auxilia a manter a forma e a elasticidade da célula.

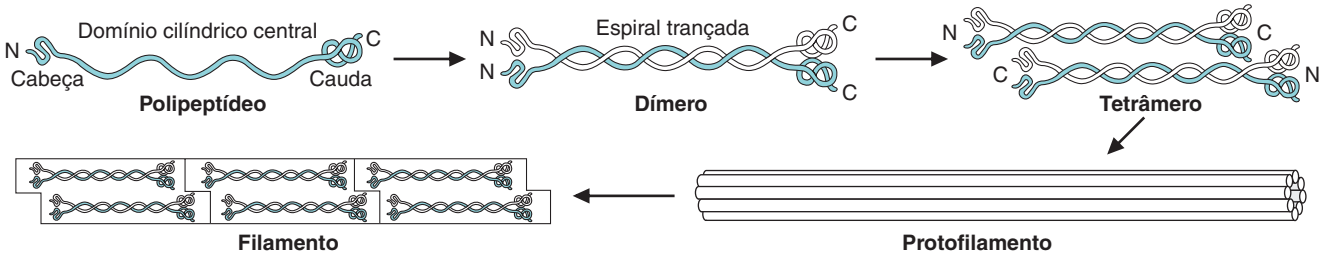


Figura 10.28 Formação de um filamento de citoqueratina. O cilindro central do monômero de queratina é principalmente uma estrutura hélice α. Um monômero de queratina ácida específico se combina com um monômero de queratina básica específico para formar um heterodímero espiral (uma estrutura espiral trançada). Dois dímeros se combinam de modo antiparalelo para formar um tetrâmero, e os tetrâmeros se combinam cabeça com cauda para formar protofilamentos. Aproximadamente oito protofilamentos se combinam para formar um filamento. O filamento é mais grosso do que os filamentos de actina (chamados de filamentos finos ou microfilamentos) e mais fino do que os microtúbulos (tubos grossos) e é, portanto, chamado de filamento intermediário.

Tabela 10.2 Filamentos Intermediários

Tipo	Proteína	Localização
Tipo I	Queratinas ácidas	Células epiteliais diferentes expressam queratinas diferentes.
Tipo II	Queratinas básicas	Células epiteliais. Cada tipo de célula tem uma queratina ácida e básica específica.
Tipo III	Tipo vimentina	Células de origem mesenquimal
	Vimentina Desmina	Músculo
	Proteína glial fibrilar ácida	Células gliais no sistema nervoso central
Tipo IV	Neurofilamentos (NF-L, NF-M, NF-H)	Neurônios, particularmente axônios motores longos e finos.
Tipo V	Lamininas nucleares A, B e C	Formam uma rede tipo malha nas camadas internas dos envelopes nucleares celulares.
Tipo VI	Nestina	Células-tronco do sistema nervoso central

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Al Martini. Al Martini tem bebido durante cinco anos e começou a exibir os efeitos mentais e sistêmicos do consumo crônico de álcool. Em seu cérebro, o etanol alterou a fluidez dos lipídeos neuronais, causando alterações em sua resposta a neurotransmissores liberados de vesículas exocíticas. Em seu fígado, níveis elevados de MEOS (CYP2E1) localizados no RE liso aumentaram sua taxa de oxidação de etanol a acetaldeído, um composto que é tóxico para a célula. Seu fígado também continua a oxidar etanol a acetaldeído por uma enzima citosólica, a álcool-desidrogenase hepática.

Um dos efeitos tóxicos do acetaldeído é a inibição da polimerização da tubulina. A tubulina é utilizada no fígado para a secreção de partículas de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL, do inglês *very low-density lipoprotein*) contendo triacilgliceróis recém-sintetizados. Como resultado, esses triacilgliceróis acumulam no fígado, e o paciente começou a desenvolver um fígado gorduroso. O acetaldeído pode também lesar componentes protéicos da membrana interna da mitocôndria e afetar sua habilidade de bombear prótons para o citosol.

Lotta Topaigne teve uma resposta clínica rápida e gratificante à administração de colchicina de hora em hora. Esse fármaco diminui a fagocitose e a liberação subseqüente de enzimas lisossomais que iniciam a resposta inflamatória no tecido sinovial.

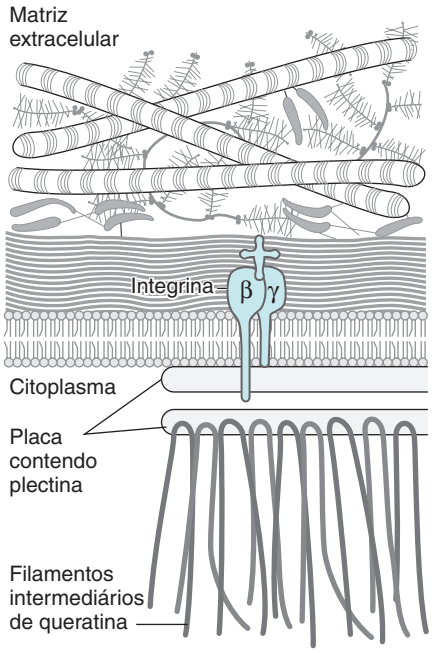
A resposta inflamatória que causa os sintomas do ataque de gota aguda inicia quando neutrófilos e macrófagos ingerem cristais de urato. Nos neutrófilos, o urato ativa a conversão do ácido graxo poliinsaturado ácido araquidônico (presente nos fosfolipídeos de membrana) a leucotrieno B_4. A liberação dessa prostaglandina contribui para a dor. A colchicina, por seu efeito sobre a tubulina, inibe a fagocitose, a liberação de leucotrieno B_4 e o recrutamento e a divisão de células adicionais envolvidas na inflamação. A colchicina também inibe a liberação de histamina dependente de tubulina dos mastócitos. Como resultado, há uma melhora rápida da dor e do edema no dedão do pé de Lotta.

Depois que o ataque de gota melhorou, a Sra. Topaigne recebeu alopurinol, um fármaco que inibe a produção de urato (ver Capítulo 8). Durante os próximos seis meses de terapia com alopurinol, os níveis sangüíneos de urato da Sra. Topaigne diminuíram. Ela não teve outro ataque de gota durante esse período.

Dennis Veere. Dennis Veere teve diagnóstico de cólera. Ele recebeu reidratação intravenosa, seguida por terapia de reidratação oral com líquidos contendo alta concentração de glicose e Na^+ (continua no Capítulo 11).

O *Vibrio cholerae* secreta uma toxina A que é processada e transportada na célula em conjunto com a proteína G monomérica Arf (fator de ADP-ribosilação). A toxina A ribosila com ADP a subunidade G_α de uma proteína G heterotrimérica (um processo discutido no Capítulo 11). O resultado é a ativação de proteína-quinase A, a qual, então, fosforila o canal de cloreto CFTR (regulador da condutância transmembrana da

Na epidermiólise bolhosa simples, formam-se bolhas na pele em resposta a estresse mecânico muito leve. A forma familiar da doença em geral é causada por mutações em qualquer uma das duas formas da queratina que constituem os heterodímeros da camada basal da epiderme. O citoesqueleto de queratina enfraquecido resulta em citólise quando sofre estresse. A doença também pode ser causada por mutações na plectina, a proteína que une a queratina à proteína de membrana integrina nos hemidesmossomas (uma estrutura envolvida em unir as células à matriz extracelular).



fibrose cística) de modo que permanece permanentemente aberto. A saída subseqüente de cloreto, sódio e água para o lúmen intestinal é responsável pela diarréia de Dennis Veere e a subseqüente desidratação.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Diferenças entre bactérias e células humanas. Diferentes espécies de bactérias têm algumas características estruturais comuns que as distinguem das células animais. Elas são organismos de uma única célula que são procariotos ("antes do núcleo"). Seu material genético (DNA) está concentrado na região central da célula chamada de nucleóide, em vez de núcleo, pois ela não é separada do resto dos conteúdos celulares por uma membrana. Da mesma forma, as bactérias não contêm organelas citoplasmáticas definidas por membranas. Elas têm, isso sim, uma membrana plasmática que envolve o citoplasma. Externa a essa membrana está uma parede celular de peptidoglicano composta de polissacarídeos com extensas ligações cruzadas que formam um escudo protetor na superfície celular.

As células bacterianas obtêm nutrientes do meio no qual elas crescem. Muitas das suas rotas metabólicas para a oxidação de substratos energéticos são similares àquelas dos eucariotos e geram NADH e ATP; contudo, etapas individuais nessas rotas podem utilizar coenzimas diferentes ou enzimas muito diferentes para a catálise daquelas das células humanas. Assim como as células humanas, as bactérias utilizam intermediários da glicólise e outras rotas de degradação básicas para servirem como precursores nas rotas biossintéticas, e a energia adquirida a partir de rotas catabólicas é utilizada em rotas anabólicas. As bactérias aeróbicas, como a *Escherichia coli,* contêm enzimas do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) e os componentes da cadeia de transporte de elétrons, os quais estão localizados na membrana celular. Contudo, muitas bactérias são anaeróbias e podem operar na ausência de oxigênio.

Muitas das diferenças metabólicas entre células humanas e bactérias estão relacionadas com suas interações com seu ambiente. Algumas bactérias, como a *E. coli,* podem se adaptar a condições adversas ou em alteração (tensão de O_2 alta *versus* baixa ou fornecimento de um único nutriente a partir do qual tudo é sintetizado) por mudanças dramáticas nos genes que são transcritos. Outras bactérias encontram um nicho ambiental único no qual elas não têm que competir com outras bactérias por nutrientes (p. ex., os *Lactobaccili* no iogurte são adaptados ao pH ácido). Ao contrário, as células humanas são adaptadas para interagir com o sangue e o líquido intersticial, os quais fornecem um pH bem controlado, um suprimento constante de nutrientes e um meio para a comunicação entre células muito distantes. Como conseqüência de seu ambiente constante, as células humanas adultas raramente precisam se adaptar (ou podem se adaptar) a condições que flutuam muito por meio de grandes variações nos genes transcritos. Como conseqüência de estarem organizados como um organismo multicelular, os tipos de células humanas têm sido capazes de se especializar em função, estrutura e conteúdo enzimático.

As mitocôndrias de células eucarióticas têm muitas características em comum com células procarióticas e, de fato, podem ter se originado quando eucariotos anaeróbios primordiais engolfaram procariotos anaeróbios antigos, estabelecendo uma relação de simbiose. Estes procariotos forneceram aos eucariotos um mecanismo mais eficiente para oxidar substratos energéticos para obter energia.

Leituras Sugeridas

Emmerson BT. The management of gout. N Engl J Med. 1996;334:445-451.

Takai Y, Sasaki T, Matozaki T. Small GTP-binding proteins. Physiol Rev 2001;81:153-208. Embora essa seja uma revisão longa para estudantes de medicina, ela é muito útil para identificar os papéis de diferentes proteínas G.

Um grande número de livros-texto de biologia celular e molecular muito bons foi recentemente publicado. Alguns dos mais recentes livros-texto considerados úteis incluem:

Karp G. Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments. 3rd Ed. New York: John Wiley and Sons, 2002.

Cooper GM. The CelI: A Molecular Approach. 2nd Ed. Washington, DC: ASM Press, Sinauer Assoc., 2000.

Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, DarnelI J. Molecular Cell Biology. 4th Ed. New York: W.H. Freeman, 2000. A seção de estrutura celular é particularmente boa.

Alberts B. Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular Biology of the Cell. 4th Ed. New York: Garland Science, 2002.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 10

1. Qual das seguintes é uma característica da membrana plasmática?

   (A) Ela é composta principalmente por triacilgliceróis e colesterol.
   (B) Ela contém principalmente lipídeos apolares.
   (C) Ela contém fosfolipídeos com seus grupos acil se estendendo para o citosol.
   (D) Ela contém mais fosfatidilserina na folha interna que na externa.
   (E) Ela contém oligossacarídeos entre suas folhas interna e externa.

2. Proteínas transmembrana

   (A) em geral podem ser dissociadas das membranas sem romper a bicamada lipídica.
   (B) são classificadas como proteínas periféricas de membrana.
   (C) contêm resíduos de aminoácidos hidrofóbicos nas suas extremidades carboxiterminal.
   (D) contêm resíduos de aminoácidos hidrofílicos se estendendo dentro da bicamada lipídica.
   (E) contêm regiões através da membrana que são hélices α.

   Use a história a seguir para responder as questões 3 e 4.

   Um paciente teve um ataque cardíaco súbito por fluxo inadequado de sangue através dos vasos do coração. Como conseqüência, houve um suprimento inadequado de oxigênio para gerar ATP em seus cardiomiócitos.

3. O compartimento dos cardiomiócitos mais diretamente envolvido na geração de ATP é o(a)

   (A) mitocôndria.
   (B) peroxissoma.
   (C) lisossoma.
   (D) núcleo.
   (E) Golgi.

4. O processo de transporte mais diretamente afetado por sua taxa diminuída de geração de ATP é

   (A) o transporte ativo de Na^+ para fora da célula.
   (B) o transporte facilitado de glicose para dentro da célula.
   (C) a difusão passiva de H_2O para dentro da célula.
   (D) o fluxo de íon através de canais regulados por ligantes.
   (E) a endocitose mediada por receptor.

   Use a seguinte história para a questão 5.

   Em uma clínica geriátrica, um paciente que desenvolveu diarréia grave teve diagnóstico de infecção por *Clostridium difficile*. A diarréia grave associada a *C. difficile é* causada principalmente por duas toxinas que são UDP-glicosiltransferases. Essas toxinas modificam uma proteína G monomérica, rompendo, assim, ligações celulares associadas ao esqueleto de actina.

5. Com base nesse efeito, qual das seguintes famílias de proteínas G é o alvo mais provável dessa modificação?

   (A) Ras
   (B) Ran
   (C) Rho
   (D) Rab
   (E) Arf

11 Sinalização Celular por Mensageiros Químicos

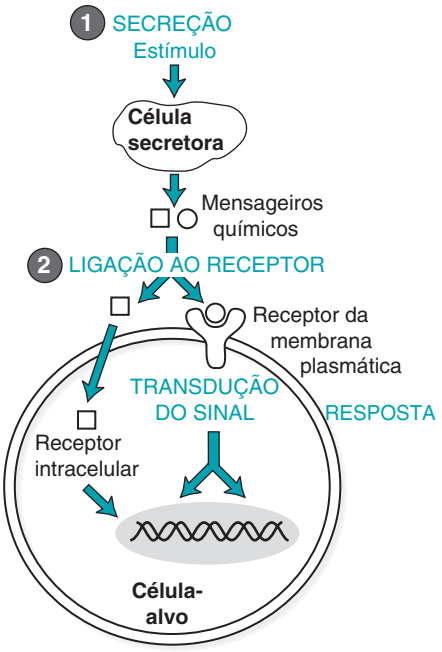


Figura 11.1 Características gerais de mensageiros químicos.

Em um organismo complexo, como o ser humano, os diferentes órgãos, tecidos e tipos celulares individuais desenvolveram funções especializadas. Além disso, cada célula deve contribuir de uma maneira integrada à medida que o corpo cresce, diferencia-se e adapta-se às condições em alteração. Tal integração requer a comunicação que é realizada por mensageiros que vão de uma célula para outra, ou pelo contato direto das células com a matriz extracelular ou umas com as outras. O objetivo final de tais sinais é modificar as ações realizadas nas células-alvo por proteínas intracelulares (enzimas metabólicas, proteínas regulatórias de genes, canais iônicos ou proteínas do citoesqueleto). Neste capítulo, será apresentada uma visão geral da sinalização por mensageiros químicos.

***Mensageiros químicos**. Os mensageiros químicos (também chamados de moléculas sinalizadoras) transmitem mensagens entre as células. Eles são **secretados** por uma célula em **resposta a um estímulo específico** e **vão para uma célula-alvo**, onde se **ligam a um receptor específico** e **induzem uma resposta** (Figura 11.1). No sistema nervoso, esses mensageiros químicos são chamados de **neurotransmissores**; no **sistema endócrino**, são **hormônios**, e no **sistema imune**, são chamados de **citocinas**. Outros mensageiros químicos incluem **retinóides, eicosanóides** e **fatores de crescimento**. Dependendo da distância entre as células secretoras e alvo, os mensageiros químicos podem ser classificados como **endócrino** (vão pelo sangue), **parácrino** (vão entre células próximas) ou **autócrino** (agem na mesma célula ou em células próximas do mesmo tipo).*

***Receptores e transdução de sinal**. Os receptores são proteínas contendo um sítio de ligação específico para um único mensageiro químico e outro sítio de ligação envolvido na transmissão da mensagem (ver Figura 11.1). O segundo sítio de ligação pode interagir com outra proteína ou com o DNA. Eles podem ser tanto **receptores de membrana plasmática** (os quais se estendem pela membrana plasmática e contêm um domínio de ligação extracelular para o mensageiro) quanto **proteínas de ligação intracelulares** (para mensageiros capazes de se difundir para dentro da célula) (ver Figura 11.1). A maioria dos receptores de membrana plasmática pertence às categorias de **receptores de canais iônicos**, **receptores tirosina-quinase**, **receptores associados à tirosina-quinase** (**receptores JAK-STAT**), **receptores serina/treonina-quinase** ou **receptores hepta-helicoidais** (proteínas com sete hélices α que se estendem pela membrana). Quando um mensageiro químico se liga a um receptor, o sinal que ele carrega deve ser convertido em uma resposta intracelular. Essa conversão é chamada de **transdução de sinal**.*

***Transdução de sinal para receptores intracelulares**. Os receptores intracelulares em sua maioria são **fatores de transcrição de genes específicos**, proteínas que se ligam ao DNA e regulam a transcrição de certos genes (transcrição de genes é o processo de cópia do código genético do DNA para o RNA).*

***Transdução de sinal para receptores de membrana plasmática.** Os mecanismos de transdução de sinal que seguem a ligação de moléculas sinalizadoras a receptores da membrana plasmática incluem a fosforilação de receptores em resíduos de tirosina (atividade de **tirosina-quinase do receptor**), as alterações conformacionais em **proteínas transdutoras de sinal** (p. ex., proteínas com domínios **SH2**, **proteína G monomérica Ras**, **proteínas G heterotriméricas**) ou o aumento nos níveis de **segundos mensageiros intracelulares**. Os segundos mensageiros são moléculas não-protéicas formadas dentro da célula em resposta à ligação de hormônio que continua a trans-*

*missão da mensagem. Os exemplos incluem 3',5'-AMP cíclico (**AMPc**), inositol-trifosfato (**IP_3**) e diacilglicerol (**DAG**).*

A sinalização freqüentemente requer uma resposta rápida e o término rápido da mensagem, o que pode ser conseguido pela degradação do mensageiro ou segundo mensageiro, pelo relógio automático de proteínas G, pela desativação de quinases de transdução de sinal por fosfatases ou por outros meios.



SALA DE ESPERA



Mya Sthenia é uma mulher de 37 anos que se queixa de fadiga muscular crescente nas extremidades inferiores ao caminhar. Se ela descansa por 5 a 10 minutos, sua força nas pernas retorna ao normal. Ela também nota que, ao falar ao telefone, sua habilidade de formar palavras gradualmente diminui. À noite, as pálpebras caem até o ponto de ela ter de levantar as pálpebras superiores para ver normalmente. Esses sintomas estão se tornando progressivamente mais graves. Quando é solicitado a Mya para manter o olhar fixo para cima, as pálpebras acabam caindo involuntariamente. Quando ela é solicitada a manter os dois braços elevados a sua frente por tanto tempo quanto for capaz, ambos os braços começam a cair em poucos minutos. O médico suspeita que **Mya Sthenia** tenha miastenia grave e solicita um exame para determinar se ela tem no sangue anticorpos contra receptores de acetilcolina.



Ann O'Rexia, que sofre de anorexia nervosa, aumentou seu peso de 38,6 kg para 42,3 kg (ver Capítulo 9). Por orientação de seu médico, ela tem se alimentado mais para prevenir a fadiga durante seu treino diário de corrida. A cada dois dias, ela corre antes do café da manhã cerca de 16 km e imediatamente após se obriga a beber um suplemento rico em energia.



Dennis Veere foi hospitalizado por desidratação causada pela toxina cólera (ver Capítulo 10). Em suas células da mucosa intestinal, a toxina A do cólera indiretamente ativou canais de CFTR, resultando na secreção de íons cloreto e Na^+ para o lúmen intestinal. A secreção de íons foi seguida por perda de água, resultando em vômitos e diarréia aquosa. Dennis está sendo tratado para choque hipovolêmico.

I. CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS MENSAGEIROS QUÍMICOS

Certas características universais dos sistemas de mensageiros químicos estão ilustradas na Figura 11.1. A sinalização em geral segue a seguinte seqüência: (1) o mensageiro químico é secretado por uma célula específica em resposta a um estímulo; (2) o mensageiro se difunde ou é transportado através do sangue ou outro líquido extracelular para a célula-alvo; (3) um receptor na célula-alvo (um receptor de membrana plasmática ou intracelular) se liga especificamente ao mensageiro; (4) a ligação do mensageiro ao receptor induz uma resposta; (5) o sinal cessa e é terminado. Os mensageiros químicos provocam sua resposta na célula-alvo sem serem metabolizados pela célula.

Outra característica geral dos sistemas de mensageiros químicos é que a especificidade da resposta é determinada pelo tipo de receptor e sua localização. Geralmente, cada receptor liga apenas um mensageiro químico específico, e cada receptor inicia uma rota de transdução do sinal característica que finalmente ativará ou inibirá certos processos na célula. Apenas certas células, as células-alvo, possuem receptores para um determinado mensageiro e são capazes de responder à sua "mensagem".

Os meios de terminação do sinal são um aspecto muito importante da sinalização celular, e a deficiência em terminar a mensagem contribui para um grande número de doenças, como o câncer.



A acetilcolina é liberada por neurônios e age sobre receptores de acetilcolina nas junções neuromusculares para estimular a contração muscular. A miastenia grave é uma doença auto-imune adquirida, na qual o paciente desenvolveu anticorpos patogênicos contra esses receptores. A habilidade diminuída de **Mya Sthenia** de formar palavras e seus outros sintomas de fraqueza muscular são causados pela inabilidade de a acetilcolina estimular a contração muscular repetida, quando o número de receptores de acetilcolina efetivos na junção neuromuscular está muito reduzido.



Os hormônios endócrinos possibilitam a **Ann O'Rexia** mobilizar substratos energéticos de seu tecido adiposo durante seus períodos de jejum e durante corridas. Durante o jejum noturno, as células α de seu pâncreas aumentam a secreção do hormônio polipeptídico glucagon. O estresse do jejum prolongado e do exercício crônico estimula a secreção de cortisol, um hormônio esteróide, de seu córtex adrenal. O exercício de corrida também aumenta a secreção dos hormônios adrenalina e noradrenalina pela medula adrenal. Cada um desses hormônios está sendo liberado em resposta a um sinal específico e causa uma resposta característica em um tecido-alvo, permitindo que a paciente se exercite. Contudo, cada um desses hormônios se liga a um tipo diferente de receptor e funciona de uma maneira diferente.



O jejum de **Ann O'Rexia** é acompanhado por altos níveis do hormônio endócrino glucagon, o qual é secretado em resposta a baixos níveis de glicose sangüínea. Ele entra no sangue e age no fígado estimulando um grande número de rotas, incluindo a liberação de glicose das reservas de glicogênio (glicogenólise) (ver Capítulo 3). A especificidade de sua ação é determinada pela localização dos receptores. As células parenquimatosas hepáticas têm receptores para glucagon, mas o músculo esquelético e os vários outros tecidos não os têm. Portanto, o glucagon não pode estimular a glicogenólise nesses tecidos.

A maioria dos mensageiros químicos (incluindo neurotransmissores, citocinas e hormônios endócrinos) é mantida em vesículas que se fundem com uma região da membrana celular quando a célula recebe um estímulo para liberar o mensageiro. A maioria das células secretoras utiliza um grupo de proteínas similares para permitir a fusão da vesícula, e essa fusão é, em geral, iniciada pelo influxo de Ca^{2+}, como visto com a liberação de acetilcolina.

A miastenia grave é uma doença auto-imune causada pela produção de um anticorpo dirigido contra o receptor de acetilcolina no músculo esquelético. Nessa doença, os linfócitos B e T cooperam para produzir uma variedade de anticorpos contra o receptor nicotínico da acetilcolina. Os anticorpos, então, ligam-se em vários locais no receptor e fazem ligações cruzadas entre os receptores formando um complexo de anticorpo-múltiplos receptores. O complexo sofre endocitose e é incorporado a lisossomas, onde é degradado. **Mya Sthenia,** portanto, tem menos receptores funcionais para serem ativados pela acetilcolina.

A. Características Gerais dos Sistemas de Mensageiros Químicos Aplicadas aos Receptores Nicotínicos para a Acetilcolina

As etapas individuais envolvidas na sinalização celular por mensageiros químicos são ilustradas com a acetilcolina, um neurotransmissor que age sobre receptores nicotínicos para a acetilcolina na membrana plasmática de certas células musculares. Esse sistema exibe as características clássicas de liberação de mensageiro químico e especificidade de resposta.

Os neurotransmissores são secretados por neurônios em resposta a um estímulo elétrico chamado de potencial de ação (uma diferença de voltagem através da membrana plasmática, causada por alterações nos gradientes de Na^+ e K^+, que é propagada ao longo de um nervo). Os neurotransmissores se difundem através de uma sinapse para uma outra célula excitável, onde provocam uma resposta (Figura 11.2). A acetilcolina é o neurotransmissor nas junções neuromusculares, onde ela transmite um sinal de um nervo motor para uma fibra muscular que provoca sua contração. Antes da liberação, a acetilcolina é seqüestrada em vesículas agrupadas próximas a uma zona ativa na membrana pré-sináptica. Essa membrana também tem canais de Ca^{2+} regulados por voltagem que se abrem quando o potencial de ação chega a eles, resultando na entrada de Ca^{2+}. O Ca^{2+} dispara a fusão de vesículas com a membrana plasmática, e a acetilcolina é liberada na fenda sináptica. Assim, o mensageiro químico é liberado de uma célula específica em resposta a um estímulo específico.

A acetilcolina se difunde através da fenda sináptica para se ligar a receptores de membrana plasmática nas células musculares chamados de receptores nicotínicos de acetilcolina (Figura 11.3). As subunidades são montadas em torno de um canal, o qual tem uma abertura em forma de funil no centro. À medida que a acetilcolina se liga ao receptor, uma alteração conformacional abre a porção estreita do canal (a comporta), permitindo que o Na^+ se difunda para dentro, e o K^+ se difunda para fora. (Uma propriedade uniforme de todos os receptores é que a transdução de sinal se inicia com alterações conformacionais no receptor.) A alteração na concentração iônica ativa uma seqüência de eventos que, por fim, dispara a resposta celular – a contração da fibra.

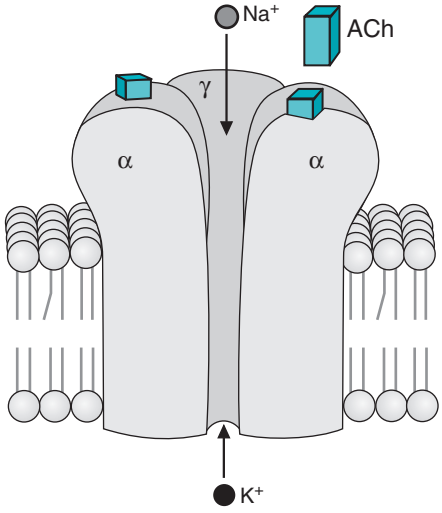


Figura 11.3 O receptor nicotínico de acetilcolina. Cada receptor é composto de cinco subunidades, e cada subunidade tem quatro regiões helicoidais que se estendem através da membrana. As duas subunidades α são idênticas e contêm sítios de ligação para acetilcolina. Quando duas moléculas de acetilcolina são ligadas, as subunidades alteram suas conformações de tal modo que o canal no centro do receptor é aberto, permitindo que íons K^+ se difundam para fora e íons Na^+ se difundam para dentro.

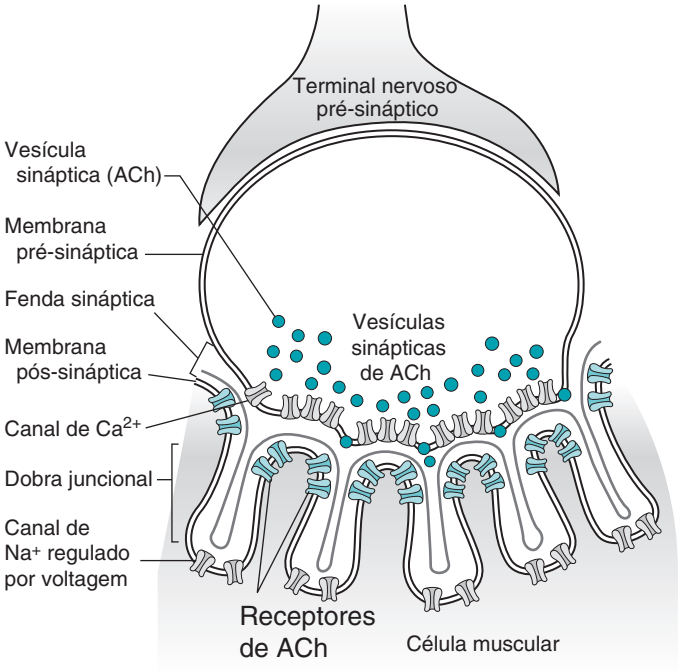


Figura 11.2 Receptores de acetilcolina na junção neuromuscular. Um nervo motor termina em vários ramos; cada ramo termina em uma estrutura em forma de bulbo chamada de botão pré-sináptico. Cada botão faz sinapse com uma região da fibra muscular contendo dobras juncionais. Na borda de cada dobra, há uma alta concentração de receptores de acetilcolina, os quais são canais iônicos regulados.

Uma vez interrompida a secreção de acetilcolina, a mensagem é rapidamente terminada pela acetilcolinesterase, uma enzima localizada na membrana pós-sináptica que cliva acetilcolina. Ela também é terminada pela difusão da acetilcolina para fora da sinapse. A interrupção rápida da mensagem é uma característica de sistemas que necessitam de uma resposta rápida da célula-alvo.

B. Endócrino, Parácrino e Autócrino

As ações de mensageiros químicos com freqüência são classificadas como endócrina, parácrina ou autócrina (Figura 11.4). Cada hormônio endócrino é secretado por um tipo de célula específico (em geral em uma glândula endócrina), entra no sangue e exerce suas ações em células-alvo específicas, as quais podem estar distantes. Ao contrário dos hormônios endócrinos, as ações parácrinas são realizadas em células

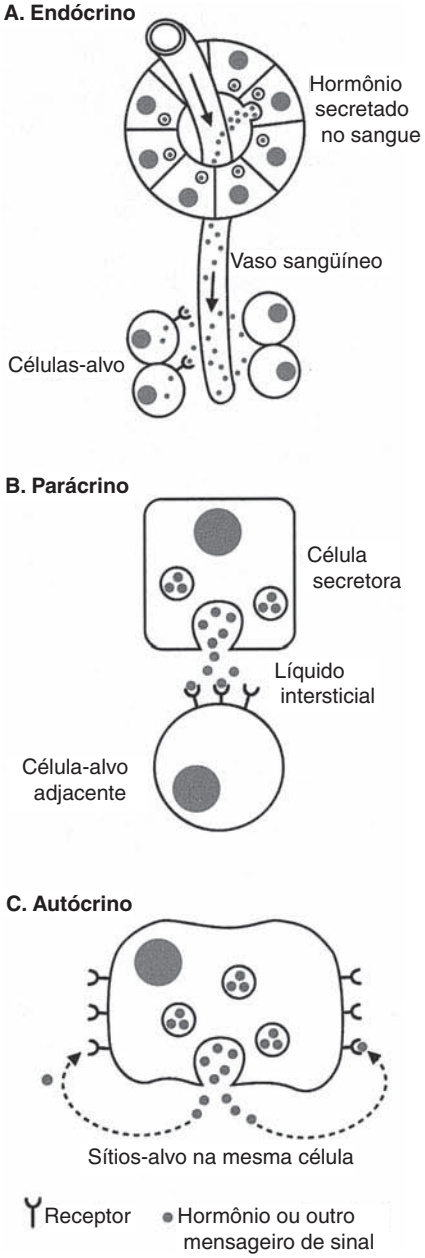
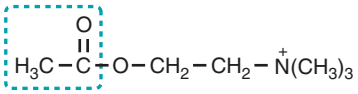
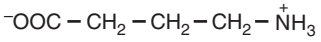


Figura 11.4 Ações endócrinas, parácrinas e autócrinas de hormônios e outros mensageiros químicos.

Foi realizado um teste em **Mya Sthenia** com um inibidor da acetilcolinesterase, o cloreto de edrofônio, administrado intravenosamente (ver Capítulo 8, Figura 8.18). Após esse fármaco inativar a acetilcolinesterase, a acetilcolina que é liberada do terminal nervoso se acumula na fenda sináptica. Mesmo que Mya expresse menos receptores de acetilcolina em suas células musculares (devido à degradação de receptores auto-induzida por anticorpos), com o aumento da concentração local de acetilcolina, esses receptores têm uma probabilidade maior de serem ocupados e ativados. Portanto, a administração intravenosa aguda desse fármaco de ação curta melhora temporariamente a fraqueza muscular em pacientes com miastenia grave.



Acetilcolina

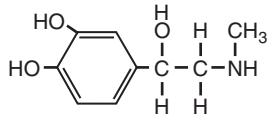


γ-Aminobutirato (GABA)

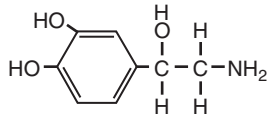
Figura 11.5 Neurotransmissores pequenos.



A catecolamina adrenalina (também chamada de epinefrina) é o hormônio de luta, medo e fuga. A adrenalina e o hormônio estruturalmente similar, noradrenalina, são liberados pela medula adrenal em resposta a uma variedade de estresses agudos, incluindo dor, hemorragia, exercício, hipoglicemia e hipoxia. Assim, quando **Ann O'Rexia** começa a correr, há uma rápida liberação de adrenalina e noradrenalina em seu sangue.



Adrenalina



Noradrenalina

próximas, e a localização das células tem um papel na especificidade da resposta. A transmissão sináptica por acetilcolina e outros neurotransmissores (algumas vezes chamada de sinalização neurócrina) é um exemplo de sinalização parácrina. A acetilcolina ativa apenas aqueles receptores de acetilcolina localizados do outro lado da fenda sináptica do nervo sinalizador e não todos os músculos com receptores de acetilcolina. As ações parácrinas também são muito importantes na limitação da resposta imune a uma região específica do corpo, uma característica que auxilia a prevenir o desenvolvimento de doenças auto-imunes. As ações autócrinas envolvem um mensageiro agindo na célula da qual ele foi secretado, ou em células próximas que são do mesmo tipo que as células secretoras.

C. Tipos de Mensageiros Químicos

Três grandes sistemas de sinalização no corpo empregam mensageiros químicos: o sistema nervoso, o sistema endócrino e o sistema imunológico. Alguns mensageiros são difíceis de serem classificados em apenas uma dessas categorias.

1. O SISTEMA NERVOSO

O sistema nervoso secreta dois tipos de mensageiros: neurotransmissores pequenos, com freqüência chamados de aminas biogênicas, e neuropeptídeos. Os neurotransmissores pequenos são moléculas contendo nitrogênio, as quais podem ser aminoácidos ou derivados de aminoácidos (p. ex., acetilcolina e γ-aminobutirato, Figura 11.5). Os neuropeptídeos são, em geral, peptídeos pequenos (entre 4 e 35 aminoácidos) secretados por neurônios e que agem como neurotransmissores nas junções sinápticas ou são secretados no sangue para agirem como neuro-hormônios.

2. O SISTEMA ENDÓCRINO

Os hormônios endócrinos são definidos como compostos, secretados por células endócrinas específicas nas glândulas endócrinas, que alcançam suas células-alvo por transporte através do sangue. A insulina, por exemplo, é um hormônio endócrino secretado pelas células β do pâncreas. Os hormônios clássicos em geral são divididos em categorias estruturais de hormônios polipeptídicos (p. ex., insulina – ver Capítulo 6, Figura 6.15 para a estrutura da insulina), catecolaminas, como a adrenalina (a qual também é um neurotransmissor), hormônios esteróides (os quais são derivados do colesterol) e hormônio tireoidiano (o qual é derivado da tirosina). Muitos desses hormônios endócrinos também exercem ações parácrinas e autócrinas. Os hormônios que regulam o metabolismo são discutidos neste capítulo e nos capítulos subseqüentes deste texto.

Alguns compostos normalmente considerados como hormônios são mais difíceis de categorizar. Por exemplo, os retinóides, os quais são derivados da vitamina A (também chamada de retinol) e da vitamina D (a qual também é derivada de colesterol), são, em geral, classificados como hormônios, embora não sejam sintetizados em células endócrinas.

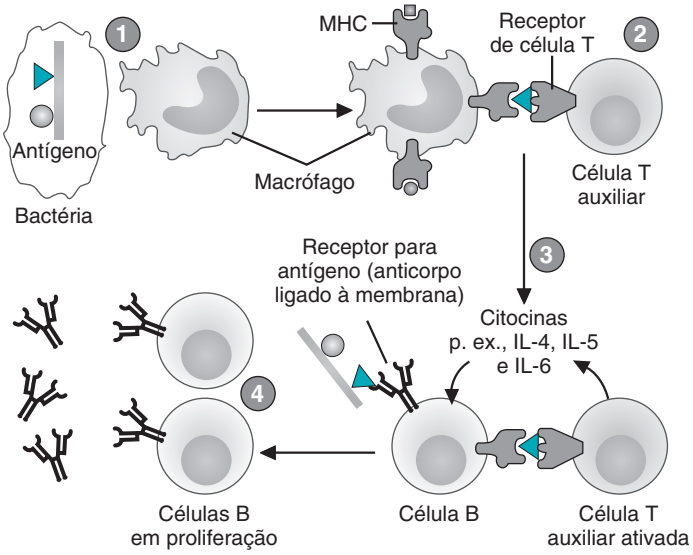
3. O SISTEMA IMUNOLÓGICO

Os mensageiros do sistema imunológico, chamados de citocinas, são proteínas pequenas com um peso molecular de cerca de 20.000 dáltons. As citocinas regulam uma rede de respostas planejadas para destruir microrganismos invasores. As diferentes classes de citocinas (interleucinas, fatores de necrose tumoral, interferons e fatores estimuladores de colônias [*colony-stimulating factors*]) são secretadas por células do sistema imunológico e, em geral, alteram o comportamento de outras células nesse sistema pela ativação da transcrição de genes das proteínas envolvidas na resposta imune.

4. OS EICOSANÓIDES

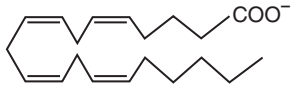
Os eicosanóides (incluindo prostaglandinas [PG], tromboxanos e leucotrienos) controlam a função celular em resposta à lesão (Figura 11.6). Esses compostos são todos

Seleção e Proliferação de Células B Produzindo o Anticorpo Desejado. As interleucinas, uma classe de citocinas, ilustram algumas das sinalizações envolvidas na resposta do sistema imunológico. As interleucinas são fatores polipeptídicos com pesos moleculares variando de 15.000 a 25.000 dáltons. Elas participam em uma parte da resposta imune chamada de imunidade humoral, a qual é realizada por uma população de células linfóides B produzindo apenas um anticorpo contra um antígeno específico. A proliferação de células produzindo esse anticorpo em particular é mediada por receptores e por certas interleucinas.

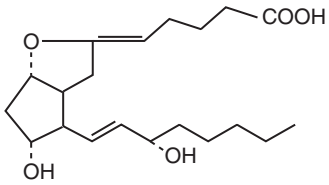


As bactérias fagocitadas por macrófagos são digeridas por lisossomas. (1) Um fragmento parcialmente digerido da proteína bacteriana (o antígeno azul) é apresentado na superfície extracelular do macrófago por uma proteína de membrana chamada de MHC (complexo de histocompatibilidade principal, do inglês *major histocompatibility complex*). (2) Certas células linfóides chamadas de células T auxiliares (*T-helpers)* contêm receptores que podem se ligar ao complexo antígeno-MHC mostrado, um processo que ativa a célula T (sinalização direta célula-célula, necessitando de moléculas de reconhecimento). (3) A célula T auxiliar ativada, então, encontra e se liga a uma célula B, cujo receptor de antígeno se liga a um fragmento solúvel da mesma molécula de antígeno derivada da bactéria (novamente, sinalização direta célula-célula). A célula T ligada secreta interleucinas que agem sobre a célula B (um sinal parácrino). Assim, as interleucinas estimulam apenas a proliferação daquelas células B capazes de sintetizar e secretar o anticorpo desejado. Além disso, as interleucinas determinam que classe de anticorpos é produzida.

derivados do ácido araquidônico, um ácido graxo poliinsaturado de 20 carbonos que normalmente está presente nas células como parte do lipídeo de membrana fosfatidilcolina (ver Capítulo 5, Figura 5.21). Embora quase todas as células do corpo produzam um eicosanóide em resposta à lesão tecidual, diferentes células produzem diferentes eicosanóides. Os eicosanóides agem principalmente em funções parácrinas e autócrinas, afetando as células que os produzem ou suas células vizinhas. Por exemplo, as células endoteliais vasculares (células enfileiradas da parede vascular) secretam a prostaglandina PGI_2 (prostaciclina), a qual age sobre as células do músculo liso próximas, causando vasodilatação (expansão do vaso sangüíneo).



Ácido araquidônico
($C_{20:4,\Delta^{5,8,11,14}}$)



Prostaciclina
PGI_2

5. FATORES DE CRESCIMENTO

Os fatores de crescimento são polipeptídeos que agem pela estimulação da proliferação celular. Por exemplo, as plaquetas que se agregam no local de lesão a um vaso sangüíneo secretam PDGF (fator de crescimento derivado de plaquetas, do inglês *platelet-derived growth factor*). O PDGF estimula a proliferação de células musculares lisas que estão

Lotta Topaigne sofreu muito com os ataques de gota que afetaram seu dedão do pé (ver Cometários Clínicos, Capítulo 8). A dor extrema foi causada pela liberação de um leucotrieno que estimulou os receptores de dor. Os cristais de urato precipitados no seu dedão estimularam as células inflamatórias recrutadas para liberar o leucotrieno.

Figura 11.6 Os eicosanóides são derivados do ácido araquidônico e retêm seus 20 carbonos originais (por isso o nome *eicosanóides*). Todas as prostaglandinas, como a prostaciclina, também têm um anel interno.

próximas, as quais finalmente formam uma placa que cobre o local lesado. Alguns fatores de crescimento são considerados hormônios e alguns têm sido chamados de citocinas.

Cada um de centenas de mensageiros químicos tem seu próprio receptor específico, o qual normalmente não liga outro mensageiro.

II. RECEPTORES INTRACELULARES DE FATORES DE TRANSCRIÇÃO

A. Receptores Intracelulares *Versus* Receptores de Membrana Plasmática

As propriedades estruturais de um mensageiro determinam, em alguma extensão, o tipo de receptor ao qual ele se liga. A maioria dos receptores pertence a duas grandes categorias: receptores intracelulares ou receptores de membrana plasmática (Figura 11.7). Os mensageiros que utilizam receptores intracelulares devem ser moléculas hidrofóbicas capazes de se difundir através da membrana plasmática para dentro das células. Ao contrário, as moléculas polares, como os hormônios peptídicos, as citocinas e as catecolaminas, não podem cruzar rapidamente a membrana plasmática e devem se ligar a um receptor nessa membrana.

Os receptores intracelulares para mensageiros lipofílicos em sua maioria são fatores de transcrição de genes específicos. Um fator de transcrição é uma proteína que se liga a um sítio específico do DNA e regula a velocidade de transcrição de um gene (ou seja, a síntese de mRNA). As moléculas sinalizadoras externas se ligam a fatores de transcrição que se ligam a uma seqüência específica no DNA e regulam a expressão de apenas certos genes; eles são chamados de fatores de transcrição gene-específicos ou sítio-específicos.

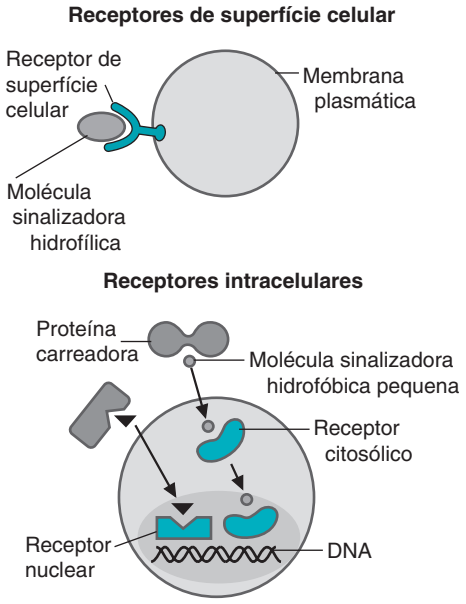


Figura 11.7 Receptores intracelulares *versus* receptores de membrana plasmática. Os receptores de membrana plasmática têm domínios de ligação extracelulares. Os receptores intracelulares ligam os hormônios esteróides ou outros mensageiros capazes de se difundir através da membrana plasmática. Seus receptores podem localizar-se no citoplasma e se translocar para o núcleo, localizar-se no núcleo ligado ao DNA ou localizar-se no núcleo ligado a outras proteínas.

B. A Superfamília de Receptores de Hormônio Esteróide/Hormônio Tireoidiano

Os hormônios lipofílicos que utilizam fatores de transcrição intracelulares gene-específicos incluem hormônios esteróides, hormônio tireoidiano, ácido retinóico (forma ativa da vitamina A) e vitamina D (Figura 11.8). Como esses compostos são insolúveis em água, eles são transportados no sangue ligados à albumina sérica, a qual tem uma bolsa de ligação hidrofóbica, ou a uma proteína de transporte mais específica, como a globulina de ligação de hormônios esteróides (SHBG, do inglês *steroid hormone-binding globulin*) e a globulina de ligação do hormônio tireoidiano (TBG, do inglês *thyroid hormone-binding globulin*). Os receptores intracelulares para esses hormônios são estruturalmente similares e são referidos como a superfamília de receptores de hormônio esteróide/hormônio tireoidiano.

A superfamília de receptores de hormônio esteróide/hormônio tireoidiano se localiza principalmente no núcleo, embora alguns sejam encontrados no citoplasma. O receptor de glicocorticóide, por exemplo, existe como complexos citoplasmáticos multiméricos associados a proteínas de choque térmico (*heat shock proteins*). Quando o hormônio cortisol (um glicocorticóide) se liga, o receptor sofre uma alteração conformacional e se dissocia das proteínas de choque térmico, expondo um sinal de translo-



O hormônio esteróide cortisol é sintetizado e liberado pelo córtex adrenal em resposta ao hormônio polipeptídeo ACTH (hormônio adrenocorticotrófico, do inglês *adrenal coticotrophic hormone*). Os sinais de estresse crônico (dor, hipoglicemia, hemorragia e exercício) são enviados do córtex cerebral para o hipotálamo e para a hipófise anterior, a qual libera ACTH. O cortisol age sobre os tecidos alterando os níveis de enzimas e redistribuindo os nutrientes em preparação para o estresse agudo. Por exemplo, ele aumenta a transcrição de genes para enzimas regulatórias da rota da gliconeogênese, aumentando, assim, a quantidade dessas enzimas (chamadas de ativação gene-específica da transcrição ou de indução da síntese de proteína). A indução de enzimas gliconeogênicas prepara o fígado para responder rapidamente à hipoglicemia com o aumento da síntese de glicose. **Ann O'Rexia**, que com freqüência tem feito jejum e exercício, tem uma capacidade aumentada de gliconeogênese no fígado.

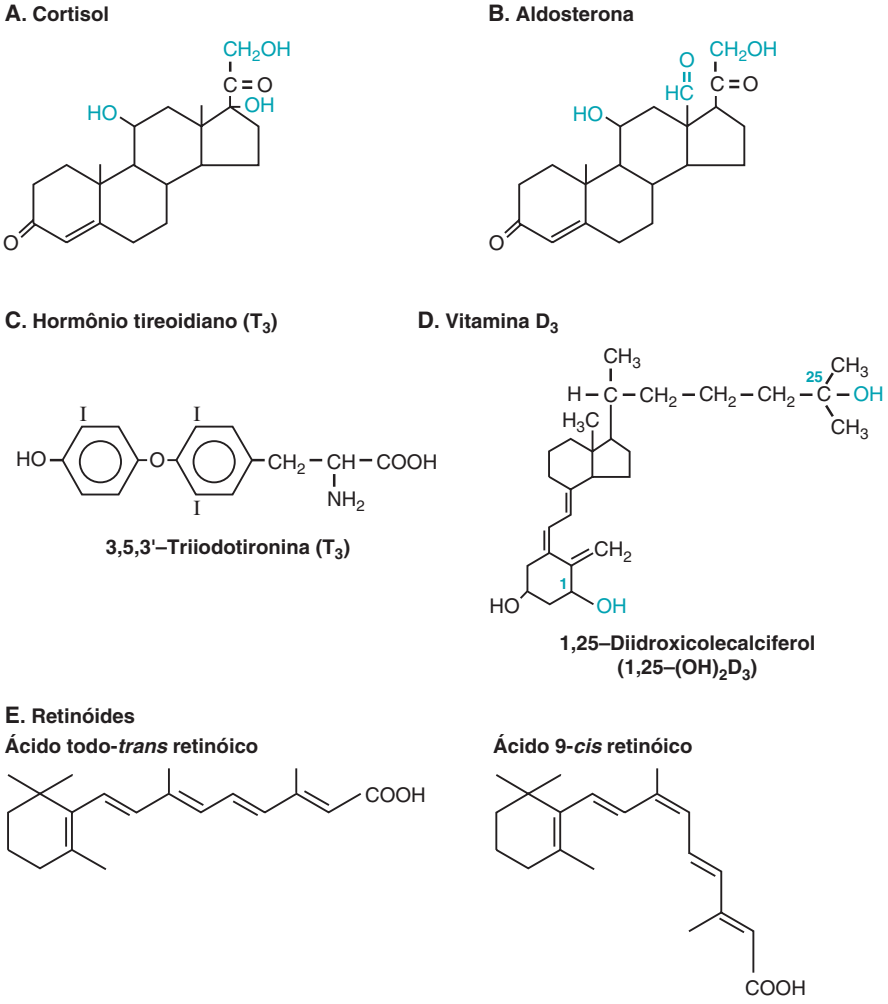


Figura 11.8 Superfamília de hormônio esteróide/hormônio tireoidiano. **A.** Cortisol (um glicocorticóide). **B.** Aldosterona (um androgênio). **C.** Hormônio tireoidiano. **D.** Vitamina D_3. **E.** Retinóides.

cação nuclear (ver Capítulo 10, Seção VI). Os receptores se dimerizam, e o complexo (incluindo o hormônio ligado) transloca-se para o núcleo, onde se liga à porção do DNA chamada de elemento responsivo a hormônio (p. ex., o receptor de glicocorticóide se liga ao elemento responsivo a glicocorticóide, GRE, do inglês *glucocorticoid response element*). A maioria dos receptores intracelulares se localiza principalmente no núcleo, e alguns deles estão constitutivamente ligados, como dímeros, ao seu ele-

Recentemente, foram identificados diversos receptores nucleares que têm papéis importantes no metabolismo intermediário e se tornaram alvo de fármacos para baixar lipídeos. Eles incluem os receptores de proliferação ativada de peroxissomas (PPAR α, β e γ; do inglês *peroxisome proliferator activated receptors*), o receptor X-ativado hepático (LXR, do inglês *liver X-activated receptor*), os receptores X-ativado farnesóide (FXR, do inglês *farnesoid X-activated receptors*) e os receptores X pregnano (PXR, do inglês *pregnane X receptor*). Esses receptores formam heterodímeros com o receptor ácido 9-*cis* retinóico (RXR, do inglês *9-cis retinoic acid receptor*) e se ligam aos seus elementos responsivos apropriados no DNA em um estado inativo. Quando o ligante ativador se liga ao receptor (oxiesteróis para o LXR, sais biliares para o FXR, sais biliares secundários para o PXR e ácidos graxos e seus derivados para os PPARs), o complexo é ativado, e a expressão gênica é alterada. Diferentemente do receptor de cortisol, esses receptores se localizam no núcleo e são ativados uma vez que seus ligantes entrem no núcleo e se liguem a eles.

mento responsivo no DNA (p. ex., o receptor de hormônio tireoidiano). A ligação do hormônio altera sua atividade e sua habilidade de se associar ou se dissociar do DNA. A regulação da transcrição gênica por esses receptores é descrita no Capítulo 16.

III. RECEPTORES DE MEMBRANA PLASMÁTICA E TRANSDUÇÃO DE SINAL

Todos os receptores de membrana plasmática são proteínas com certas características em comum: um domínio extracelular que liga um mensageiro químico, um ou mais domínios através da membrana que são hélices α e um domínio intracelular que inicia a transdução do sinal. Quando o ligante se liga ao domínio extracelular de seu receptor, ele causa uma alteração conformacional que é comunicada para o domínio intracelular pela hélice α rígida do domínio transmembrana. O domínio intracelular ativado inicia uma rota de transdução de sinal característica que em geral envolve a ligação a uma proteína intracelular de transdução de sinal específica.

As rotas de transdução de sinal para receptores de membrana plasmática têm dois efeitos principais sobre a célula: (1) efeitos rápidos e imediatos nos níveis celulares de íons ou ativação/inibição de enzimas e/ou (2) alterações mais lentas na velocidade da expressão gênica para um grupo específico de proteínas. Freqüentemente, uma rota de transdução de sinal se ramificará para produzir ambos os tipos de efeitos.

As rotas de transdução de sinal, assim como os rios, correm em uma direção. De um dado ponto na rota de transdução do sinal, eventos próximos ao receptor são referidos como *upstream*, (corrente acima) e eventos próximos à resposta são referidos como *downstream* (corrente abaixo).

As proteína-quinases transferem um grupo fosfato do ATP para o grupo hidroxila de um resíduo de aminoácido específico na proteína. As tirosina-quinases transferem o grupo fosfato para o grupo hidroxila de um resíduo de tirosina específico e serina/treonina-proteína-quinases para a hidroxila de um resíduo específico de serina ou treonina (a serina é fosforilada com mais freqüência do que a treonina em proteínas-alvo). Diferentes proteína-quinases têm especificidade para seqüências de aminoácidos distintas (contendo uma tirosina, serina ou treonina). Assim, duas proteína-quinases diferentes têm como alvo seqüências distintas (e, geralmente, proteínas diferentes) para fosforilação. Uma proteína contendo ambas as seqüências-alvo pode ser substrato para ambas as proteína-quinases.

A. Classes Principais de Receptores de Membrana Plasmática

Os receptores individuais de membrana plasmática são agrupados em categorias de receptores de canais iônicos, receptores que são quinases ou ligam quinases e receptores que funcionam por meio de segundos mensageiros. Essa classificação é fundamentada na estrutura geral do receptor e seus meios de transdução de sinal.

1. RECEPTORES DE CANAL IÔNICO

Os receptores de canal iônico são similares em estrutura ao receptor nicotínico da acetilcolina (ver Figura 11.3). A transdução de sinal consiste da alteração conformacional que ocorre quando o ligante se liga. A maioria dos neurotransmissores de pequenas moléculas e alguns neuropeptídeos utilizam receptores de canal iônico.

2. RECEPTORES QUE SÃO QUINASES OU LIGAM QUINASES

Diversos tipos de receptores que são quinases ou ligam quinases estão ilustrados na Figura 11.9. Sua característica comum é que o domínio intracelular do receptor (ou uma proteína associada) é uma quinase que é ativada quando o mensageiro se liga ao domínio extracelular. A quinase do receptor fosforila um resíduo de aminoácido no receptor (autofosfo-

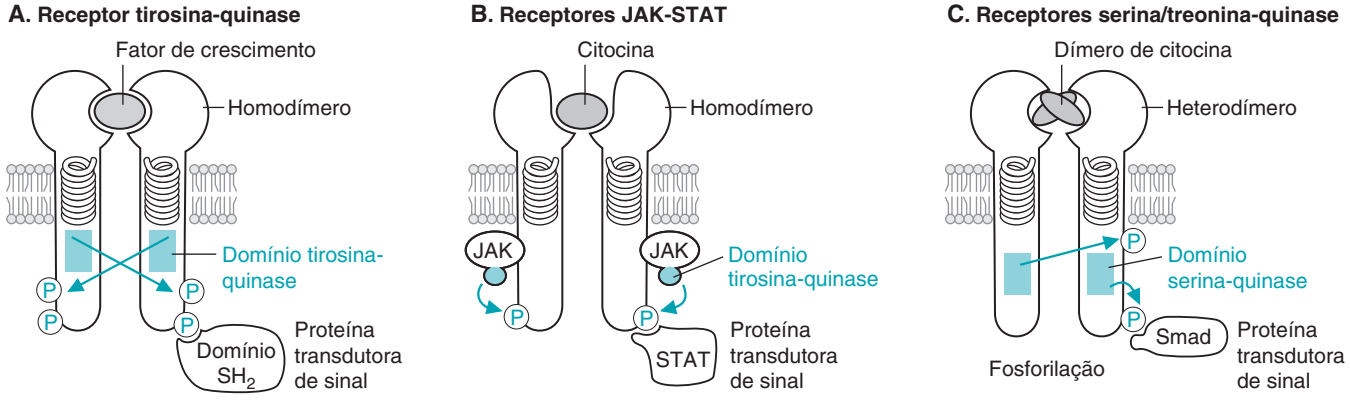


Figura 11.9 Receptores que são quinases ou ligam quinases. Os domínios de quinase são mostrados em azul, e os sítios de fosforilação são indicados com setas azuis. **A.** Receptores tirosina-quinase. **B.** Receptores JAK-STAT. **C.** Receptores serina/treonina-quinase.

rilação) ou uma proteína associada. A mensagem é propagada por proteínas transdutoras que se ligam ao complexo mensageiro-receptor ativado (p. ex., Grb2, STAT ou Smad).

3. RECEPTORES HEPTA-HELICOIDAIS

Os receptores hepta-helicoidais (os quais contêm sete hélices α através da membrana) são os tipos mais comuns de receptores de membrana plasmática. Eles funcionam por meio de segundos mensageiros, os quais são compostos não-protéicos pequenos, como o AMPc, gerados dentro da célula em resposta à ligação do mensageiro ao receptor (Figura 11.10). Eles continuam a transmissão intracelular da mensagem do hormônio/citocina/neurotransmissor, o qual é o "primeiro" mensageiro. Os segundos mensageiros estão presentes em baixas concentrações, de tal modo que sua concentração (e, assim, a mensagem) pode ser rapidamente iniciada e terminada.

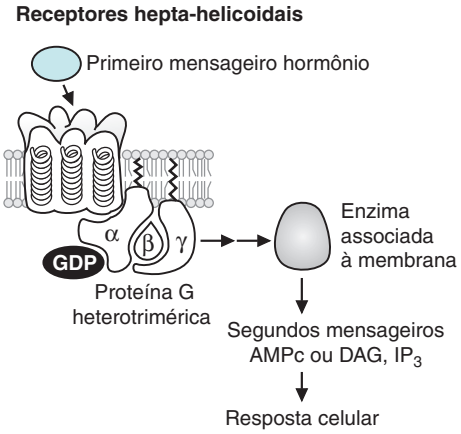


Figura 11.10 Receptores hepta-helicoidais e segundos mensageiros. O mensageiro químico secretado (hormônio, citocina ou neurotransmissor) é o primeiro mensageiro, o qual se liga a um receptor de membrana plasmática, como os receptores hepta-helicoidais. O complexo hormônio-receptor ativado ativa uma proteína G heterotrimérica, e, via estimulação de enzimas ligadas à membrana, diferentes proteínas G levam à geração de um ou mais segundos mensageiros intracelulares, como AMPc, diacilglicerol (DAG) ou inositol-trifosfato (IP_3).

B. Transdução de Sinal por Receptores Tirosina-Quinase

Os receptores tirosina-quinase estão resumidos na Figura 11.9A. Eles em geral existem na membrana como monômeros com uma única hélice através da membrana. Uma molécula de fator de crescimento geralmente se liga a duas moléculas do receptor e promove sua dimerização (Figura 11.11). Uma vez formado o dímero de receptor, os domínios tirosina-quinases intracelulares do receptor fosforilam um ao outro em determinados resíduos de tirosina (autofosforilação). Os resíduos de fosfotirosina formam sítios de ligação específicos para as proteínas transdutoras de sinal.

1. RAS E A ROTA DA MAP-QUINASE

Um dos domínios do receptor contendo um resíduo de fosfotirosina forma um sítio de ligação para as proteínas intracelulares com uma estrutura tridimensional específica conhecida como domínio SH2 (o domínio 2 de homologia Src, cujo nome se deve à



Embora muitas proteínas transdutoras diferentes tenham domínios SH2 e muitos receptores tenham resíduos de fosfotirosina, cada proteína transdutora de sinal é específica para um tipo de receptor. Essa especificidade de ligação resulta do fato de que cada resíduo de fosfotirosina tem uma seqüência diferente de aminoácidos em torno dele que forma o domínio de ligação. De maneira semelhante, o domínio SH2 da proteína transdutora é apenas parte do seu domínio.

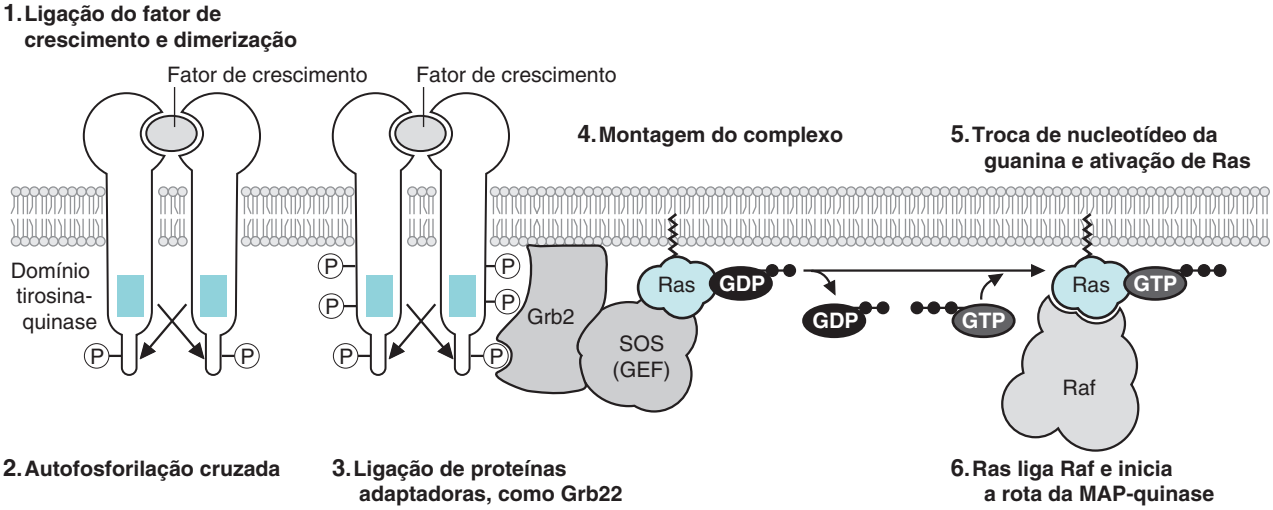


Figura 11.11 Transdução de sinal por receptores tirosina-quinase. (1) Ligação e dimerização. (2) Autofosforilação. (3) Ligação de Grb2 e SOS. (4) SOS é uma GEF (proteína trocadora de nucleotídeo da guanina, do inglês *guanine nucleotide exchange protein*) que liga Ras, uma proteína G monomérica ancorada à membrana plasmática. (5) GEF ativa a troca de GTP por GDP ligado na Ras. (6) A Ras ativada contendo GTP liga a enzima-alvo Raf, assim ativando-a.

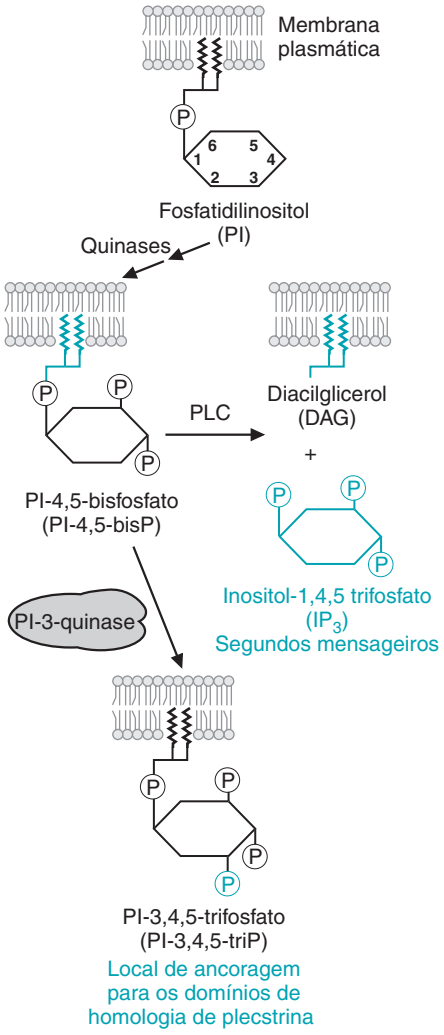


Figura 11.12 Rota principal para a geração de moléculas sinalizadoras de fosfatidilinositídeo, inositol-1,4,5-trifosfato (IP_3) e fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PI-3,4,5-triP). A PI-3-quinase fosforila PI-4,5-bisP e PI-4P na posição 3. Números primos algumas vezes são utilizados nesses nomes para indicar o anel inositol. DAG também é um segundo mensageiro.

primeira proteína na qual foi encontrado, a proteína Src do vírus do sarcoma de Rous). A proteína adaptadora Grb2, a qual é ligada a um fosfoinositídeo de membrana, é uma das proteínas com um domínio SH2 que se liga a resíduos de fosfotirosina nos receptores de fatores de crescimento. A ligação ao receptor causa uma alteração conformacional na Grb2 que ativa um outro sítio de ligação chamado de domínio SH3. Esses domínios SH3 ativados ligam a proteína SOS (SOS é um acrônimo para *son of sevenless*, um nome não-relacionado com a função ou a estrutura desse composto). A SOS é um fator de troca de nucleotídeo da guanina (GEF) para a Ras, uma proteína G monomérica localizada na membrana plasmática (ver Capítulo 9, Seção III.C.2.). A SOS ativa a troca de trifosfato de guanosina (GTP) por difosfato de guanosina (GDP) na Ras, causando uma alteração conformacional na Ras que promove a ligação da proteína Raf. A Raf é uma serina-proteína-quinase que é também chamada de MAPKKK (quinase da quinase da quinase da proteína ativada por mitógeno, do inglês *mitogen activated protein kinase kinase kinase*). A Raf inicia uma seqüência de etapas de fosforilação sucessivas chamada de cascata de fosforilação (quando uma quinase em uma cascata é fosforilada, ela se liga e fosforila a enzima seguinte na cascata). A cascata da MAP-quinase termina em um fator de transcrição gênica, regulando, assim, a transcrição de certos genes envolvidos na sobrevivência e na proliferação da célula.

Muitos receptores tirosina-quinase (bem como os receptores hepta-helicoidais) também têm vias de sinalização adicionais envolvendo fosfatos de fosfatidilinositol.

2. FOSFATOS DE FOSFATIDILINOSITOL NA TRANSDUÇÃO DE SINAL

Os fosfatidilinositol-fosfatos têm duas funções diferentes na transdução de sinal: (1) o fosfatidilinositol-4',5'-bisfosfato (PI-4,5-bisP) pode ser clivado para gerar os dois segundos mensageiros intracelulares, diacilglicerol (DAG) e inositol-trifosfato (IP_3), e (2) o fosfatidilinositol-3',4',5'-trifosfato (PI-3,4,5-triP) pode servir como sítio de ancoragem da membrana plasmática para as proteínas da transdução de sinal.

O fosfatidilinositol, o qual está presente na folha interna da membrana plasmática, é convertido a PI-4,5-bisP por quinases que fosforilam o anel inositol nas posições 4' e 5' (Figura 11.12). O PI-4,5-bisP, o qual tem três grupamentos fosfato, é clivado por uma isoenzima da fosfolipase C para gerar IP_3 e DAG. A isoenzima fosfolipase C_γ (PLC_γ, do inglês *phospholipase isozyme*C_γ) é ativada por receptores tirosina-quinase de fatores de crescimento, e a fosfolipase C_β é ativada por uma rota de transdução de sinal de receptor-proteína G hepta-helicoidal.

O PI-4,5-bisP também pode ser fosforilado na posição 3' do inositol pela enzima fosfatidilinositol-3'-quinase (PI-3-quinase) para formar PI-3,4,5-triP (ver Figura 11.12). O PI-3,4,5-triP (e o PI-3,4-bisP) forma sítios de ancoragem da membrana para as proteínas contendo certas seqüências de aminoácidos chamadas de domínios de homologia de plecstrina (PH, do inglês *pleckstrin homology*). A PI-3-quinase contém um domínio SH2 e é ativada pela ligação a um sítio de fosfotirosina específico no receptor tirosina-quinase ou na proteína associada ao receptor.

3. O RECEPTOR DE INSULINA

O receptor de insulina, um membro da família de receptores tirosina-quinase, é um bom exemplo de divergência na rota de transdução de sinal. Diferentemente de outros receptores de fatores de crescimento, o receptor de insulina existe na membrana como um dímero pré-formado, com cada metade contendo uma subunidade α e uma β (Figura 11.13). As



A insulina é um fator de crescimento que é essencial para a viabilidade e o crescimento celulares. Ela aumenta a síntese protéica de forma geral, a qual afeta bastante a massa muscular. Contudo, ela também regula a disponibilidade imediata e o armazenamento de nutrientes, incluindo o transporte de glicose no músculo esquelético e a síntese de glicogênio. Assim, **Di Abietes** e outros pacientes com diabetes melito tipo I, nos quais falta insulina, rapidamente desenvolvem hiperglicemia quando a insulina diminui para níveis muito baixos. Eles também exibem "perda" muscular. Para mediar os diversos papéis regulatórios da insulina, a rota de transdução de sinal diverge após a ativação do receptor e a fosforilação de IRS, o qual tem múltiplos sítios de ligação para diferentes proteínas mediadoras de sinal.

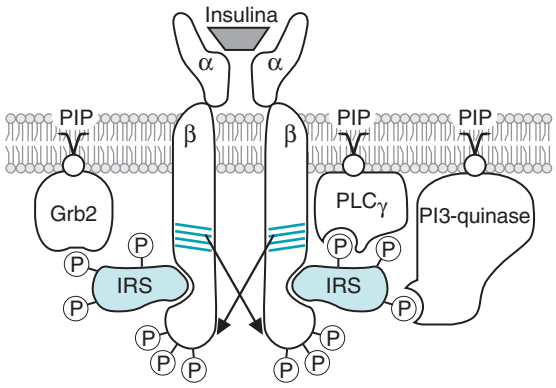


Figura 11.13 Sinalização do receptor de insulina. O receptor de insulina é um dímero de dois pares α-β que atravessa a membrana. Os domínios de tirosina-quinase são mostrados em azul, e as setas indicam a autofosforilação cruzada. O receptor ativado liga moléculas IRS e fosforila o IRS em múltiplos sítios, formando, assim, sítios de ligação para as proteínas com domínios SH2: Grb2, fosfolipase C_γ (PLC_γ) e PI-3-quinase. Essas proteínas são associadas a vários fosfatidilinositol-fosfatos (todos indicados com PIP) na membrana plasmática.

subunidades β autofosforilam uma à outra quando ocorre a ligação da insulina, ativando, assim, o receptor. O receptor fosforilado ativado liga uma proteína chamada de IRS (substrato do receptor de insulina, do inglês *insulin receptor substrate*). A quinase do receptor ativada fosforila o IRS em vários locais, criando múltiplos sítios de ligação para diferentes proteínas com domínios SH2. Um dos sítios liga Grb2, levando à ativação da Ras e da rota da MAP-quinase. A Grb2 é ancorada ao PI-3,4,5-triP na membrana plasmática por seu domínio PH (homologia de plecstrina). Em outro sítio fosfotirosina, a PI-3-quinase se liga e é ativada. Em um terceiro sítio, a fosfolipase C_γ (PLC_γ) se liga e é ativada. O receptor de insulina também pode transmitir o sinal por uma ancoragem direta com outros intermediários da transdução de sinal.

A rota de sinalização iniciada pelo complexo do receptor de insulina envolvendo a PI-3-quinase leva à ativação de proteína-quinase B, uma serina/treonina-quinase que medeia muitos efeitos *downstream* da insulina (Figura 11.14). A PI-3-quinase liga e fosforila PI-4,5-bisP na membrana para formar PI-3,4,5-triP. A proteína-quinase B e a PDK1 (quinase 1 fosfoinositídeo-dependente, do inglês *phosphoinositide-depedent*

A proteína-quinase B é uma serina/treonina-quinase, também conhecida como Akt. Uma das rotas de transdução de sinal da proteína-quinase B (Akt) leva aos efeitos da insulina sobre o metabolismo da glicose. Outras vias há tempo associadas à Akt resultam na fosforilação de um grupo de outras proteínas que afetam o crescimento celular, a entrada da célula no ciclo celular e a sobrevivência celular. Em geral, a fosforilação dessas proteínas pela Akt inibe a sua ação e promove a sobrevida celular.

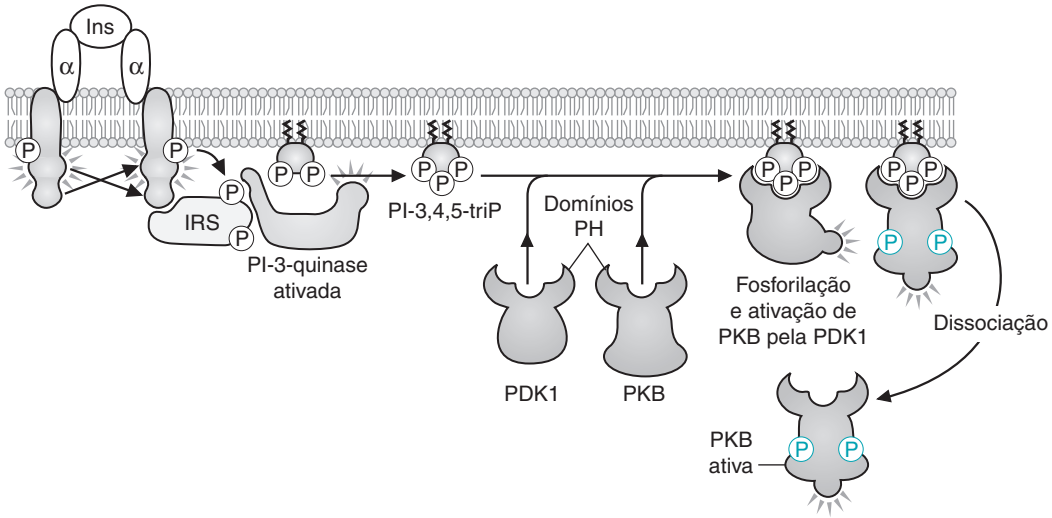


Figura 11.14 A rota de transdução de sinal do receptor de insulina/proteína-quinase B. Ins, insulina; IRS, substrato do receptor de insulina; domínio PH, domínio de homologia de plecstrina; PDK1, proteína-quinase 1 fosfoinositídeo-dependente; PKB, proteína-quinase B. A etapa de fosforilação final que ativa PKB é mostrada em azul.

kinase-1) são recrutadas para a membrana pelos seus domínios PH, onde a PDK1 fosforila e ativa a proteína-quinase B. Muitas outras proteínas transdutoras de sinal têm domínios PH e ficam ancoradas na membrana, onde podem se achar e se ligar umas às outras. Assim, o sinal da insulina se ramifica repetidamente. A insulina é discutida em mais detalhes nos Capítulos 26, 36 e 43.

C. Transdução de Sinal por Receptores Jak-STAT

Os receptores associados à tirosina-quinase, chamados de receptores Jak-STAT, com freqüência são utilizados por citocinas para regular a proliferação de certas células envolvidas na resposta imune (ver Figura 11.9B). O receptor não tem, ele mesmo, atividade intrínseca de tirosina-quinase, mas liga (associa-se a) a tirosina-quinase JAK (janus-quinase). Suas proteínas transdutoras de sinal, chamadas de STAT (transdutora de sinal e ativadora de transcrição, do inglês *signal transducer and activator of transcription*), são, elas mesmas, fatores de transcrição gene-específicos. Assim, os receptores JAK-STAT têm um rota mais direta de propagação de sinal para o núcleo do que os receptores tirosina-quinase.

Embora Jak seja um acrônimo para *janus kinase,* foi sugerido que ela significaria *just another kinase**. Ela recebeu esse nome a partir de Janus, um deus romano de duas cabeças.

Cada monômero do receptor tem um domínio extracelular, uma região que atravessa a membrana, e um domínio intracelular. Quando a citocina se liga a estes receptores, eles formam dímeros (homodímeros ou heterodímeros, entre duas moléculas distintas de receptor) e podem se agrupar (Figura 11.15). As JAK ativadas fosforilam uma à outra e os resíduos de tirosina intracelulares no receptor, formando sítios de fosfotirosina de ligação para o domínio SH2 de uma STAT. As STAT estão inativas no citoplasma até que se liguem ao complexo do receptor, onde também são fosforiladas pela JAK ligada. A fosforilação altera a conformação da STAT, fazendo com que ela se dissocie do receptor e se dimerize com outra STAT fosforilada, formando, assim, um fator de transcrição ativado. O dímero de STAT se transloca para o núcleo e se liga a um elemento responsivo no DNA, regulando, assim, a transcrição gênica.

Existem muitas proteínas STAT diferentes, cada uma com uma pequena diferença na seqüência de aminoácidos. Os receptores para citocinas diferentes se ligam a STAT distintas, as quais, então, formam heterodímeros em várias combinações. Essa microheterogeneidade permite que citocinas diferentes atuem sobre genes distintos.

D. Receptores Serina/Treonina-Quinases

As proteínas na superfamília do fator de crescimento de transformação utilizam receptores que têm atividade de serina/treonina-quinase e se associam a proteínas da família Smad, as quais são fatores de transcrição gene-específicos (ver Figura 11.9C). Essa superfamília inclui o fator de crescimento β de transformação (TGF-β, do inglês *transforming growth factor*), uma citocina/hormônio envolvida no reparo tecidual, na regulação imune e na proliferação celular, e proteínas morfogenéticas ósseas (BMP, do

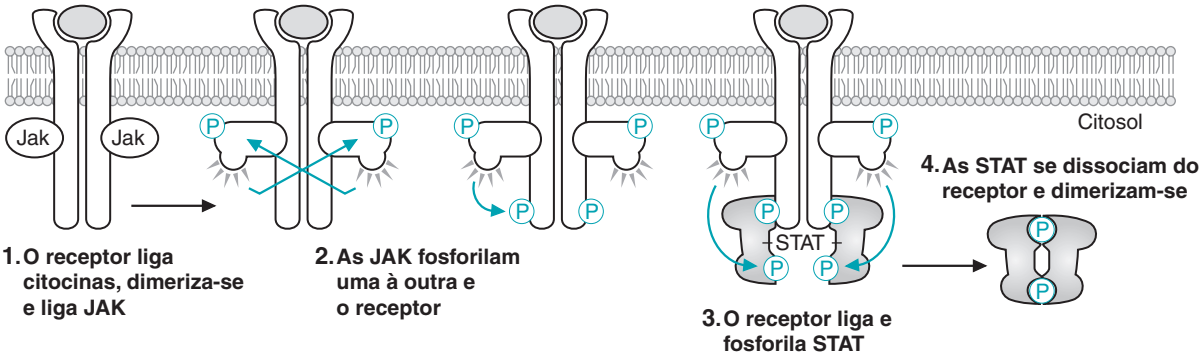


Figura 11.15 Etapas na sinalização do receptor JAK-STAT.

* N. de T. Apenas mais uma quinase.

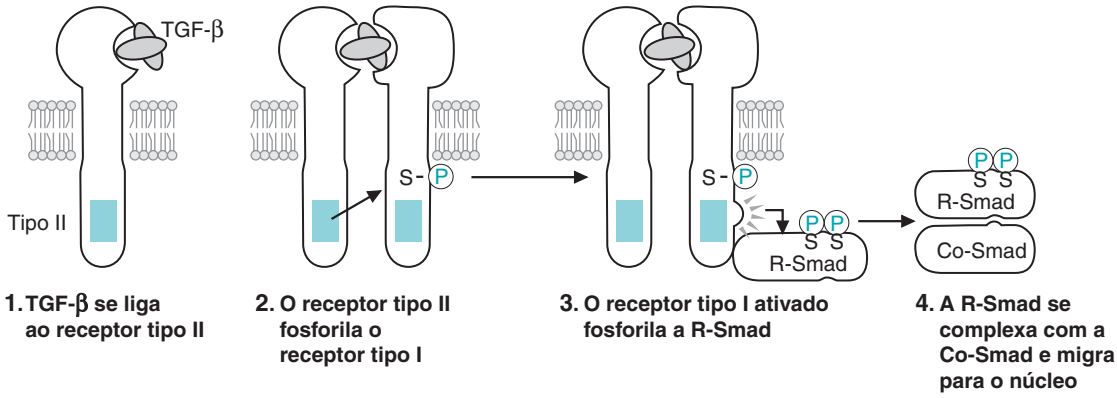


Figura 11.16 Receptores serina/treonina e proteínas Smad. O TGF-β, o qual é composto de duas subunidades idênticas, comunica-se por um dímero de receptor de subunidades dos tipos I e II que têm domínios serina-quinase. O receptor tipo I fosforila uma R-Smad (Smad receptor-específica), a qual liga uma Co-Smad (Smad comum, também chamada de Smad 4).

inglês *bone morphogenetic proteins*), as quais controlam a proliferação, a diferenciação e a morte celular durante o desenvolvimento.

Uma versão simplificada da ligação do TGF-β ao seu complexo de receptor e a ativação de Smads estão ilustradas na Figura 11.16. O complexo do receptor de TGF-β é composto de duas subunidades diferentes do receptor que atravessam apenas uma vez a membrana (tipo I e tipo II), as quais têm funções diferentes, embora ambas tenham domínios serina-quinase. O TGF-β se liga ao receptor tipo II. O receptor tipo II ativado recruta um receptor tipo I, o qual ele fosforila em um resíduo de serina, formando um complexo de receptor ativado. O receptor tipo I, então, liga-se a uma proteína Smad receptor-específica (chamada de R-Smad), a qual ele fosforila em resíduos de serina. A R-Smad fosforilada sofre uma alteração conformacional e se dissocia do receptor. Ela, então, forma um complexo com um outro membro da família Smad, a Smad 4 (conhecida como Smad comum, Co-Smad, e não é fosforilada). O complexo Smad, o qual contém várias Smads, transloca-se para o núcleo, onde ativa ou inibe a transcrição de genes-alvo. Os receptores para ligantes diferentes se ligam a Smads distintas, as quais se ligam a sítios diferentes no DNA e regulam a transcrição de genes distintos.

E. Transdução de Sinal por Receptores Hepta-Helicoidais

Os receptores hepta-helicoidais receberam esse nome por terem sete domínios que atravessam a membrana, os quais são hélices α (ver Figura 11.10; ver também Capítulo 7, Figura 7.10). Embora centenas de hormônios e neurotransmissores funcionem por receptores hepta-helicoidais, o domínio de ligação extracelular de cada receptor é específico para apenas um hormônio polipeptídico, catecolamina ou neurotransmissor (ou seu análogo estrutural próximo). Os receptores hepta-helicoidais não possuem atividade intrínseca de quinase, mas iniciam a transdução de sinal por proteínas G heterotriméricas compostas de subunidades α, β e γ. Contudo, tipos diferentes de receptores hepta-helicoidais ligam proteínas G distintas, e proteínas G diferentes exercem efeitos distintos sobre suas proteínas-alvo.

1. PROTEÍNAS G HETEROTRIMÉRICAS

A função de proteínas G heterotriméricas está ilustrada na Figura 11.17 utilizando um hormônio que ativa a adenilil-ciclase (p. ex., glucagon ou adrenalina). Enquanto a subunidade α contiver GDP ligado, ela permanece associada as subunidades β e γ, tanto livre na membrana quanto ligada a um receptor não-ocupado (ver Figura 11.17, parte 1). Quando o hormônio se liga, ele causa uma alteração conformacional no receptor que ativa a dissociação do GDP e a ligação do GTP. A troca do GTP pelo GDP ligado causa a dissociação da subunidade α do receptor e das subunidades β e γ (ver Figura 11.17, parte 2). As subunidades α e β são fixadas no lado intracelular da membra-

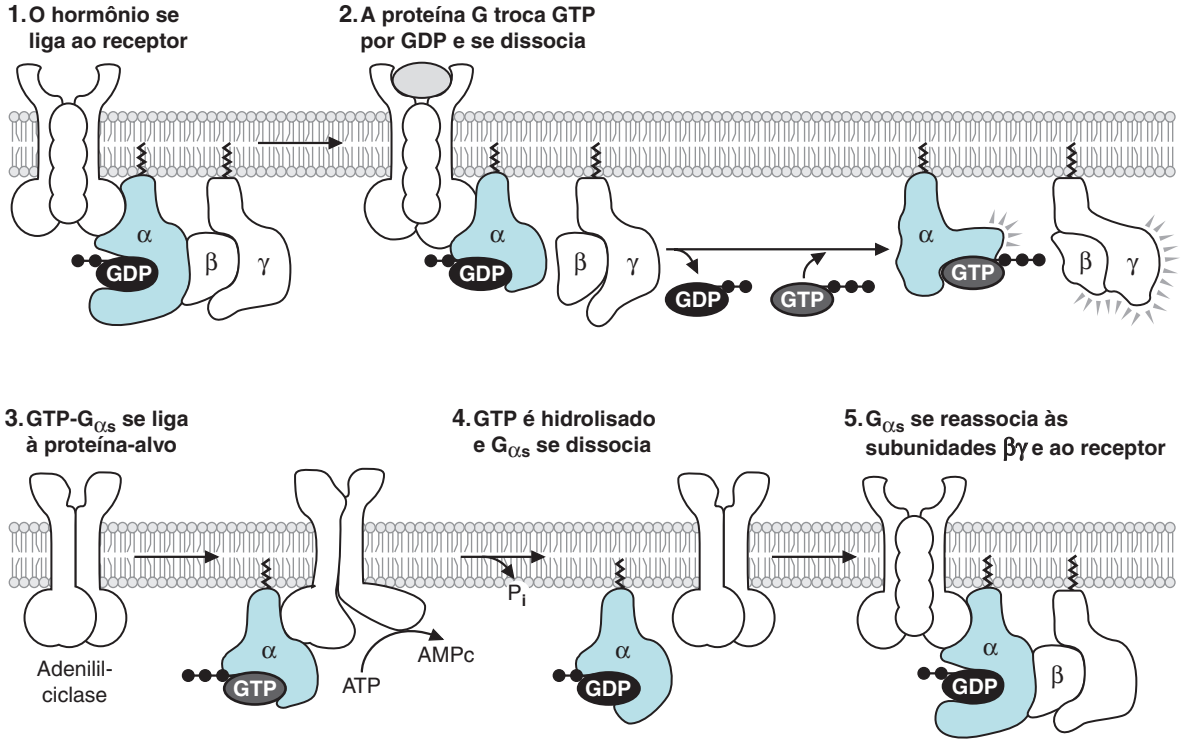


Figura 11.17 Receptores hepta-helicoidais e proteínas G heterotriméricas. (1) Os domínios intracelulares do receptor formam um sítio de ligação para uma proteína G contendo GDP ligado à subunidade α. (2) A ligação do hormônio ao receptor promove a troca de GDP por GTP. Como resultado, o complexo se desmonta, liberando a subunidade α da proteína G do complexo βγ. (3) A subunidade α da G_s se liga a uma enzima-alvo, alterando, assim, a sua atividade. O complexo βγ pode interagir simultaneamente com uma outra proteína e alterar a sua atividade. (4) Com o tempo, o GTP ligado é hidrolisado a GDP, causando a dissociação entre a subunidade α e a adenilil-ciclase. A subunidade α-GDP se reassocia à subunidade βγ e ao receptor.

A importância da terminação do sinal é ilustrada pelo "relógio interno" das proteínas G, o qual é a taxa de hidrólise espontânea de GTP a GDP. Mutações no *ras* (o gene que codifica a Ras), que diminui a taxa de hidrólise de GTP, são encontradas em cerca de 20 a 30% de todos os cânceres humanos, incluindo aproximadamente 25% dos cânceres de pulmão, 50% dos cânceres de cólon e mais de 90% dos cânceres do pâncreas. Nessas mutações da Ras, a hidrólise de GTP está diminuída, e a Ras permanece presa na forma ativa de GTP ligado, em vez de normalmente alternar entre o estado ativo e o inativo em resposta a sinais extracelulares. Como conseqüência, as rotas da MAP-quinase estão continuamente estimuladas e levam à proliferação celular, mesmo na ausência de fatores de crescimento que seriam necessários para a ativação do *ras* em células normais.

na plasmática por âncoras de lipídeos, mas ainda podem se deslocar na superfície da membrana. A subunidade α-GTP se liga à sua enzima-alvo na membrana, alterando, assim, a sua atividade. Nesse exemplo, a subunidade α se liga e ativa a adenilil-ciclase, aumentando, assim, a síntese de AMPc (ver Figura 11.17, parte 3).

Com o tempo, a subunidade Gα se inativa pela hidrólise de seu próprio GTP ligado a GDP e Pi. Essa ação não é relacionada com o número de moléculas de AMPc formadas. Assim como as proteínas G monoméricas, a subunidade α-GDP, então, se dissocia de sua proteína-alvo, a adenilil-ciclase (ver Figura 11.16, parte 4). Ela refaz o complexo de proteína G trimérica, o qual pode voltar a se ligar ao receptor do hormônio desocupado. Como resultado desse "relógio interno" de GTPase, elevações sustentadas de níveis hormonais são necessárias para a transdução de sinal continuada e a elevação de AMPc.

Um grande número de complexos de proteína G heterotrimérica diferentes é, em geral, classificado de acordo com a atividade da subunidade α (Tabela 11.1). As 20 ou mais isoformas diferentes de Gα são distribuídas em quatro grandes categorias: $G\alpha_s$, $G\alpha_{i/0}$, $G\alpha_{q/11}$ e $G\alpha12/13_{13}$. $G\alpha_s$ se refere a subunidades α, as quais, como a da Figura 11.17, estimulam a adenilil-ciclase (o "s" do inglês *stimulate*). As subunidades Gα que

A acetilcolina tem dois tipos de receptores: receptores de canal iônico nicotínicos, os quais são inibidos por anticorpos na miastenia grave, e receptores muscarínicos, os quais existem como uma variedade de subtipos. Os receptores muscarínicos M2 ativam uma proteína G heterotrimérica, a $G\alpha_{i/0}$, na qual a liberação da subunidade βγ controla os canais de K^+ e a atividade de marcapasso no coração. A adrenalina tem vários tipos e subtipos de receptores hepta-helicoidais: os receptores β funcionam por uma $G\alpha_s$ e estimulam a adenilil-ciclase; os receptores α_2 em outras células funcionam por uma proteína $G\alpha_i$ e inibem a adenilil-ciclase; os receptores α_1 funcionam por subunidades $G\alpha_q$ e ativam a fosfolipase C_β. Essa variedade de tipos de receptor permite que um mensageiro tenha ações diferentes em células distintas.

Tabela 11.1 Subunidades de Proteínas G Heterotriméricas

Subunidades Gα	Ação	Alguns Usos Fisiológicos
α_s; Gα (s)*	Estimula a adenilil-ciclase	Glucagon e adrenalina para regular enzimas metabólicas, hormônios polipeptídicos regulatórios para controlar a síntese de hormônios esteróides e hormônio tireoidiano, e por alguns neurotransmissores (p. ex., dopamina) para controlar canais de íons.
$\alpha_{i/0}$; Gα (i/0) (o sinal também flui através das subunidades βγ)	Inibe a adenilil-ciclase	Adrenalina, muitos neurotransmissores incluindo acetilcolina, dopamina, serotonina. Tem um papel na rota de transdução que medeia a detecção de luz pelo olho.
$\alpha_{q/11}$; Gα (q/11)	Ativa a fosfolipase C_β	Adrenalina, acetilcolina, histamina, hormônio estimulante da tireóide (TSH), interleucina 8, somatostatina, angiotensina.
$\alpha_{12/13}$; Gα (12/13)	As conexões fisiológicas ainda não estão bem estabelecidas	Tromboxano A2, ácido lisofosfatídico.

*Existe uma tendência crescente de indicar as subunidades da proteína G heterotrimérica sem utilizar subscrito para que elas sejam mais visíveis.

inibem a adenilil-ciclase são chamadas de $G\alpha_i$. As subunidades βγ da mesma forma existem como isoformas diferentes, as quais transmitem mensagens.

2. ADENILIL-CICLASE E CAMP-FOSFODIESTERASE

O AMPc é considerado como um segundo mensageiro, pois alterações em sua concentração refletem alterações na concentração do hormônio (o primeiro mensageiro). Quando um hormônio se liga, e a adenilil-ciclase é ativada, ela sintetiza AMPc a partir de trifosfato de adenosina (ATP). O AMPc é hidrolisado a AMP pela AMPc-fosfodiesterase, a qual também se localiza na membrana plasmática (Figura 11.18). A concentração de AMPc e de outros segundos mensageiros é mantida em níveis muito baixos nas células pelo balanço da atividade dessas duas enzimas, de tal modo que os níveis de AMPc podem se alterar rapidamente quando os níveis do hormônio se alteram. Alguns hormônios alteram a concentração de AMPc agindo sobre a enzima fosfodiesterase em vez de agir sobre a adenilil-ciclase. Por exemplo, a insulina diminui os níveis de AMPc, causando a ativação da fosfodiesterase.

O AMPc exerce diversos efeitos nas células. Ele é um ativador alostérico de proteína-quinase A (ver Capítulo 9, Seção III.B.3), a qual é uma serina/treonina-proteína-quinase que fosforila um grande número de enzimas metabólicas, fornecendo, assim, uma resposta rápida a hormônios como o glucagon e a adrenalina. As subunidades catalíticas da proteína-quinase A também entram no núcleo e fosforilam um fator de transcrição gene-específico chamado de CREB (proteína de ligação do elemento responsivo ao AMPc, do inglês *cyclic AMP response element-binding protein*). Assim, o AMPc também ativa uma rota de resposta mais lenta, a transcrição gênica. Em outros tipos celulares, o AMPc ativa diretamente canais regulados por ligantes.

3. SINALIZAÇÃO DE FOSFATIDILINOSITOL POR RECEPTORES HEPTA-HELICOIDAIS

Certos receptores hepta-helicoidais se ligam à isoforma q da subunidade Gα ($G\alpha_q$), a qual ativa a enzima-alvo fosfolipase C_β (ver Figura 11.12). Quando ativada, a fosfolipase C_β hidrolisa o lipídeo de membrana fosfatidilinositol-bisfosfato (PI-4,5-bisP) em dois segundos mensageiros, o diacilglicerol (DAG) e o 1,4,5-inositol-trifosfato (IP_3). O IP_3 tem um sítio de ligação no retículo sarcoplasmático e no retículo endoplasmático que estimula a liberação de Ca^{2+} (Figura 11.19). O Ca^{2+} ativa as enzimas contendo a subunidade cálcio-calmodulina, incluindo uma proteína-quinase. O diacilglicerol, o qual permanece na membrana, ativa a proteína-quinase C, a qual, então, propaga a resposta fosforilando proteínas-alvo.

F. Alterações na Resposta a Sinais

Os tecidos variam em sua habilidade de responder a uma mensagem por alterações na atividade ou no número de receptores. Muitos receptores contêm sítios de fosforilação intracelulares que alteram sua habilidade de transmitir sinais. O número de receptores



Dennis Veere foi hospitalizado por desidratação causada pela toxina do cólera (ver Capítulo 10). A toxina A do cólera foi absorvida pelas células da mucosa intestinal, onde foi processada e formou um complexo com a Arf (fator de ADP-ribosilação), uma proteína G pequena normalmente envolvida no transporte vesicular. A toxina A do cólera é uma NAD-glicoidrolase, a qual cliva NAD e transfere a porção de ribose do ADP para outras proteínas. Ela ADP-ribosila a subunidade $G\alpha_s$ de proteínas G heterotriméricas, inibindo, assim, suas atividades de GTPase. Como conseqüência, elas permanecem ligadas ativamente à adenilil-ciclase, resultando em produção aumentada de AMPc. O canal CFTR é ativado, resultando em secreção de íon cloreto e íon Na^+ para dentro do lúmen intestinal. A secreção de íon é seguida de perda de água, que resulta em vômito e diarréia aquosa.



Algumas rotas de sinalização se cruzam a partir da via da MAP-quinase para fosforilar a CREB, e todas as rotas de proteínas G heterotriméricas se ramificam para incluir uma rota até a via da MAP-quinase. Esses tipos de interconexões complexas nas rotas de sinalização são algumas vezes chamados de comunicações cruzadas entre hormônios (*hormone cross-talk*).

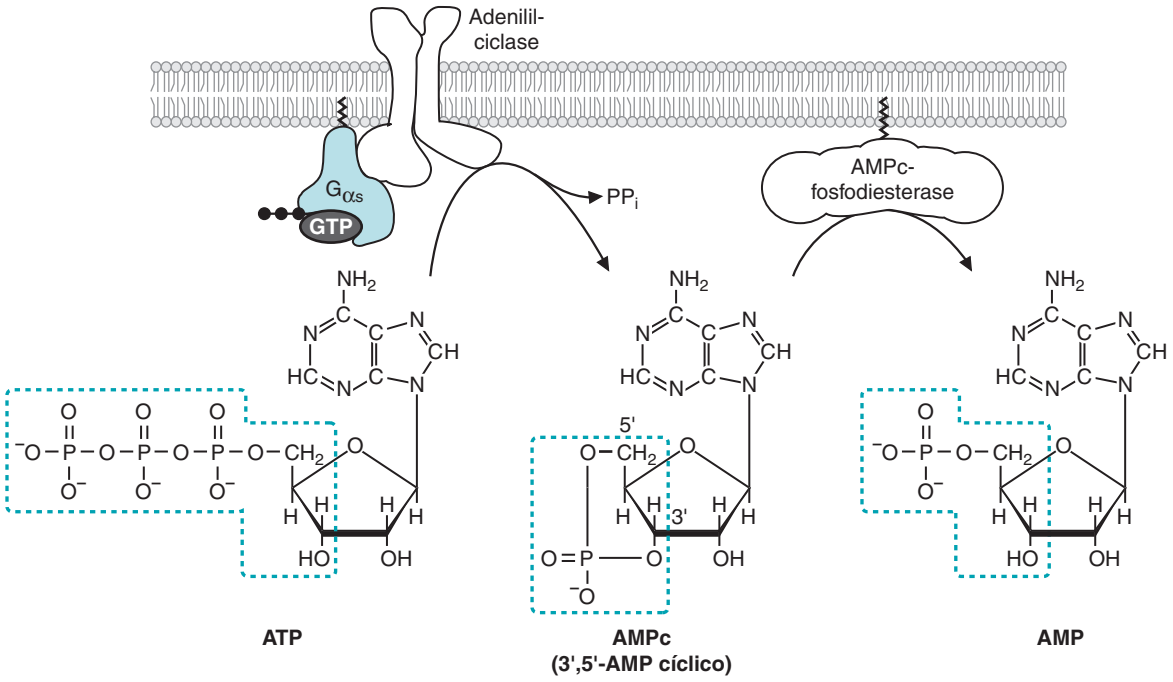


Figura 11.18 Formação e clivagem da ligação cíclica fosfodiéster no AMPc. Quando ativada por $G\alpha_s$, a adenilil-ciclase converte ATP em 3′,5′-AMP cíclico + PP_i. A AMPc-fosfodiesterase hidrolisa AMPc a AMP.

Na mistenia grave, o aumento da endocitose e da degradação de receptores de acetilcolina leva a uma rota de transdução de sinal que diminui a síntese de novos receptores. Assim, a regulação por diminuição (*downregulation*) de receptores de acetilcolina é parte dessa doença.

também é modificado por meio de regulação por diminuição (*downregulation*). Depois que um hormônio se liga ao receptor, o complexo hormônio-receptor deve ser levado para dentro da célula pelo processo de endocitose em invaginações recobertas por clatrina (ver Capítulo 10, Seção III.B.1). Os receptores podem ser degradados ou reciclados novamente para a superfície celular. Essa internalização de receptores diminui o número disponível na superfície sob condições de níveis hormonais altos constantes quando mais receptores são ocupados por hormônios e resulta na síntese diminuída de novos receptores. Por isso, ela é chamada de *downregulation*.

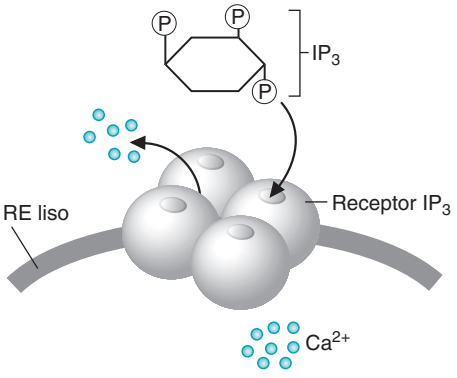


Figura 11.19 Liberação de cálcio do retículo endoplasmático pela sinalização do IP_3.

IV. TERMINAÇÃO DO SINAL

Alguns sinais, como aqueles que modificam as respostas metabólicas das células ou transmitem impulsos neurais, precisam ser interrompidos rapidamente quando o hormônio não é mais produzido. Outros sinais, como aqueles que estimulam a proliferação, são interrompidos mais lentamente. Ao contrário, sinais regulando a diferenciação podem persistir por toda a vida. Muitas doenças crônicas são causadas por falha em terminar a resposta no tempo apropriado.

O primeiro nível de terminação é o próprio mensageiro químico (Figura 11.20). Quando o estímulo não é mais aplicado à célula secretora, o mensageiro não é mais secretado, e o mensageiro existente é catabolizado. Por exemplo, muitos hormônios polipeptídicos, como a insulina, são captados no fígado e degradados. A terminação do sinal de acetilcolina pela acetilcolinesterase já foi mencionada.

Dentro de cada rota de transdução de sinal, o sinal deve ser interrompido em etapas específicas. O receptor pode ser dessensibilizado para o mensageiro por fosforilação. As proteínas G, tanto monoméricas quanto heterotriméricas, terminam automaticamente as mensagens à medida que hidrolisam GTP. A terminação também pode ser obtida pela degradação do segundo mensageiro (p. ex., a clivagem do AMPc pela fosfodiesterase). Cada um desses processos de terminação é altamente regulado.

Outra rota importante para reverter a mensagem é por proteína-fosfatases, enzimas que revertem a ação de quinases pela remoção de grupos fosfato de proteínas. Tirosina ou serina/treonina-fosfatases específicas (enzimas que removem grupos fosfato de proteínas específicas) existem para todos os sítios fosforilados por quinases de transdução de sinal. Alguns receptores são até mesmo proteína-fosfatases.

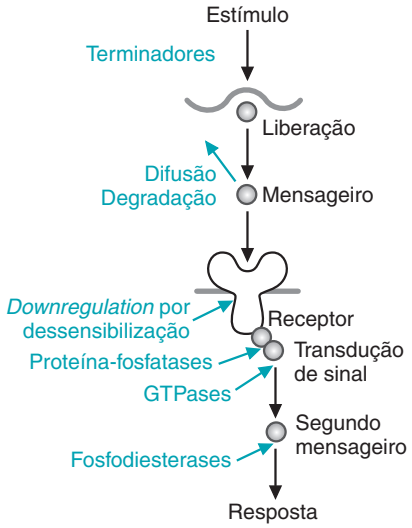


Figura 11.20 Sítios de terminação do sinal. Os processos que terminam o sinal são mostrados em azul.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Mya Sthenia. Mya Sthenia tem miastenia grave, uma doença auto-imune causada pela produção de anticorpos direcionados contra o receptor nicotínico da acetilcolina nos músculos esqueléticos. O diagnóstico é feito por história (presença de sintomas musculares típicos), exame físico (presença de inabilidade de realizar atividade muscular repetitiva específica durante algum tempo) e exames como a inibição da atividade de acetilcolinesterase. O diagnóstico pode ser ainda confirmado com um eletromiograma (EMG), mostrando um bloqueio parcial do fluxo de íons através das membranas musculares, e com um procedimento diagnóstico envolvendo estimulação elétrica repetitiva do nervo.

Ann O'Rexia. A anorexia nervosa se apresenta como uma auto-imagem visual distorcida freqüentemente associada a exercício compulsivo. Embora Ann tenha ganhado peso, ela ainda tem níveis baixos de substratos energéticos estocados necessários para sustentar as necessidades metabólicas do exercício. Seu jejum prolongado resultou em liberação do hormônio esteróide cortisol e do hormônio polipeptídico glucagon, enquanto os níveis do hormônio polipeptídico insulina diminuíram. O cortisol ativa a transcrição de genes de algumas enzimas da gliconeogênese (a síntese de glicose a partir de aminoácidos e outros precursores; ver Capítulo 3). O glucagon se liga a receptores hepta-helicoidais no fígado e no tecido adiposo e, agindo por AMPc e proteína-quinase A, ativa muitas enzimas envolvidas no metabolismo de substratos energéticos no jejum. A insulina, a qual é liberada quando a paciente toma seu suplemento rico em energia, age por um receptor tirosina-quinase especializado para promover o armazenamento de substratos energéticos. A adrenalina, uma catecolamina liberada quando ela faz exercícios físicos, promove a mobilização de substratos energéticos.

Dennis Veere. Na emergência, Dennis recebeu terapia de reidratação intravenosa (soro fisiológico [0,9% NaCl]) e terapia de reidratação oral com solução de glicose-eletrólitos para aumentar a captação de glicose dependente de Na^+ do lúmen intestinal (ver Capítulo 10). Dennis se recuperou rapidamente do surto de cólera. O cólera é autolimitante, possivelmente devido ao fato de a bactéria permanecer no intestino, onde é expelida do sistema pela diarréia aquosa profusa. Durante os últimos três anos, **Percy Veere** tem perseverado após a morte de sua esposa e as calamidades subseqüentes de seu neto Dennis "o travesso" Veere, incluindo o envenenamento por salicilato, a suspeita de envenenamento por malatião e, agora, o cólera. O Sr. Veere decidiu mandar seu neto para casa pelo resto do verão.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Receptores com domínio de morte celular (*death domain*). A citocina TNF (fator de necrose tumoral, do inglês *tumor necrosis factor*) utiliza um tipo de receptor com domínio de morte celular (Figura 11.21). Esses receptores funcionam como um trímero quando se ligam ao TNF (que também é um trímero). Na ligação de TNF, uma proteína inibitória chamada de "silenciador de morte celular" (*silencer of death*) é liberada do receptor. O receptor, então, liga-se e ativa várias proteínas adaptadoras. Uma proteína adaptadora, a FADD (domínio de morte celular associado à fas, do inglês *fas-associated death domain*), recruta e ativa a forma zimogênio de uma enzima proteolítica chamada de caspase. As caspases iniciam uma

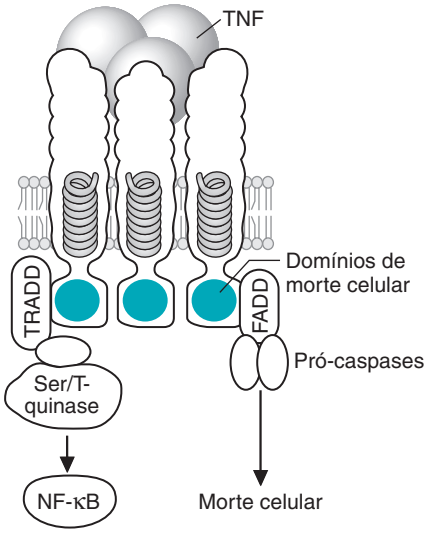


Figura 11.21 Receptores com domínio de morte celular. A porção do receptor mostrada em azul é chamada de domínio de morte celular, pois liga proteínas adaptadoras que iniciam diferentes rotas de sinalização, levando à morte celular. A proteína adaptadora FADD forma uma estrutura na qual as pró-caspases proteolíticas clivam umas às outras, iniciando, assim, uma rota de morte celular. A proteína adaptadora TRADD liga uma proteína que liga uma serina/treonina-quinase (Ser/T-quinase), a qual inicia uma outra rota de sinalização, levando à ativação do fator de transcrição NF-κB.

As caspases são enzimas proteolíticas que têm um papel crucial na morte celular programada (também chamada de apoptose) (ver Capítulo 16). As caspases estão presentes como zimogênios latentes até sua autoproteólise (autoclivagem) ser ativada por "sinais de morte celular" para o complexo de receptor. Uma vez ativadas, elas trabalham sistematicamente para destruir uma célula pela degradação de uma ampla variedade de proteínas, como as enzimas de reparo de DNA e as proteínas estruturais celulares.

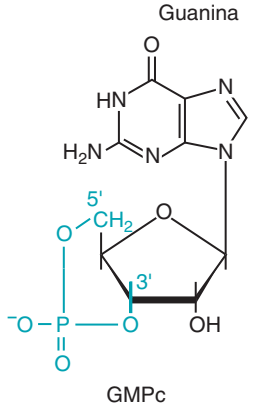


Figura 11.22 Estrutura do 3',5'-GMP cíclico (GMPc).

rota de transdução de sinal que leva à apoptose (morte celular programada) (ver Capítulo 18). Uma outra proteína adaptadora, a TRADD (domínio de morte celular associado ao TNF, do inglês *TNF receptor-associated death domain*), inicia rotas de sinalização que levam à ativação dos fatores de transcrição gene-específicos Jun e NF-κB (fator nuclear κB, do inglês *nuclear factor-κB*). Por meio dessas rotas, o TNF medeia respostas célula-específicas, como o crescimento e a morte celular, a resposta inflamatória e a função imune.

Receptores guanilil-ciclase. Os receptores guanilil-ciclase convertem GTP ao segundo mensageiro 3',5' GMP cíclico (GMPc), o qual é análogo ao AMPc (Figura 11.22). Assim como o AMPc, o GMPc é degradado por uma fosfodiesterase ligada à membrana. A elevação dos níveis de GMPc ativa a proteína-quinase G, a qual, então, fosforila proteínas-alvo para propagar a resposta.

Um dos tipos de guanilil-ciclase existe no citoplasma e é um receptor para o óxido nítrico (NO), um neurotransmissor/neuro-hormônio. O NO é um gás lipofílico capaz de se difundir para dentro da célula. Assim, esse receptor é uma exceção à regra na qual receptores intracelulares são fatores de transcrição gênica. O outro tipo de receptor guanilil-ciclase é um receptor que atravessa a membrana plasmática com um domínio de ligação externo para uma molécula sinalizadora (p. ex., peptídeo natriurético).

Leituras Sugeridas

Signaling Pathways. The May 31, 2002 issue of Science, Vol 296, fornece um resumo de 2 a 3 páginas de muitas vias de sinalização. Os artigos mais relevantes para as rotas discutidas neste capítulo são:

Aaronson DA, Horvath CM. A road map for those who don't know JAK-STAT. Science 2002;296:1653-1655.

Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway. Science 2002;296:1655-1657.

Attisano L, Wrana, JL. Signal transduction by the TGF-β superfamily. Science 2002;296:1646-1647.

Neves SR, Ram PT, Iyengar R. G protein pathways. Science 2002;296:1636-1639.

Chen Q, Goeddel DV. TNF-R1 signaling: A beautiful pathway. Science 2002;296:1634-1635.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 11

1. Qual das seguintes alternativas é uma característica geral de todos os mensageiros químicos?

   (A) Eles são secretados por uma célula, entram no sangue e agem em uma célula-alvo distante.
   (B) Para obter uma resposta coordenada, cada mensageiro é secretado por vários tipo de células.
   (C) Cada mensageiro se liga a um receptor protéico específico na célula-alvo.
   (D) Mensageiros químicos devem entrar nas células para transmitir sua mensagem.
   (E) Mensageiros químicos são metabolizados a segundos mensageiros intracelulares para transmitir sua mensagem.

2. Qual das seguintes alternativas é uma característica de mensageiros químicos que se ligam a receptores de fatores de transcrição intracelulares?

   (A) Eles são, normalmente, citocinas ou hormônios polipeptídicos.
   (B) Eles são, normalmente, neurotransmissores pequenos.
   (C) Eles exercem ações rápidas nas células.
   (D) Eles são transportados através do sangue ligados a proteínas.
   (E) Eles estão sempre presentes em altas concentrações no sangue.

   Use a seguinte história clínica para as questões 3 e 4. Para responder essas questões, você não necessita saber mais sobre hormônio da paratireóide ou pseudo-hipoparatireoidismo do que a seguinte informação.

   O pseudo-hipoparatireoidismo é um distúrbio hereditário causado por um órgão-alvo não-responsivo ao hormônio da paratireóide (um hormônio polipeptídico secretado pela glândula paratireóide). Uma das mutações que causa essa doença ocorre no gene que codifica a $G\alpha_s$ em certas células.

3. O receptor para o hormônio da paratireóide provavelmente é

   (A) um fator de transcrição intracelular.
   (B) uma guanilil-ciclase citoplasmática.
   (C) um receptor que deve ser endocitado em invaginações recobertas por clatrina para transmitir seu sinal.
   (D) um receptor hepta-helicoidal.
   (E) um receptor tirosina-quinase.

4. Essa mutação provavelmente

   (A) é uma mutação com ganho de função.
   (B) diminui a atividade de GTPase da subunidade $G\alpha_s$.
   (C) diminui a síntese de AMPc em resposta ao hormônio da paratireóide.
   (D) diminui a geração de IP_3 em resposta ao hormônio da paratireóide
   (E) diminui a síntese de fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato em resposta ao hormônio da paratireóide.

5. Os domínios SH2 em proteínas são específicos para qual dos seguintes sítios?

   (A) Certas seqüências de aminoácidos contendo um resíduo de fosfotirosina
   (B) PI-3,4,5-trifosfato na membrana
   (C) Ras ativada por GTP
   (D) Ca^{2+}-calmodulina
   (E) Domínios de receptor contendo resíduos de fosfosserina

Esta página foi deixada em branco intencionalmente,

Expressão Gênica e a Síntese de Proteínas

Na metade do século XX, o DNA foi identificado como material genético, e a sua estrutura foi determinada. Usando esse conhecimento, pesquisadores, então, descobriram o mecanismo pelo qual a informação genética é herdada e expressa. Durante os últimos anos do século XX, o conhecimento dessa área crucial da ciência, conhecida como biologia molecular, aumentou bastante. Existem agora técnicas para investigar o genoma humano que irão revolucionar completamente a maneira como a medicina será praticada no século XXI.

O genoma de uma célula consiste em toda sua informação genética, codificada no ácido desoxirribonucleico (do inglês *deoxyribonucleic acid*). Em eucariotos, o DNA está localizado principalmente no núcleo, mas pequenas quantidades são também encontradas na mitocôndria. Genes nucleares são acondicionados em cromossomos que contêm DNA e proteína em estruturas firmemente espiraladas (Capítulo 12).

O mecanismo molecular da hereditariedade envolve um processo conhecido como replicação, no qual as fitas do DNA parental servem como molde para a síntese das cópias do DNA (Figura 1) (Capítulo 13). Após a replicação do DNA, as células dividem-se, e as cópias de DNA são passadas para as células-filhas. Alterações no material genético ocorrem por recombinação (a troca do material genético entre cromossomos) e por mutação (o resultado de mudanças químicas que alteram o DNA). Mecanismos de reparo do DNA corrigem muitos desses danos, mas, no entanto, muitas alterações gênicas são passadas às células-filhas.

A expressão dos genes nas células requer dois processos: transcrição e tradução (ver Figura 1) (Capítulos 14 e 15). O DNA é transcrito para produzir ácido ribonucleico (RNA, do inglês *ribonucleic acid*). Os três principais tipos de RNA são transcritos do DNA e subseqüentemente participam no processo de tradução (a síntese de proteínas). O RNA mensageiro (mRNA) transporta a informação genética do núcleo para o citoplasma, onde a tradução ocorre nos ribossomos, estruturas contendo proteínas associadas a RNA ribossomal (rRNA). O RNA transportador (tRNA) transporta aminoácidos individuais para os ribossomos, onde são unidos por ligações peptídicas para formar proteínas. Durante a tradução, a seqüência de bases do ácido nucleico no mRNA é lida em conjuntos de três (cada conjunto de três bases constitui um códon). A seqüência de códons no mRNA determina a seqüência de aminoácidos na proteína. As proteínas atuam na estrutura celular, na sinalização e na catálise e, portanto, determinam a aparência e o comportamento das células e do organismo como um todo. A regulação da expressão gênica (Capítulo 16) determina quais proteínas são sintetizadas e a quantidade sintetizada a qualquer momento, permitindo, assim, às células passar por desenvolvimento e diferenciação e responder a mudanças nas condições ambientais.

Pesquisas em biologia molecular têm produzido um grande número de técnicas, conhecidas coletivamente como tecnologia do DNA recombinante, biotecnologia ou engenharia genética, que podem ser usadas para o diagnóstico e tratamento de doenças (Capítulo 17). Essas técnicas podem detectar doenças genéticas que anteriormente só poderiam ser diagnosticadas após o surgimento de sintomas. O diagnóstico dessas doenças agora pode ser feito com considerável acurácia, mesmo antes do nascimento, e os portadores também podem ser identificados.

Com o desenvolvimento recente no campo da terapia gênica, doenças que por séculos tinham sido consideradas intratáveis agora são potencialmente curáveis. Muitas

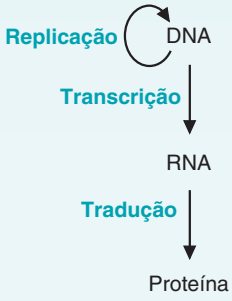


Figura 1. Replicação, transcrição e tradução. Replicação: o DNA serve como molde para a produção de cópias de DNA. Transcrição: o DNA serve como molde para a síntese de RNA. Tradução: o RNA fornece a informação para a síntese de proteínas.



Muitos fármacos usados em medicina para tratar infecções bacterianas são direcionados para interferir na sua habilidade para sintetizar RNA e proteínas. Portanto, estudantes de medicina precisam conhecer o básico da replicação do DNA bacteriano, da síntese de RNA e da síntese de proteínas.



Dilemas éticos têm surgido com os avanços tecnológicos em biologia molecular. Considere o caso de um paciente com uma deficiência moderada de ornitina-transcarbamilase, um defeito no ciclo da uréia que, se não for tratado, leva a elevados níveis de amônia e disfunção do sistema nervoso. O paciente foi efetivamente tratado por dieta de restrição de proteínas. No entanto, em 1999, ele foi tratado com um vírus comum transportando o gene normal para ornitina-transcarbamilase. O paciente desenvolveu uma resposta imune grave ao vírus e morreu em resultado do tratamento. Esse caso histórico suscitou as decisões de consentimento apropriado do paciente, critérios apropriados para ser incluído nesse tipo de estudo e os tipos de doenças para as quais a terapia gênica é apropriada. Essas são decisões que o estudante enfrentará quando iniciar a prática da medicina.



Tumores podem ser benignos ou malignos. Um tumor é maligno se ele invade localmente ou se células desprendem-se do tumor e deslocam-se para outras partes do corpo, onde estabelecem novo crescimento (um processo chamado de metástase), resultando em destruição dos tecidos invadidos. Muitos dos fármacos usados para tratar tumores malignos são direcionados à inibição da replicação do DNA. Esses fármacos quimioterápicos são mais tóxicos para células cancerosas do que para células normais, pois as primeiras dividem-se mais rapidamente. No entanto, tais fármacos também podem inibir rapidamente a divisão celular normal, como a das células da medula óssea (causando uma diminuição na contagem de leucócitos) ou das células do folículo piloso (resultando em perda de cabelo durante a quimioterapia).

das terapias para essas doenças atualmente são experimentais. No entanto, no decorrer do século XXI, médicos poderão usar técnicas de engenharia genética diariamente para o diagnóstico e o tratamento de seus pacientes.

Replicação e divisão celular são processos altamente regulados no homem. Câncer é um grupo de doenças nas quais uma célula no corpo sofreu transformação e começou a crescer e dividir sem parar (Capítulo 18). Isso é o resultado de múltiplas mutações ou mudanças na estrutura do DNA nos genes que ativam o crescimento celular, chamados de proto-oncogenes, e naqueles que asseguram que a replicação do DNA e o reparo sejam normais, chamados de supressores de crescimento ou genes supressores de tumor. Mutações que ativam proto-oncogenes para oncogenes perturbam a regulação do ciclo celular e a taxa de proliferação celular. Mutações que alteram genes supressores de tumor levam a um aumento da incidência das mutações ativadoras de proto-oncogenes. Tais mutações podem ser herdadas, causando uma predisposição para um tipo de câncer. Elas também podem originar-se de erros na replicação ou cópia do DNA que permanecem não-corrigidos, de substâncias químicas ou de radiação que danificam o DNA, de translocação de partes de cromossomos de um cromossomo para outro durante a replicação, ou de incorporação de DNA viral no genoma.

12 Estrutura dos Ácidos Nucleicos

Nucleotídeos no DNA e RNA. Nucleotídeos *são unidades monoméricas dos ácidos nucleicos, DNA (ácido desoxirribonucleico) e RNA (ácido ribonucleico). Cada nucleotídeo consiste em uma* ***base nitrogenada*** *heterocíclica, um* ***açúcar*** *e* ***fosfato****. O* ***DNA*** *contém as bases púricas* ***adenina*** *(A) e* ***guanina*** *(G) e as bases pirimídicas* ***citosina*** *(C) e* ***timina*** *(T). O* ***RNA*** *contém A, G e C, mas tem* ***uracil*** *(U) no lugar da timina. No DNA, o açúcar é a* ***desoxirribose****, enquanto no RNA é a* ***ribose****.*

Polinucleotídeos *como DNA e RNA são seqüências lineares de nucleotídeos unidos por* ***ligações fosfodiéster no sentido 3' para 5'*** *entre os açúcares (Figura 12.1). As bases dos nucletídeos podem interagir com outras bases ou com proteínas.*

Estrutura do DNA*. A informação genética é codificada pela seqüência de diferentes bases de nucleotídeos no DNA. O* ***DNA*** *é formado por* ***dupla fita****; ele contém* ***duas fitas de polinucleotídeos antiparalelas****. As duas fitas são unidas por pontes de hidrogênio entre suas bases para formar* ***pares de bases****.* ***Adenina*** *pareia com* ***timina****, e* ***guanina*** *pareia com* ***citosina****. As duas fitas de DNA são orientadas em* ***direções opostas****. Uma fita orienta-se no sentido 5' para 3', enquanto a outra orienta-se de 3' para 5'. As duas fitas enrolam-se uma ao redor da outra, formando uma* ***dupla hélice****.*

A transcrição de um gene gera um ***RNA de fita simples*** *que é idêntico na seqüência de nucleotídeos a uma das fitas da dupla hélice de DNA. Os três principais tipos de RNA são* ***RNA mensageiro*** *(mRNA),* ***RNA ribossomal*** *(rRNA) e* ***RNA transportador*** *(tRNA).*

Estruturas do RNA*. Os* ***mRNA*** *contêm a seqüência de nucleotídeos que é convertida na seqüência de aminoácidos de uma proteína no processo de tradução. O mRNA eucariótico tem uma estrutura conhecida como* ***capa*** *(cap) na terminação 5', uma seqüência de nucleotídeos da adenina (uma* ***cauda poli[A]****) na terminação 3' e uma* ***região codificadora*** *central contendo códons que determinam a seqüência de aminoácidos em uma proteína ou que emitem um sinal. Cada códon no código genético é uma seqüência diferente de três nucleotídeos.*

Os rRNA e tRNA são parte do aparato para a síntese protéica, mas não codificam proteínas. O ***rRNA*** *tem um intenso* ***pareamento interno de bases*** *e associa-se a proteínas para formar* ***partículas ribonucleoprotéicas*** *chamadas de* ***ribossomos****. Os ribossomos ligam mRNA e tRNA durante a tradução. Cada* ***tRNA*** *liga-se a* ***um aminoácido específico e o ativa*** *para inserção na cadeia polipeptídica, tendo, portanto, alguma diferença na seqüência de nucleotídeos em relação aos outros tRNA. Uma única seqüência de trinucleotídeos em cada tRNA, chamada de* ***anticódon****, liga-se a um códon complementar no mRNA, garantindo, assim, a inserção do aminoácido correto. Apesar das suas diferenças, todos os tRNA contêm nucleotídeos incomuns e assumem uma estrutura similar a um* ***trevo****.*

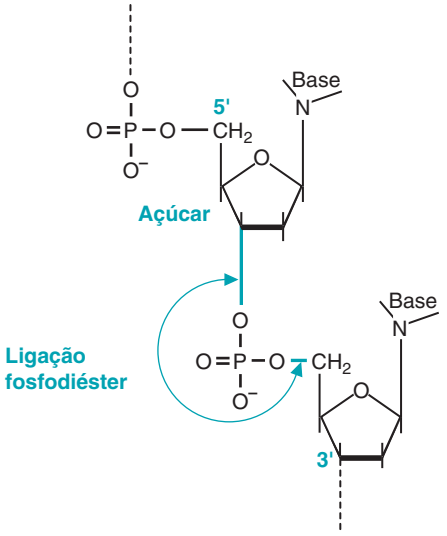


Figura 12.1 Estrutura de um polinucleotídeo. O carbono 5' do açúcar superior e o carbono 3' do açúcar inferior são indicados.

SALA DE ESPERA

Ivy Sharer é uma usuária de drogas intravenosas (IV) de 26 anos que admitiu compartilhar agulhas não-esterilizadas com outros usuários por vários anos. Cinco meses antes de se apresentar na emergência do hospital com suores noturnos intensos, ela teve um episódio de três semanas de síndrome similar a gripe com febre, mal-estar e dores musculares. Quatro meses atrás, ela notou aumento generalizado de linfonodos associado a calafrios, anorexia e diarréia, a qual levou a uma perda de 9,97 kg. Os testes foram positivos para o vírus da imunodeficiência humana (HIV). Como os sintomas indicaram que ela agora tinha a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), um esquema com múltiplos fármacos incluindo zidovudina (ZDV), anteriormente chamada de azidotimidina (AZT), foi iniciado.

Colin Tuma teve pólipos intestinais aos 45 anos, os quais foram removidos por meio de uma colonoscopia. Contudo, ele não retornou para os exames colonoscópicos anuais como havia sido instruído. Aos 56 anos, ele retornou, se queixando de fezes com cor de piche (melena), o que é causado por sangramento intestinal. A fonte da perda de sangue era um adenocarcinoma crescendo a partir de um pólipo colônico no intestino grosso. Na cirurgia, foi visto que o tumor tinha invadido a parede intestinal e perfurado o peritônio visceral. Vários linfonodos pericólicos continham células cancerígenas, e vários nódulos metastáticos de câncer pequenos foram encontrados no fígado. Após ressecção do tumor, o oncologista iniciou um tratamento com 5-fluoruracil (5-FU) combinado com outros agentes quimioterápicos.

Agneu ("neu") Moania se queixa ao seu médico de febre e tosse. A tosse produz escarro amarelo-pardo espesso. Uma coloração do escarro mostra muitos diplococos gram-positivos em forma de bala. Uma cultura do escarro confirma que ele tem pneumonia, uma infecção respiratória causada por *Streptococcus pneumoniae*, o qual é sensível a penicilina, eritromicina, tetraciclina e outros antibióticos. Devido à história de alergia a penicilina, ele iniciou uma terapia oral com eritromicina.

Um adenoma é uma massa de células proliferando rapidamente, chamada de neoplasma (neo = novo; plasma = crescimento), que é formada por células epiteliais crescendo em uma estrutura semelhante a uma glândula. As células que revestem todos os órgãos externos e internos são células epiteliais, e a maioria dos tumores humanos são adenocarcinomas. Pólipos adenomatosos são adenomas que crescem no lúmen do cólon ou reto. O termo *maligno* aplicado a um neoplasma refere-se ao crescimento desregulado invasivo. **Colin Tuma** tem um adenocarcinoma, o qual é um adenoma maligno que começou a crescer, atravessando a parede do cólon para os tecidos adjacentes. Células de adenocarcinomas podem espalhar-se pelo sangue ou pela linfa para outras partes do corpo, onde formam "colônias" tumorais. Esse processo é chamado de metástase.

I. ESTRUTURA DO DNA

A. Localização do DNA

DNA e RNA servem como o material genético para células procarióticas e eucarióticas, para vírus e para plasmídeos, cada um os armazenando em uma disposição ou localização diferente. Em procariotos, o DNA não é separado do restante do conteúdo celular. Em eucariotos, no entanto, o DNA é localizado principalmente no núcleo, onde é separado do restante da célula pela membrana nuclear (ver Figura 10.20). O DNA eucariótico é ligado às proteínas, formando um complexo chamado de cromatina. Durante a interfase (quando as células não estão se dividindo), parte da cromatina está difusa (eucromatina), e parte está densa (heterocromatina), mas não se observam estruturas bem-definidas. No entanto, antes da mitose (quando a célula se divide), o DNA é duplicado, resultando em dois cromossomos idênticos chamados de cromátides-irmãs. Durante a metáfase (um período da mitose), elas se condensam formando cromossomos visíveis e bem-definidos.

Menos de 0,1% do DNA total da célula está presente na mitocôndria. A informação genética em uma mitocôndria está codificada em menos de 20.000 pares de base do DNA; a informação em um núcleo haplóide humano (isto é, um óvulo ou uma célula espermática) é codificada em aproximadamente 3 x 10^9 pares de base (3 bilhões). O DNA e o sistema de síntese de proteínas na mitocôndria lembram mais estritamente o sistema em bactérias, as quais não têm organelas isoladas por mem-

O DNA é uma molécula de dupla fita que forma pares de bases (pb) entre as fitas. A designação pb é freqüentemente usada para indicar o tamanho da molécula de DNA. Por exemplo, em uma extensão de DNA de 200 pb de comprimento, ambas as fitas estão incluídas com 200 bases em cada fita, para um total de 400 bases.

brana, do que aquele nos núcleos de eucariotos e no citoplasma. Isso tem sugerido que as mitocôndrias foram derivadas de antigas bactérias invasoras de células eucarióticas primordiais.

Vírus são pequenas partículas infecciosas consistindo em um DNA ou RNA genômico (mas não de ambos), proteínas necessárias para a patogênese ou replicação e um invólucro protéico. Eles não têm, no entanto, sistemas completos para replicação, transcrição e tradução e, conseqüentemente, devem invadir outras células e comandar o DNA, o RNA e a maquinaria de síntese protéica para reproduzirem-se. Os eucariotos e os procariotos podem ser infectados por vírus. Os vírus que infectam bactérias são conhecidos como bacteriófagos (ou simplesmente fagos).

Plasmídeos são pequenas moléculas de DNA circular que podem entrar na bactéria e replicar autonomamente, isto é, sem depender do genoma do hospedeiro. Ao contrário dos vírus, os plasmídeos não são infecciosos; eles não convertem suas células hospedeiras em fábricas dedicadas à produção de plasmídeos. A engenharia genética usa os plasmídeos como ferramentas para a transferência de genes estranhos para a bactéria, pois segmentos de DNA podem prontamente ser incorporados aos plasmídeos.

B. Determinação da Estrutura do DNA

Em 1865, Frederick Meischer isolou o primeiro DNA, obtido de secreção purulenta raspada de compressas cirúrgicas. Inicialmente, cientistas especularam que o DNA era uma forma de armazenamento celular para fosfatos inorgânicos, uma função importante, mas não excitante, que não despertava grande interesse em determinar sua estrutura. De fato, os detalhes da estrutura do DNA não foram completamente determinados até 1953, quase 90 anos após ter sido isolado pela primeira vez e somente 9 anos depois de ter sido identificado como material genético.

No início do século XX, as bases do DNA foram identificadas como purinas, adenina (A) e guanina (G), e pirimidinas, citosina (C) e timina (T) (Figura 12.2). O açúcar foi identificado como a desoxirribose, um derivado da ribose, sem um grupamento hidroxila no carbono 2 (Figura 12.3).

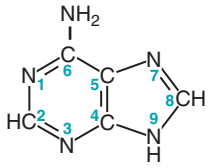
Nucleotídeos, compostos de uma base, um açúcar e fosfato, foram definidos como sendo a unidade monomérica dos ácidos nucleicos (Tabela 12.1). Em nucleosídeos, a base nitrogenada é ligada por uma ligação *N*-glicosídica ao carbono anomérico do açúcar, ribose ou desoxirribose. Um nucleotídeo é um nucleosídeo com um fosfato inorgânico ligado ao grupamento hidroxila do açúcar em uma ligação éster (Figura 12.4). Os nomes e as abreviaturas dos nucleotídeos especificam a base, o açúcar e o número de fosfatos ligados (MP, monofosfato; DP, difosfato; TP, trifosfato). Em desoxinucleotídeos, o prefixo "d" precede a abreviação. Por exemplo, GDP é difosfato de guanosina (a base guanina ligada a uma ribose que tem dois grupamentos fosfato) e dATP é trifosfato de desoxiadenosina (a base adenina ligada à desoxirribose com três grupamentos fosfato).

Tabela 12.1 Nomes das Bases e Seus Nucleosídeos Correspondentes[a]

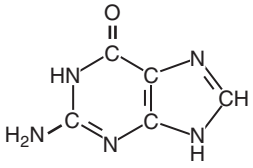
Base	Nucleosídeo
Adenina (A)	Adenosina
Guanina (G)	Guanosina
Citosina (C)	Citidina
Timina (T)	Timidina
Uracil (U)	Uridina
Hipoxantina (I)	Inosina[b]

[a] Se o açúcar for desoxirribose e não ribose, o nucleosídeo tem "desoxi" como prefixo (p. ex., desoxiadenosina). Aos nucleotídeos são dados os nomes dos nucleosídeos mais mono, di ou trifosfato (p. ex., trifosfato de adenosina ou trifosfato de desoxiadenosina).
[b] A base hipoxantina não é encontrada no DNA, mas é produzida durante a degradação das bases púricas. Ela é encontrada em certas moléculas de tRNA. Seu nucleosídeo, inosina, é produzido durante a síntese de nucleotídeos púricos (ver Capítulo 41).

Púricas

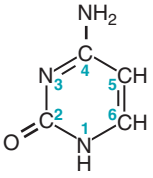


Adenina (A)

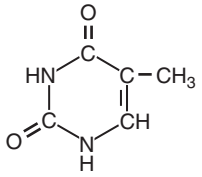


Guanina (G)

Pirimídicas

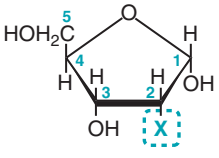


Citosina (C)



Timina (T)

Figura 12.2 Bases púricas e pirimídicas do DNA.



Desoxirribose

Figura 12.3 Desoxirribose e ribose, os açúcares do DNA e do RNA. Os átomos de carbono são numerados de 1 a 5. Quando o açúcar está ligado à base, os átomos de carbono do açúcar são numerados de 1′ a 5′ para distingui-los dos átomos da base. Na desoxirribose, o X = H; na ribose, o X = OH.

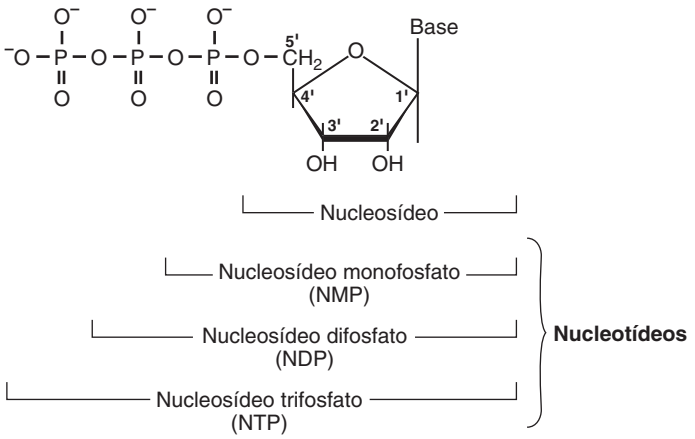
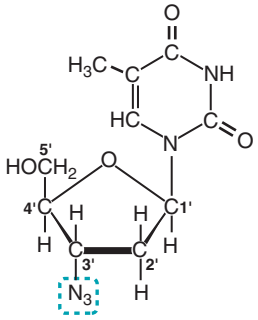


Figura 12.4 Estruturas de nucleosídeos e nucleotídeos. Na figura, o açúcar é a ribose. Os desoxirribonucleotídeos correspondentes são abreviados dNMP, dNDP e dNTP. N = qualquer base (A, G, C, U ou T).

Após **Ivy Sharer** ter sido diagnosticada com AIDS, ela foi tratada com uma mistura de fármacos incluindo zidovudina (ZDV), anteriormente chamada de AZT. Esse fármaco é um análogo do nucleotídeo timina encontrado no DNA (o grupo modificado é mostrado no quadrado tracejado). ZDV é fosforilada no corpo pela quinase que normalmente fosforila necleosídeos e nucleotídeos. Como a cadeia do DNA viral está sendo sintetizada na célula humana, ZDV é, então, adicionada à extremidade 3′ em crescimento pela transcriptase reversa. Entretanto, ZDV não tem um grupamento 3′ OH, e, portanto, nenhum nucleotídeo adicional pode ser acrescentado por meio de ligações no sentido 5′ → 3′. Assim, termina o alongamento do DNA. A transcriptase reversa tem uma maior afinidade por ZDV do que as DNA-polimerases de células humanas normais, capacitando o fármaco a atingir a replicação viral mais especificamente do que a replicação celular.



ZDV,
um análogo da desoxitimidina

Em 1944, depois que foram publicados os experimentos de Oswald Avery, estabelecendo o DNA como material genético, o interesse na determinação da estrutura do DNA aumentou. Digestão com enzimas de especificidade conhecida provaram que o fosfato inorgânico unia os monômeros de nucleotídeos, formando uma ligação fosfodiéster entre o carbono 3’ de um açúcar e o 5’ do açúcar seguinte ao longo da cadeia polinucleotídica (Figura 12.5). Um outro experimento-chave para a determinação da estrutura do DNA foi realizado por Erwin Chargaff. Ele analisou a composição básica do DNA de várias origens e concluiu que, em condições molares, a quantidade de adenina era sempre igual à quantidade de timina, e a quantidade de guanina era igual à quantidade de citosina.

Durante essa era, James Watson e Francis Crick uniram forças e, usando os dados de difração de raio X de Maurice Wilkins e Rosalind Franklin, incorporaram as informações disponíveis a um modelo para a estrutura do DNA. Em 1953, publicaram um trabalho resumido, descrevendo o DNA como uma dupla hélice consistindo em duas fitas polinucleotídicas unidas por pareamento entre as bases (adenina com timina e guanina com citosina). O modelo de pareamento que eles propuseram é a base da biologia molecular moderna.

C. Conceito de Pareamento de Bases

Como foi proposto por Watson e Crick, cada molécula de DNA consiste em duas cadeias de polinucleotídeos unidas por pontes de hidrogênio entre as bases. Em cada par de bases, uma purina em uma fita forma pontes de hidrogênio com uma pirimidina na outra fita. Em um tipo de par de bases, adenina em uma fita pareia com timina na outra fita (Figura 12.6). Esse par de bases é estabilizado por duas pontes de hidrogênio. O outro par de bases, formado entre guanina e citosina, é estabilizado por três pontes de hidrogênio. Como conseqüência do pareamento de bases, as duas fitas do DNA são complementares, isto é, a adenina em uma fita corresponde à timina na outra fita, e a guanina corresponde à citosina.

O conceito de pareamento de bases provou ser essencial para a determinação do mecanismo de replicação do DNA (no qual as cópias de DNA são produzidas e distribuídas às células-filhas) e os mecanismos de transcrição e tradução (nos quais o

O trabalho de uma página de Watson e Crick, publicado em 1953, continha pouco mais do que 900 palavras. No entanto, ele causou uma grande revolução nas ciências biológicas e produziu o fundamento conceitual da disciplina de biologia molecular.

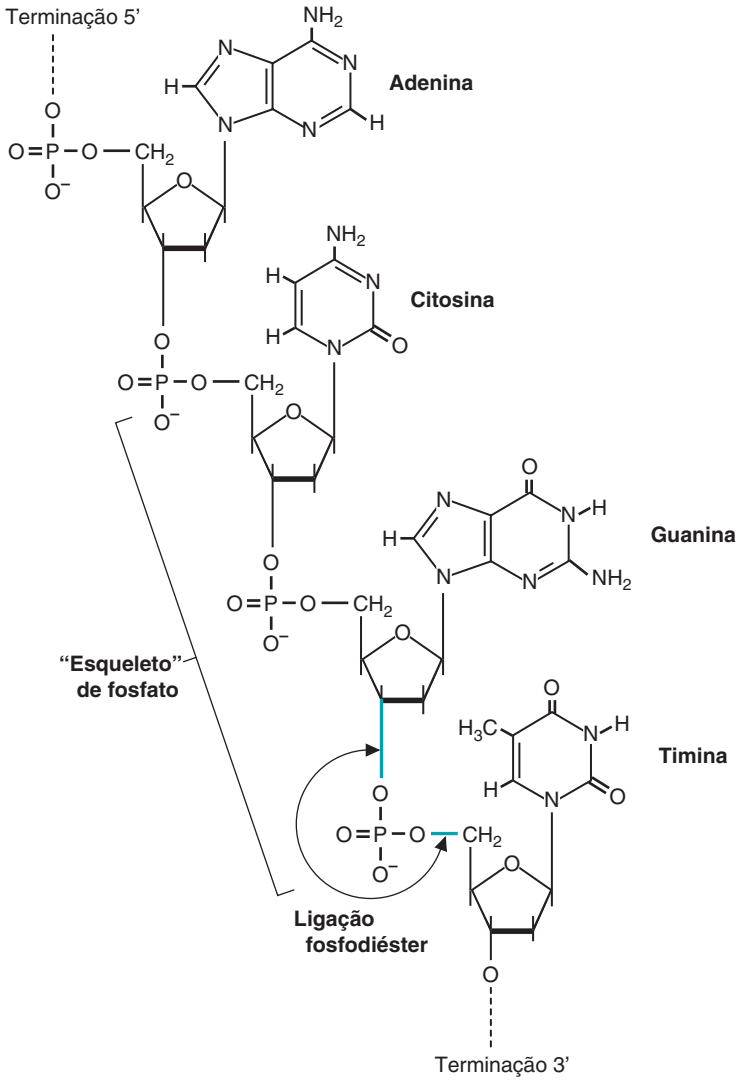


Figura 12.5 Um segmento de uma cadeia polinucleotídica de DNA. O tracejado nas terminações 5′ e 3′ indica que a molécula contém mais nucleotídeos do que são mostrados.

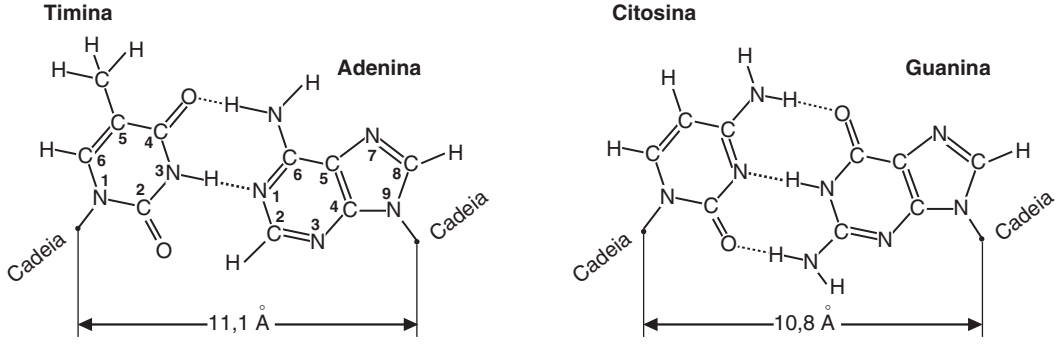


Figura 12.6 Pares de bases do DNA. Note que as bases pirimídicas estão "invertidas" em relação à posição em que elas em geral são mostradas (ver Figura 12.5). As bases devem estar nessa orientação para formarem pares de bases. As linhas pontilhadas indicam pontes de hidrogênio entre as bases. Embora as pontes de hidrogênio mantenham as bases ligadas e essas mantenham as duas fitas de DNA unidas, elas são mais fracas do que as ligações covalentes e permitem a separação das fitas de DNA durante a replicação e a transcrição.

"Não escapou à nossa percepção que o pareamento específico que postulamos imediatamente sugere um possível mecanismo de cópia para o material genético." J.D. Watson e F.H.C. Crick, *Nature*, April 25, 1953.

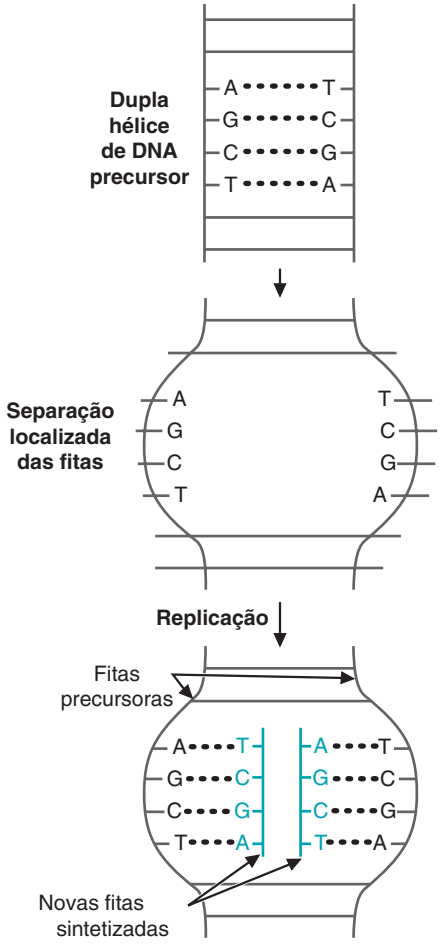


Figura 12.7 Fitas de DNA servem como molde. Durante a replicação, as fitas da hélice se separam em uma região localizada. Cada fita precursora serve como um molde para a síntese de uma nova fita de DNA.

Regimes multimedicamentosos usados para tratar câncer (p. ex., linfomas) algumas vezes incluem o fármaco doxorrubicina (adriamicina). Ele é um produto natural com uma estrutura multianelar complexa que intercala ou introduz-se entre os pares de bases unidos do DNA e inibe a replicação e a transcrição.

mRNA é produzido a partir de genes e usado para direcionar o processo de síntese de proteínas). Obviamente, como Watson e Crick sugeriram, o pareamento de bases permite a uma fita de DNA servir como molde para a síntese de outra fita (Figura 12.7). O pareamento de bases também possibilita a uma fita de DNA servir como molde para a síntese de uma fita complementar de RNA.

D. Fitas de DNA São Antiparalelas

Como concluído por Watson e Crick, as duas fitas complementares de DNA orientam-se em direções opostas. Em uma fita, o carbono 5' do açúcar está acima do carbono 3' (Figura 12.8). Considera-se que essa fita está orientada na direção 5' para 3'. Na outra fita, o carbono 3' está acima do carbono 5'. Considera-se que essa fita está orientada na direção 3' para 5'. Portanto, as fitas são antiparalelas (isto é, elas orientam-se em direções opostas). Esse conceito de direcionalidade das fitas dos ácidos nucleicos é essencial para o conhecimento do mecanismo de replicação e transcrição.

E. A Dupla Hélice

Devido ao fato de cada par de bases conter uma purina ligada a uma pirimidina, as fitas são eqüidistantes de um extremo ao outro. Se duas fitas que são eqüidistantes uma da outra são torcidas do início ao fim, elas formam uma dupla hélice (Figura 12.9). Na dupla hélice de DNA, os pares de bases que unem as duas fitas estão empilhados como degraus em uma escada em espiral ao longo do eixo central da molécula. Os elétrons dos pares de bases adjacentes interagem, gerando "forças de empilhamento" que, em adição às pontes de hidrogênio dos pares de bases, ajudam a estabilizar a hélice.

Os grupamentos fosfato do esqueleto de açúcar-fosfato estão no lado de fora da hélice (ver Figura 12.9). Cada fosfato tem dois átomos de oxigênio formando duas ligações fosfodiéster que unem açúcares adjacentes. No entanto, o terceiro grupamento –OH do fosfato está livre e dissocia um próton em pH fisiológico. Portanto, cada hélice de DNA tem cargas negativas envolvendo sua superfície, as quais facilitam a ligação de proteínas específicas.

As hélices contêm sulcos de tamanho alternado, conhecidos como sulcos maiores e menores (ver Figura 12.9). As bases nesses sulcos estão expostas, podendo interagir com proteínas ou outras moléculas.

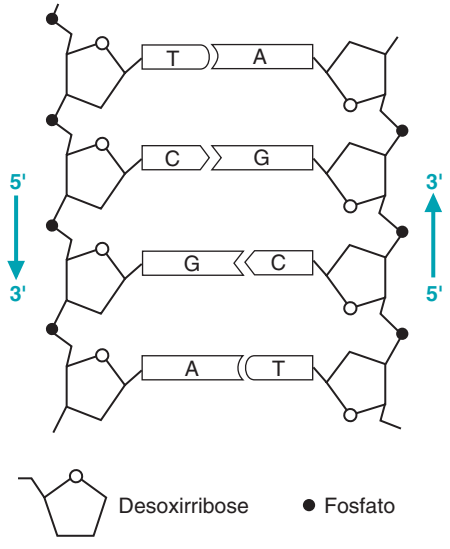


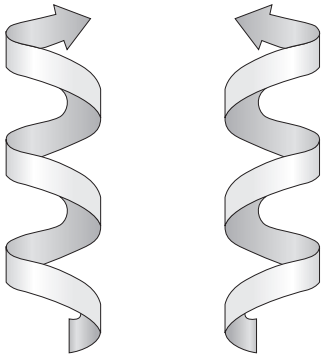
Figura 12.8 Fitas antiparalelas do DNA. Para a fita da esquerda, o carbono 5' de cada açúcar está acima do carbono 3', portanto ela direciona-se de 5' para 3'. Para a fita da direita, o carbono 3' de cada açúcar está acima do carbono 5', portanto ela direciona-se de 3' para 5'.

Watson e Crick descreveram a forma B do DNA, a hélice direcionada para o lado direito, contendo 3,4 Å entre os pares de bases e 10,4 pares de bases por volta. Embora essa forma predomine *in vivo*, outras formas podem ocorrer (Figura 12.10). A forma A, a qual predomina em híbridos DNA-RNA, é similar à forma B, mas é mais compacta (2,3 Å entre pares de bases e 11 pares de bases por volta). Na forma Z, as bases das duas fitas de DNA são posicionadas em direção à periferia de uma hélice direcionada para a esquerda. Há 3,8 Å entre os pares de bases e 12 pares de bases por volta no DNA Z. Essa forma de hélice foi designada "Z" porque, em cada fita, uma linha conecta os fosfatos em ziguezague.

F. Características do DNA

As duas fitas das hélices do DNA podem ser separadas por álcalis e por calor (desnaturação). Muitas técnicas empregadas para estudar o DNA ou para produzir moléculas de DNA recombinantes fazem uso dessa propriedade. Embora os álcalis propiciem a





Se você olhar de baixo para cima uma hélice ao longo do eixo central e a espiral da hélice se afastar de você em um sentido horário (direção da seta no desenho), essa é uma hélice orientada para a direita. Se a espiral se afasta de você em um sentido anti-horário, esta é uma hélice orientada para a esquerda.

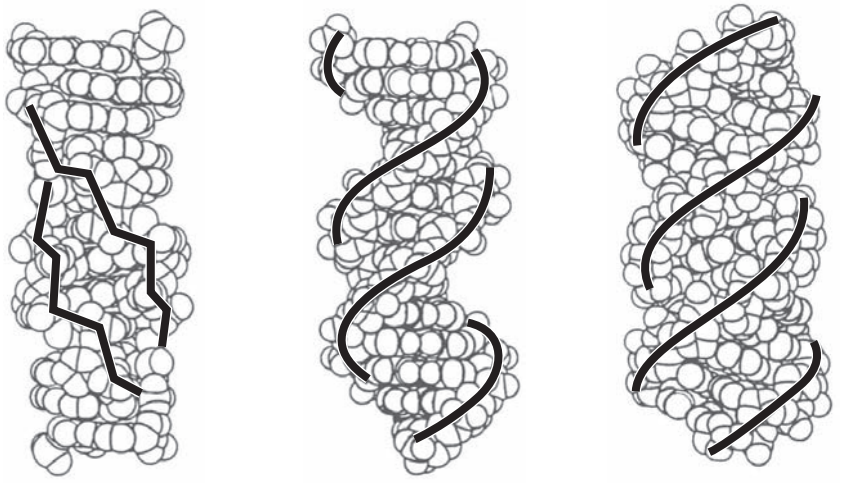


Figura 12.10 Formas de DNA Z, B e A. As linhas pretas sólidas conectam um grupamento fosfato ao próximo. Modificada de Saenger W. Principles of nucleic acid structure. New York: Springer Verlag, 1984:257-286.

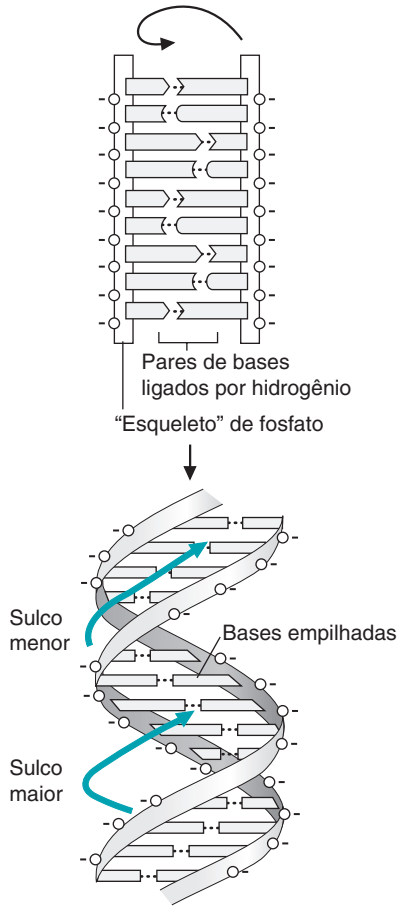


Figura 12.9 Duas fitas de DNA enroladas formam uma dupla hélice. A distância entre as duas estruturas fosfodiéster, mostradas como uma fita, é de aproximadamente 11 Å. Os pares de base ligados por hidrogênio, mostrados em azul, criam forças adicionais com pares de bases adjacentes. Cada grupamento fosfato contém um átomo de oxigênio carregado negativamente, o qual torna a estrutura fosfodiéster com uma carga negativa. Devido ao enrolamento das hélices, dobras são formadas ao longo da superfície, sendo uma maior, e a outra, menor.

Ciclos de aquecimento e resfriamento são usados para separar e reagrupar fitas de DNA na reação em cadeia de polimerase, uma técnica para obter grandes quantidades de DNA de amostras muito pequenas, para pesquisa ou para teste clínico e forense (ver Capítulo 17).

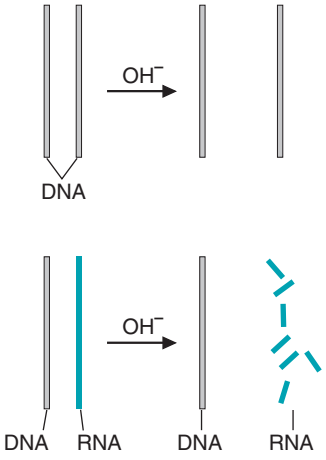


Figura 12.11 Efeito de álcalis no DNA e no RNA. As fitas de DNA ficam intactas, mas separam-se. Os nucleotídeos da fita de RNA são separados.

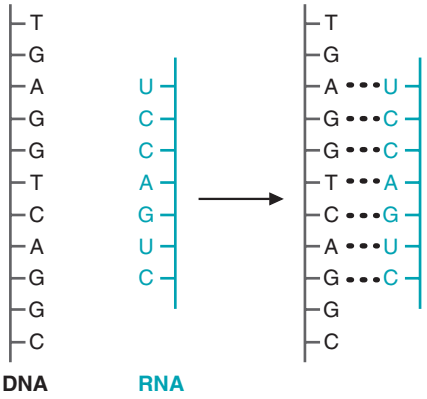


Figura 12.12 Hibridização de DNA e RNA complementar.

Se histonas contêm grandes quantidades de arginina e lisina, sua carga resultante será positiva ou negativa?

separação das duas fitas de DNA, eles não quebram as ligações fosfodiéster (Figura 12.11). Ao contrário, as ligações fosfodiéster do RNA são clivadas por álcalis. Portanto, os álcalis são usados para remover RNA do DNA e para separar as fitas de DNA antes, ou após, eletroforese em géis de poliacrilamida ou agarose.

O aquecimento é suficiente para converter a dupla fita de DNA em fita simples. A separação das fitas é chamada de ponto de fusão, e a temperatura na qual 50% do DNA são separados é chamada de T_m (*melting temperature*). Se a temperatura for diminuída lentamente, fitas simples complementares podem realinhar-se e parear as bases, reconstituindo uma dupla hélice essencialmente idêntica ao DNA original. Esse processo é conhecido como renaturação, reanelamento ou hibridização. O processo pelo qual uma fita simples de DNA anela com fitas de RNA complementar também é chamado de hibridização (Figura 12.12). A hibridização é bastante utilizada em pesquisas e testes clínicos.

II. ESTRUTURA DOS CROMOSSOMOS

A. Tamanho das Moléculas de DNA

Uma célula procariótica em geral contém um cromossomo simples composto de DNA de dupla fita que forma um círculo. Essas moléculas de DNA circular são extremamente grandes. O cromossomo inteiro de uma bactéria *Escherichia coli,* composto de uma molécula de DNA de dupla fita circular, contém acima de 4 x 10^6 pares de bases. Seu peso molecular é acima de 2.500 x 10^6 g/mol (comparado ao peso molecular de uma molécula de glicose de 180 g/mol). Se essa molécula fosse linear, seu comprimento poderia medir quase 2 mm.

O DNA de células eucarióticas é aproximadamente 1.000 vezes maior do que aquele das células de bactérias. Em eucariotos, cada cromossomo contém uma hélice de DNA linear contínua. O DNA do cromossomo humano mais longo tem mais de 7 cm de comprimento. De fato, se o DNA de todos os 46 cromossomos em uma célula diplóide humana fossem colocados em seqüência, o DNA total poderia se estender por uma distância de cerca de 2 m. O DNA total contém em torno de 6 x 10^9 pares de bases.

B. Acondicionamento do DNA

Por serem muito grandes, as moléculas de DNA requerem acondicionamento especial para, então, poderem residir no interior das células. Em *E. coli,* o DNA circular é densamente enrolado e aderido a um núcleo de RNA-proteína. O empacotamento do DNA eucariótico é muito mais complexo, pois ele é maior e deve estar contido no núcleo das células eucarióticas. O DNA eucariótico liga-se a um peso igual de histonas, as quais são pequenas proteínas básicas contendo grandes quantidades de arginina e lisina. O complexo de DNA e proteínas é chamado de cromatina. A organização do DNA eucariótico em cromatina é essencial para o controle da transcrição, bem como para o empacotamento. Quando a cromatina é extraída das células, ela tem a aparência de um colar de contas (Figura 12.13). As contas com DNA projetando-se são conhecidas como nucleossomos nucleares (Figura 12.14). Duas moléculas de cada uma das quatro classes de histonas (histonas H2A, H2B, H3 e H4) formam o centro do núcleo ao redor do qual aproximadamente 140 pares de bases de DNA de dupla fita são enrolados. O

O DNA consiste em uma dupla hélice, com as duas fitas de DNA enroladas uma sobre a outra para formar uma estrutura helicoidal. Para compactar, as moléculas de DNA se enrolam sobre si mesmas para formar uma estrutura chamada de super-hélice (*supercoil).* Um fio de telefone, que conecta a base ao fone, mostra-se contorcido quando a corda torcida enrola-se sobre si mesma. Quando as fitas de uma molécula de DNA se separam e se desenrolam em uma pequena região localizada (o que ocorre durante a replicação), novas torções são introduzidas na porção remanescente da molécula, aumentando a tensão nessa porção. As enzimas conhecidas como topoisomerases diminuem essa tensão para que o desenrolamento das fitas de DNA possa ocorrer.

DNA enrolado ao redor do centro do nucleossomo é contínuo e une o centro de um nucleossomo ao próximo. O DNA unindo os núcleos está complexado com o quinto tipo de histonas, H1. A compactação adicional da cromatina ocorre como os cordões de nucleossomos enrolados em hélice, formando espirais tubulares chamadas de estruturas solenóides.

Além dos conjuntos de DNA e histonas que formam subestruturas nucleossomais da cromatina, outros tipos de proteínas também são associados ao DNA no núcleo. Essas proteínas receberam o nome pouco criativo de "proteínas cromossomais não-histonas". As células de diferentes tecidos contêm diferentes quantidades e tipos dessas proteínas, as quais incluem enzimas que atuam no DNA e fatores que regulam a transcrição.

C. O Genoma Humano

O genoma, ou conteúdo genético total, de uma célula haplóide humana (um espermatozóide ou um óvulo) é distribuído em 23 cromossomos. As células haplóides contêm uma cópia de cada cromossomo. O óvulo haplóide e o espermatozóide haplóide combinam para formar o zigoto diplóide, o qual continua a dividir para formar as outras células (mitose), as quais são diplóides. As células diplóides, portanto, contêm 22 pares de cromossomos autossômicos, com cada par composto de dois cromossomos homólogos contendo uma série similar de genes (Figura 12.15). Em adição aos cromossomos autossômicos, cada célula diplóide tem dois cromossomos sexuais, designados X e Y. Uma mulher tem dois cromossomos X, e um homem tem um cromossomo X e um Y. O número total de cromossomos por célula diplóide é 46.

Genes são arranjados linearmente ao longo de cada cromossomo. Um gene, em termos genéticos, é a unidade fundamental da hereditariedade. Em termos estruturais, um gene contém a seqüência de DNA codificando os componentes estruturais do produto gênico (quer ele seja uma cadeia polipeptídica ou molécula de RNA) ao longo da seqüência de DNA adjacente à terminação 5' do gene que regula a sua expressão. Um *locus* genético é uma posição ou localização específica em um cromossomo. Cada gene em um cromossomo em uma célula diplóide é pareado por uma versão alternativa do gene no mesmo *locus* genético no cromossomo homólogo (Figura 12.16). Essas versões alternativas de um gene são chamadas de alelos. Os seres humanos têm, então,

R: Em pH fisiológico, arginina e lisina transportam cargas positivas em suas cadeias laterais. Portanto, histonas apresentam cargas positivas. Os resíduos de arginina e lisina são agrupados em regiões das moléculas de histonas. Essas regiões positivamente carregadas das histonas interagem com os grupamentos fosfato do DNA carregados negativamente.

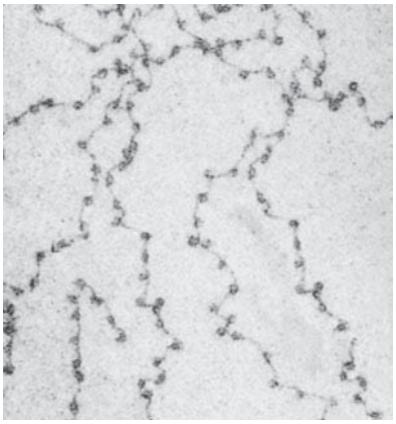


Figura 12.13 Imagem da estrutura da cromatina em forma de "contas em um colar".

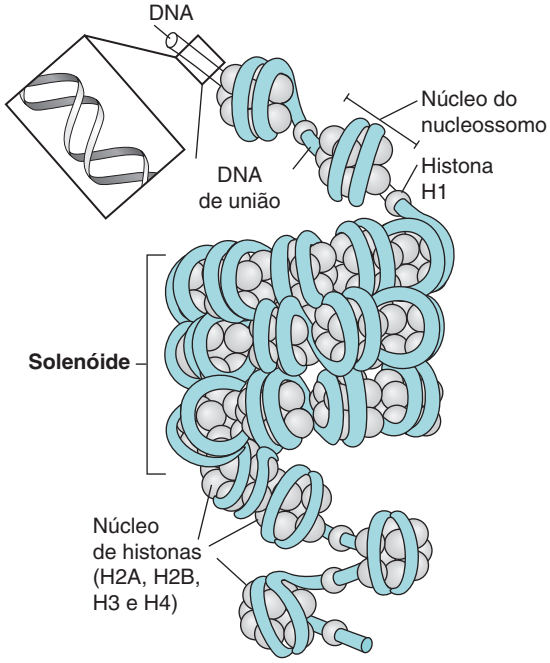


Figura 12.14 Um polinucleossomo, indicando os núcleos de histonas e o DNA de união.

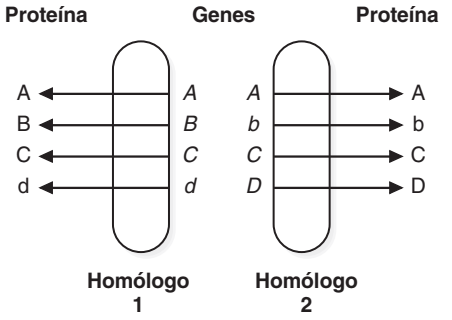


Figura 12.16 Cromossomos homólogos e seus produtos protéicos. Um conjunto de cromossomos homólogos é mostrado em forma de diagrama (naturalmente, durante a interfase, quando estão produzindo seus produtos protéicos, não podem ser visualizados como entidades separadas). Quatro genes são mostrados como exemplos em cada homólogo. Os genes dos homólogos são alelos (p. ex., *AA*, *Bb*, *CC*, *dD*). Eles podem ser idênticos (p. ex., *AA*, *CC*), ou diferentes (p. ex., *Bb*, *dD*) na seqüência de DNA. Portanto, os produtos protéicos correspondentes podem ser idênticos ou podem diferir na seqüência de aminoácidos.

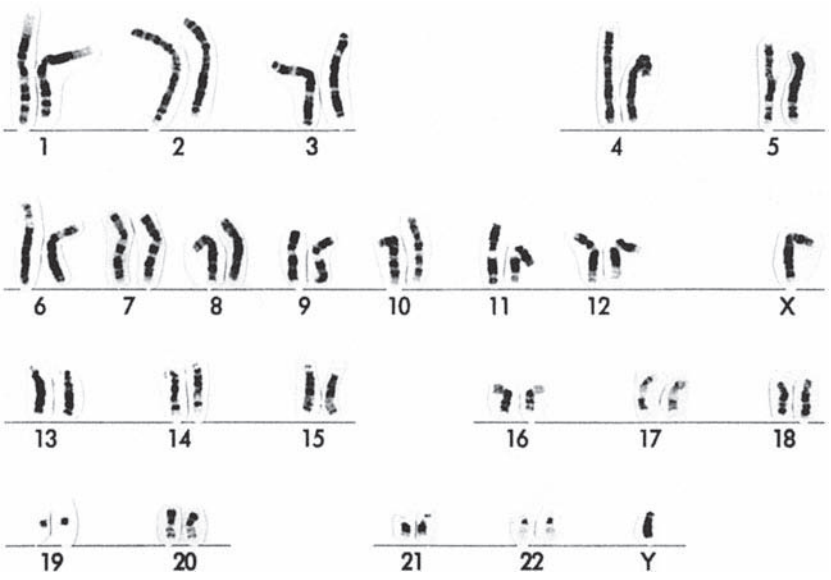


Figura 12.15 Cromossomos humanos de uma célula diplóide masculina. Cada célula diplóide contém 22 pares de autossomos (os cromossomos numerados de 1 a 22) mais um X e um Y. Cada célula diplóide feminina contém dois cromossomos X. Cada célula haplóide contém cromossomos de 1 a 22 mais um X ou um Y. De Gelehrter TD, Collins FS, Ginsburg D. Principles of Human Genetics, 2nd Ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998.



Will Sichel tem anemia falciforme (ver Capítulos 6 e 7). Ele tem dois alelos para o gene da β-globina que geram a forma mutada da hemoglobina, HbS. Sua irmã mais jovem Amanda, uma portadora da característica de célula falciforme, tem um alelo normal (que produz HbA) e um que produz HbS. Teoricamente poderia ser esperado que um indivíduo portador produzisse HbA:HbS em uma relação de 50:50. No entanto, o que em geral é visto na eletroforese é uma relação de 60:40 de HbA:HbS. Desvios importantes dessa relação implicam a ocorrência de uma mutação adicional da hemoglobina (p. ex., talassemia).

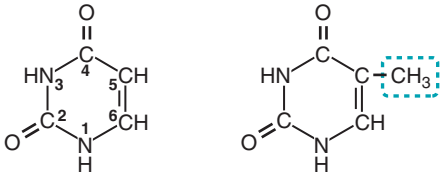


Figura 12.17 Comparação das estruturas do uracil e da timina. Elas diferem somente por um grupamento metil.

dois alelos de cada gene, um da mãe e um do pai, e são homozigotos para esse gene, se os alelos são idênticos em seqüência de bases. Se os alelos diferem, são heterozigotos para esse gene e podem produzir duas versões da proteína codificada que apresenta alguma diferença na estrutura primária.

O genoma de células procarióticas e eucarióticas difere em tamanho. O genoma da bactéria *E. coli* contém aproximadamente 3.000 genes. Todo o DNA dessa bactéria tem uma função: ou codifica para proteínas, rRNA e tRNA, ou serve para regular a síntese desses produtos gênicos. Em contraste, o genoma de uma célula haplóide contém entre 30.000 e 50.000 genes, 10 a 15 vezes o número da *E. coli.* A função da maioria desse DNA extra ainda não foi determinada (um assunto discutido em mais detalhes no Capítulo 15).

III. ESTRUTURA DO RNA

A. Características Gerais do RNA

O RNA é similar ao DNA. Assim como o DNA, ele é composto de nucleotídeos unidos por ligações fosfodiéster no sentido 3' para 5', as bases púricas adenina e guanina e a base pirimídica citosina. Entretanto, sua outra base pirimídica é o uracil em vez da timina. O uracil e a timina são bases idênticas, exceto que a timina tem um grupamento metil na posição 5 do anel (Figura 12.17). No RNA, o açúcar é ribose, que contém um grupamento hidroxila no carbono 2' (ver Figura 12.3. A "linha" no número 2 refere-se à posição no anel da ribose). (A presença desse grupamento hidroxila leva o RNA a ser clivado em seus nucleotídeos constituintes em soluções alcalinas.)

As cadeias de RNA em geral são de fita simples e perdem a estrutura helicoidal contínua da dupla fita de DNA. No entanto, o RNA ainda assim tem considerável estrutura secundária e terciária, pois pares de bases podem se formar em regiões onde a fita se dobra sobre ela mesma. Como no DNA, o pareamento entre as bases é complementar e antiparalelo. No RNA, adenina pareia com uracil em vez de timina (Figura 12.18). O pareamento de bases no RNA pode ser extenso, e as estruturas em alças irregulares

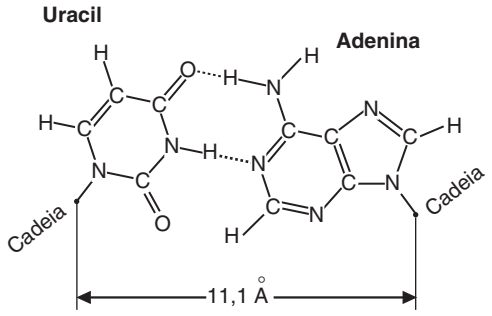


Figura 12.18 Um par de base uracil-adenina no RNA.

geradas são importantes para a ligação de moléculas, como as enzimas, que interagem com regiões específicas do RNA.

Os três tipos principais de RNA (mRNA, rRNA e tRNA) participam diretamente no processo de síntese de proteínas. Outros RNA menos abundantes estão envolvidos na replicação ou no processamento do RNA, isto é, na conversão dos RNAs precursores a suas formas maduras.

Algumas moléculas de RNA são capazes de catalisar reações. Assim, tanto o RNA como as proteínas podem ter atividade enzimática. Certos rRNA precursores podem remover segmentos internos deles próprios, unindo os fragmentos remanescentes. Por causa disso, o RNA é modificado pela reação que ele catalisa. Ele não é verdadeiramente uma enzima e, portanto, foi denominado "ribozima". Outros RNA atuam como verdadeiros catalisadores, servindo como ribonucleases que clivam outras moléculas de RNA ou como uma peptidil-transferase, a enzima na síntese de proteínas que catalisa a formação de ligações peptídicas.

B. Estrutura do mRNA

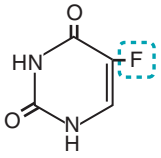
Cada molécula de mRNA contém uma seqüência de nucleotídeos, que é convertida na seqüência de aminoácidos de uma cadeia polipeptídica no processo de tradução. Em eucariotos, o mRNA é transcrito de genes codificadores de proteínas como um longo transcrito primário que é processado no núcleo para formar mRNA. Os vários segmentos intermediários, os quais são mRNAs precursores, são chamados de pré-mRNA ou hnRNA (RNA **n**uclear **h**eterogêneo). O mRNA viaja através dos poros nucleares para o citoplasma, onde se liga aos ribossomos e tRNAs e direciona a inserção seqüencial dos aminoácidos apropriados na cadeia polipeptídica.

O mRNA eucariótico consiste em uma seqüência-líder na extremidade 5', uma região codificadora e uma seqüência sinalizadora na extremidade 3' (Figura 12.19). A seqüência-líder começa com uma estrutura de "capa" (*cap*) na guanosina da sua extremidade 5'. A região codificadora começa com um códon de iniciação (trinucleotídeo) que sinaliza o início da tradução, seguida pelos códons (trinucleotídeos) para aminoácidos, e termina em um sinal de terminação. A seqüência sinalizadora termina em sua extremidade 5' com uma cauda poli(A) que pode ter acima de 200 nucleotídeos de comprimento. A maior parte da seqüência-líder, toda a região codificadora e a maior parte da seqüência sinalizadora são formadas pela transcrição da seqüência de nucleotídeos complementares do DNA. No entanto, a guanosina terminal na estrutura de capa e a cauda poli(A) não têm seqüências complementares; elas são adicionadas após a transcrição.

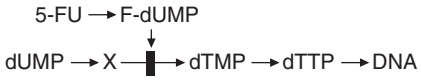
C. Estrutura do rRNA

Ribossomos são ribonucleoproteínas complexas nas quais a síntese de proteínas ocorre. Diferentes tipos de ribossomos são encontrados em procariotos e no citoplasma e na mitocôndria de células eucarióticas (Figura 12.20). Ribossomos procarióticos contêm três tipos de moléculas de rRNA com coeficiente de sedimentação de 16, 23 e 5S. A

Colin Tuma está sendo tratado com 5-fluoruracil (5-FU), uma base pirimídica similar ao uracil e à timina. 5-FU inibe a síntese dos nucleotídeos timina necessários para a replicação do DNA. Timina normalmente é produzida por uma reação catalisada por timidilato-sintase, uma enzima que converte monofosfato de desoxiuridina (dUMP) em monofosfato de desoxitimidina (dTMP). 5-FU é convertido no organismo a F-dUMP, a qual se liga fortemente à timidina-sintase em um estado de transição complexo e inibe a reação (lembre-se de que timina é 5-metil-uracil). Assim, nucleotídeos da timina não podem ser gerados para a síntese de DNA, e a taxa de proliferação celular diminui.



5-Fluoruracil,
um análogo de uracil ou timina



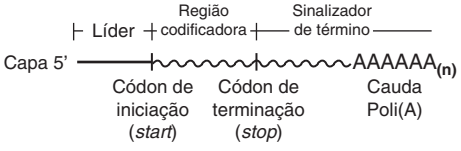


Figura 12.19 As regiões do mRNA eucariótico. A linha ondulada indica a cadeia polinucleotídica do mRNA e os "As" constituindo a cauda poli(A). A capa 5' consiste em um resíduo de guanosina associado ao seu grupamento hidroxila 5' e a três fosfatos, os quais são ligados ao grupamento hidroxila 5' do próximo nucleotídeo na cadeia de RNA. Os códons de iniciação e de terminação representam onde a síntese de proteínas é iniciada e finalizada desse mRNA.

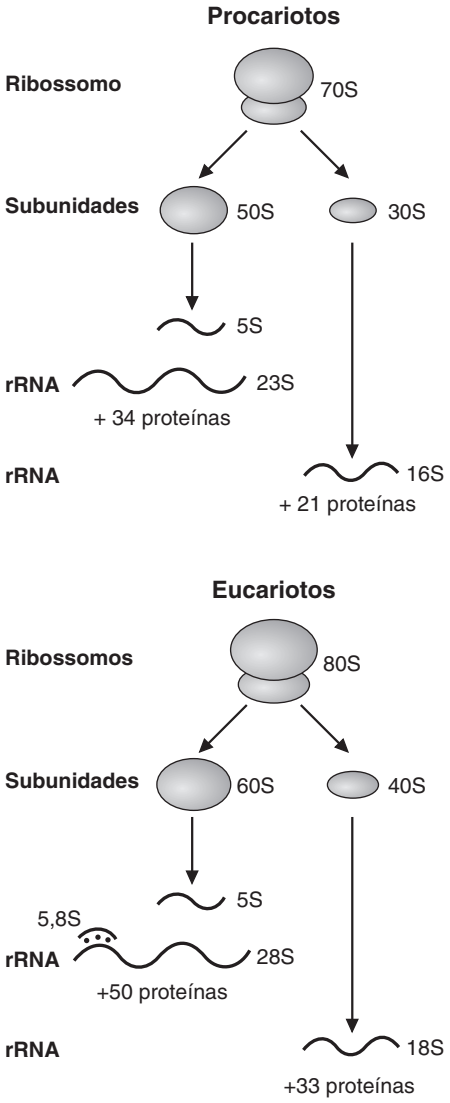


Figura 12.20 Comparação de ribossomos de procariotos e de eucariotos. Os ribossomos citoplasmáticos de eucariotos são mostrados. Os ribossomos mitocondriais são similares aos ribossomos de procariotos, mas são menores (55S em vez de 70S).

Eritromicina, o antibiótico usado para tratar **Neu Moania**, inibe a síntese protéica nos ribossomos procarióticos, mas não nos ribossomos eucarióticos. Ele liga a subunidade ribossomal 50S, a qual está ausente em eucariotos. Portanto, ele inibirá seletivamente o crescimento bacteriano. No entanto, como os ribossomos mitocondriais são similares àqueles das bactérias, a síntese de proteínas mitocondriais pode também ser inibida. Esse fato é importante no conhecimento de alguns dos efeitos colaterais dos antibióticos que trabalham por inibição da síntese protéica em bactérias.

O coeficiente de sedimentação é uma medida da velocidade de sedimentação de uma macromolécula em uma centrífuga de alta rotação (uma ultracentrífuga). Ele é expresso em unidades Svedberg (S). Apesar de moléculas grandes geralmente terem maiores coeficientes de sedimentação que as macromoléculas menores, os coeficientes de sedimentação não são somados. Como as forças friccionais atuando na superfície de uma macromolécula reduzem a sua velocidade de migração através do solvente, a velocidade de sedimentação depende não somente da densidade da macromolécula, mas também da sua forma.

subunidade ribossomal 30S contém o rRNA 16S associado a proteínas, e a subunidade ribossomal 50S contém os rRNA 23S e 5S formando um complexo com proteínas. As subunidades ribossomais 30S e 50S se unem para formar o ribossomo 70S, o qual participa da síntese de proteínas.

Ribossomos citoplasmáticos em eucariotos contêm quatro tipos de moléculas de rRNA: 18, 28, 5 e 5,8S. A subunidade ribossomal 40S contém o rRNA 18S associado a proteínas, e a subunidade ribossomal 60S contém os rRNA 28, 5 e 5,8S formando um complexo com proteínas. No citoplasma, as subunidades ribossomais 40S e 60S se unem para formar os ribossomos 80S que participam da síntese de proteínas.

Ribossomos mitocondriais, com um coeficiente de sedimentação de 55S, são menores do que ribossomos citoplasmáticos. Suas propriedades são similares àquelas dos ribossomos 70S da bactéria.

Os rRNA contêm muitas alças e exibem extensos pareamentos de bases nas regiões entre as alças (Figura 12.21). As seqüências dos rRNA da menor subunidade ribossomal exibem estruturas secundárias que são comuns a muitos gêneros diferentes.

D. Estrutura do tRNA

Durante a síntese protéica, moléculas de tRNA transportam aminoácidos para os ribossomos e asseguram que eles sejam incorporados na posição apropriada na cadeia polipeptídica que está sendo formada (Figura 12.22). Isso é feito pelo pareamento de três bases do tRNA (o anticódon) com as três bases (códon) na região codificadora do mRNA. Portanto, as células contêm pelo menos 20 moléculas diferentes de tRNA que diferem em algo na seqüência de nucleotídeos, um para cada um dos aminoácidos encontrados na proteína. Muitos aminoácidos têm mais de um tRNA.

Moléculas de tRNA contêm não somente os nucleotídeos usuais, mas também derivados desses nucleotídeos que são produzidos por modificações pós-transcricionais. Em células eucarióticas, 10 a 20% dos nucleotídeos do tRNA são modificados. A maioria das moléculas do tRNA contém ribotimidina (T), na qual o grupamento metil é adicionado à uridina para formar ribotimidina. Elas também contêm diidrouridina (D), na qual uma das duplas ligações da base é reduzida, e pseudouridina (Ψ), na qual o uracil é ligado à ribose por uma ligação carbono-carbono em vez da ligação nitrogênio-carbono (ver Capítulo 14). A base da extremidade 5' do anticódon do tRNA é freqüentemente modificada.

Moléculas de tRNA são menores comparadas com o mRNA e a grande molécula de rRNA. Em média, moléculas de tRNA contêm aproximadamente 80 nucleotídeos e têm um coeficiente de sedimentação de 4S. Devido ao tamanho pequeno e ao alto conteúdo de nucleotídeos modificados, os tRNAs foram os primeiros ácidos nucleicos a serem seqüenciados. Desde 1965, quando Robert Holley deduziu a estrutura do primeiro tRNA, a seqüência de nucleotídeos de diversos tRNA diferentes foi determinada. Embora suas seqüências primárias sejam diferentes, todas as moléculas de tRNA formam uma estrutura semelhante a um trevo (discutida em mais detalhes no Capítulo 14).

E. Outros Tipos de RNA

Além dos três principais tipos de RNA descritos anteriormente, outros RNA estão presentes nas células. Esses RNA incluem os oligonucleotídeos que servem como *primers* (iniciadores) para a replicação do DNA e os RNA das pequenas ribonucleoproteínas nucleares (snRNP ou *snurps*) que estão envolvidas no *splicing* (união de extremidades provenientes de corte no RNA transcrito) e nas reações de modificação que ocorrem durante a maturação dos RNA precursores (ver Capítulo 14).

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Ivy Sharer. O curso clínico de Ivy Sharer era típico para o desenvolvimento da AIDS completa, nesse caso causada pelo uso de agulhas contaminadas com HIV. A deterioração imunológica progressiva que acompanha essa doença finalmente resulta em infecções oportunísticas com risco de vida com fungos (p. ex., *Candida*, *cryptococcus*), outros vírus (p. ex., citomegalovírus, herpes simples) e bactérias (p. ex., *Mycobacterium, Pneumocystis carinii, Salmonella*). A incompetência imunológica com freqüência também resulta no desenvolvimento de certas neoplasias (p. ex., sarcoma de Kaposi, linfoma não-Hodgkin), bem como meningite, neuropatias e distúrbios neuropsiquiátricos, causando disfunção cognitiva. Embora avanços recentes na terapia medicamentosa possam diminuir a velocidade do curso da doença, ainda não existe cura.

Colin Tuma. Os pólipos benignos originais de Colin Tuma estavam localizados no cólon ascendente, onde 10% dos cânceres de intestino grosso eventualmente se originam. Como o pai do Sr. Tuma morreu de câncer de cólon, seu médico o alertou que o seu risco de desenvolver a doença era três vezes maior do que para a população geral. Infelizmente, o Sr. Tuma negligenciou a realização dos exames colonoscópicos anuais como prescrito e desenvolveu um adenocarcinoma que metastatizou.

A característica mais maligna das neoplasias é sua habilidade de metastatizar, isto é, formar uma nova neoplasia em um local não-contíguo. O sítio inicial de metástases para um tumor em geral é no primeiro leito capilar encontrado pelas células malignas que são liberadas. Assim, as células de tumores do trato gastrintestinal com freqüência passam através da veia porta para o fígado, que é o local de metástase de Colin Tuma. Como o adenocarcinoma metastatizou, há pouca esperança de erradicá-lo, e a terapia com 5-FU é paliativa (direcionada para reduzir a gravidade da doença e aliviar os sintomas sem realmente curar a doença).

Agneu Moania. A infecção de Neu Moania foi tratada com eritromicina, um antibiótico macrolídeo. Como esse agente pode inibir a síntese protéica mitocondrial em células eucarióticas, ele tem o potencial de alterar a função da célula hospedeira, levando a efeitos colaterais, como desconforto epigástrico, diarréia e, com menos freqüência, icterícia colestática.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Retrovírus. RNA também serve como o genoma para certos tipos de vírus, incluindo retrovírus (p. ex., o vírus da imunodeficiência humana [HIV] que causa AIDS). Os vírus devem invadir células hospedeiras para se reproduzirem. Eles não são capazes de se reproduzir independentemente. Alguns vírus que são patogênicos para humanos contêm DNA, enquanto outros contêm RNA como seu material genético.

Alguns vírus que contêm um RNA genômico são conhecidos como retrovírus. HIV, o vírus da imunodeficiência humana, é o retrovírus que causa a AIDS (Figura 12.23).

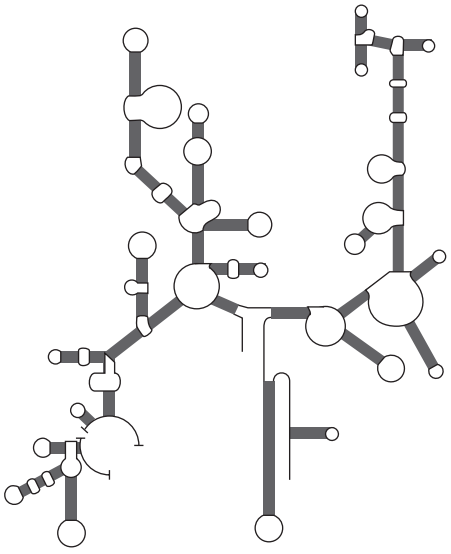


Figura 12.21 Estrutura secundária da porção do RNA ribossomal do tipo 16S que é comum a muitas espécies. As áreas escuras são bases pareadas, e os círculos são alças não-pareadas. Reproduzida com permissão de Annu Rev Biochem. 1984;53:137. © 1984, por Annual Reviews, Inc.

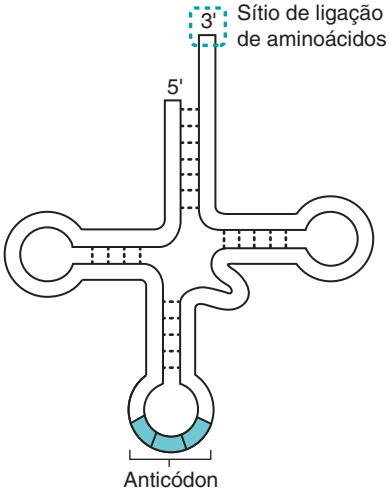


Figura 12.22 A típica estrutura em forma de folha de trevo do tRNA.

Colin Tuma completou seu primeiro ciclo de 5-fluoruracil (5-FU) intravenoso no hospital. Ele tolerou a terapia, mas com moderada anorexia, diarréia e leucopenia (uma contagem diminuída de células brancas do sangue; *leuko* = branco). Trinta dias após ter completado o ciclo inicial, esses sintomas diminuíram, e ele iniciou o segundo ciclo de quimioterapia com 5-FU como um paciente de ambulatório.

Devido ao fato de o 5-FU inibir a síntese de timina, a síntese de DNA é afetada em todas as células do corpo humano que estão rapidamente se dividindo, como as células da medula óssea que produzem leucócitos e as células da mucosa que revestem o intestino. A inibição da síntese de DNA em células que se dividem rapidamente contribui para os efeitos colaterais do 5-FU e de muitos outros fármacos quimioterápicos.

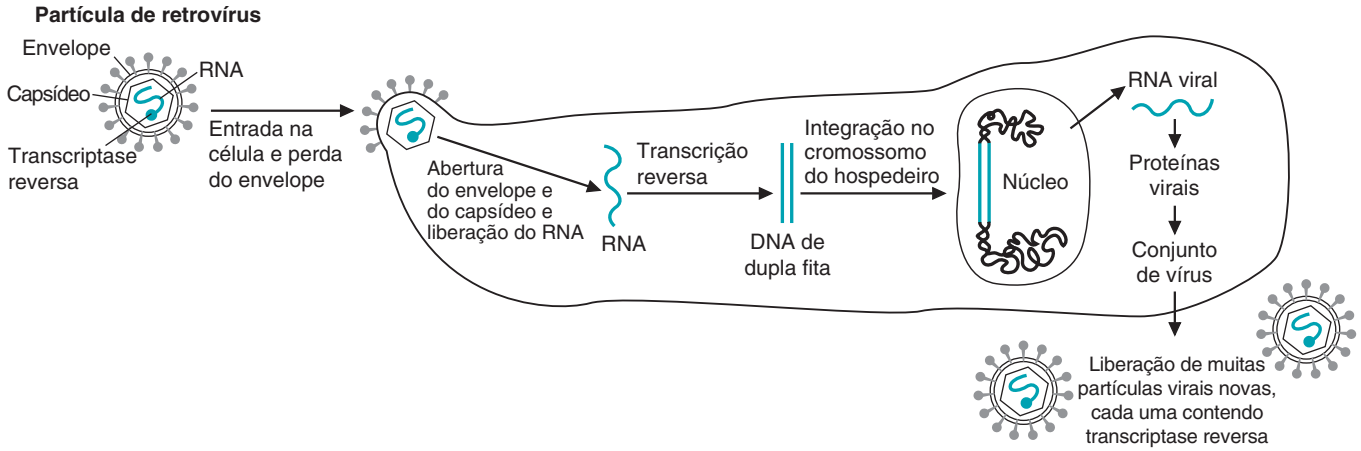


Figura 12.23 O ciclo de vida de um retrovírus. O vírus contém duas fitas de RNA idênticas, somente uma das quais é mostrada para facilitar a compreensão. Após penetrar a membrana plasmática, o RNA viral de fita simples é reversamente transcrito para uma forma de DNA de dupla fita. O DNA viral migra para o núcleo e integra-se ao DNA cromossômico, onde é transcrito para formar um RNA viral. O RNA viral transcrito pode formar o RNA genômico para a progênie dos vírus, ou pode ser traduzido para gerar proteínas virais estruturais.

Ele invade as células do sistema imune e impede o indivíduo afetado de preparar uma resposta imune adequada para combater infecções.

De acordo com o "dogma central" proposto por Francis Crick, a informação flui do DNA para o RNA para a proteína. Para a maior parte, esse conceito permanece verdadeiro. No entanto, os retrovírus representam uma violação dessa regra. Quando os retrovírus invadem a célula, seu RNA genômico é transcrito para produzir cópias de DNA. A enzima que catalisa esse processo é codificada no RNA viral e é conhecida como transcriptase reversa. Essas cópias de DNA integram-se ao genoma da célula infectada, e enzimas da célula hospedeira são usadas para produzir muitas cópias do RNA viral, bem como proteínas virais, as quais podem ser empacotadas em novas partículas virais.

Leituras Sugeridas

Watson JD. The Double Helix. New York: Atheneum, 1968.

Watson JD, Crick FHC. Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 1953; 171:737-738.

American Cancer Society Web site (http://www.cancer.org): Esse endereço eletrônico fornece informações sobre a causa, o tratamento e a prevenção de alguns casos de diferentes tipos de cancer e *links* para informações adicionais.

The Human Genome Project Web site (http://www.nhgri.nih.gov/About_NHGRI/Der/Elsi/): Esse endereço eletrônico discute os aspectos éticos envolvidos nos protocolos de terapia gênica.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 12

1. Para a seguinte seqüência de DNA, determine a seqüência e a direção da fita complementar.
   5’ – ATCGATCGATCGATCG – 3’

   (A) 5’ – ATCTATCGATCGATCG – 3’
   (B) 3’ – ATCGATCGATCGATCG – 5’
   (C) 5’ – CGAUCGAUCAUCGAU – 3’
   (D) 5’ – CGATCGATCGATCGAT – 3’
   (E) 3’ – CGATCGATCGATCGAT – 5’

2. Se a fita de DNA mostrada a seguir serve como um molde para a síntese de RNA, qual das seguintes opções dá a seqüência e a direção do RNA?
   5’ – GCTATGCATCGTGATCGAATTGCGT – 3’

   (A) 5’– ACGCAATTCGATCACGATGCATAGC – 3’
   (B) 5’ – UGCGUUAAGCUAGUGCUACGUAUCG – 3’
   (C) 5 – ACGCAAUUCGAUCACGAUGCAUAGC – 3’
   (D) 5’ – CGAUACGUAGCACUAGCUUAACGCA – 3’
   (E) 5’ – GCTATGCATCGTGATCGAATTGCGT – 3’

3. No DNA, qual das opções a seguir representa a ligação entre o açúcar desoxirribose e o fosfato?

   (A) Ligação polar
   (B) Ligação iônica
   (C) Ponte de hidrogênio
   (D) Ligação covalente
   (E) Ligação de van der Waals

4. Quantas moléculas de DNA de dupla fita com 8 pares de base de extensão são teoricamente possíveis?

   (A) 12
   (B) 32
   (C) 64
   (D) 256
   (E) 65.536

5. Qual das seguintes opções representa o “esqueleto” da fita de DNA?

   (A) Açúcares e bases
   (B) Fosfatos e açúcares
   (C) Bases e fosfatos
   (D) Nucleotídeos e açúcares
   (E) Fosfatos e nucleosídeos

13 Síntese de DNA

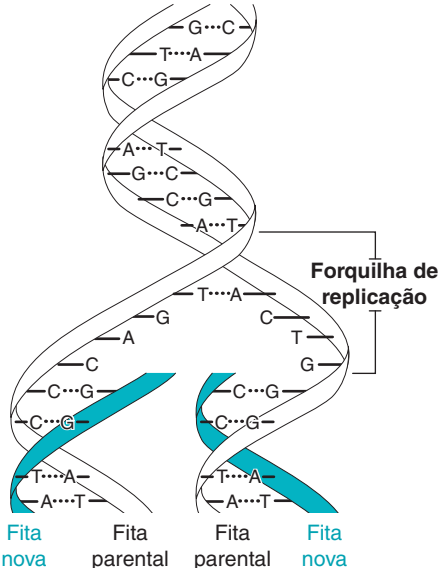


Figura 13.1 Uma hélice de DNA replicando. As fitas parentais se separam na forquilha de replicação. Cada fita parental serve como um molde para a síntese da nova fita.

A síntese de DNA ocorre pelo processo de ***replicação****. Durante a replicação, cada uma das duas fitas parentais de DNA serve como um molde para a síntese da fita complementar. Portanto, cada molécula de DNA gerada pelo processo de replicação contém uma fita parental intacta e uma fita recentemente sintetizada (Figura 13.1). Em eucariotos, a* ***replicação do DNA*** *ocorre durante a* ***fase S*** *do* ***ciclo celular****, a qual é seguida pela fase G2. A célula* ***divide-se*** *durante a próxima fase (****M****), e cada célula-filha recebe uma cópia exata do DNA da célula parental.*

A forquilha de replicação*. Tanto em procariotos como em eucariotos, o local no qual a replicação está ocorrendo em um dado momento é chamado de* ***forquilha de replicação****. Conforme a replicação avança, as duas fitas parentais se separam na frente da forquilha. À medida que a replicação continua, cada nova fita de DNA sintetizada pareia bases complementares com a sua fita-molde parental. Um complexo de proteínas está envolvido na replicação.* ***Helicases*** *e* ***topoisomerases*** *desenrolam as fitas parentais, e* ***proteínas de ligação de fita simples*** *impedem que elas se unam novamente.*

A principal enzima envolvida na replicação é a ***DNA-polimerase****, que copia cada fita parental no sentido 3' para 5', produzindo novas fitas no sentido 5' para 3'. Os* ***desoxirribonucleosídeos trifosfato*** *servem como precursores. Uma das novas fitas de DNA cresce continuamente, enquanto a outra fita é sintetizada descontinuamente em pequenos fragmentos conhecidos como* ***fragmentos de Okazaki****. Esses fragmentos são subseqüentemente unidos pela* ***DNA-ligase.***

Iniciação*. A* ***DNA-polimerase não pode iniciar*** *a síntese das novas fitas. Então, um curto* ***iniciador*** *(*primer*) é produzido, o qual contém ribonucleotídeos (RNA). A DNA-polimerase pode adicionar desoxirribonucleotídeos à terminação 3' do fragmento iniciador. Esse RNA iniciador é posteriormente removido e substituído por desoxirribonucleotídeos.*

Telômeros*. As terminações lineares dos cromossomos são chamadas de telômeros. A enzima* ***telomerase****, uma DNA-polimerase dependente de RNA que transporta seu próprio molde de RNA, é necessária para a sua replicação.*

Erros e reparos*.* ***Erros*** *que ocorreram* ***durante a replicação*** *podem levar a mutações deletéreas. Entretanto, muitos erros são corrigidos pela atividade enzimática associada ao complexo da forquilha de replicação. A* ***taxa de erro*** *é, portanto, mantida a níveis muito baixos.*

Danos *às moléculas de DNA também causam mutações.* ***Mecanismos de reparo*** *corrigem danos no DNA, em geral por remoção e substituição da região danificada. A fita intacta, não-danificada, serve como molde para a DNA-polimerase envolvida no processo de reparo.*

Recombinação*. Embora as células tenham mecanismos para corrigir erros de replicação e para reparar danos do DNA, alguma mudança genética é desejável. Elas produzem novas proteínas ou variantes de proteínas que podem aumentar a taxa de sobrevivência das espécies. Mudança genética é produzida por mutações não-reparadas e por um mecanismo conhecido como* ***recombinação****, no qual porções de cromossomos são trocadas.*

SALA DE ESPERA

Ivy Sharer está tendo dificuldade de aderir ao seu esquema de múltiplos fármacos. Ela freqüentemente se esquece de tomar os comprimidos. Quando ela retorna para reavaliação, pergunta se é necessário realmente um número tão grande de comprimidos para tratamento da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS).

Di Abietes respondeu ao tratamento para o diabetes melito, mas subseqüentemente desenvolveu uma febre de baixo grau, um aumento na urgência e freqüência urinária e queimação na abertura ureteral durante a micção (disúria). Uma análise da urina mostrou um grande número de células sangüíneas brancas e muitos bacilos gram-negativos. Uma cultura de urina indicou muitas colônias de *Escherichia coli*, a qual é sensível a vários antibióticos, incluindo a quinolona norfloxacina.

Melvin (Mel) Anoma é um homem de 46 anos que notou um nódulo superficial de cor marrom-escuro de 5 mm com bordas irregulares na pele do peito. Ele foi agendado para cirurgia de ambulatório, na qual uma biópsia excisional ampla foi realizada (em uma biópsia excisional, o nódulo completo é removido, e é realizada biópsia). O exame do nódulo indicou alterações características de um melanoma maligno atingindo uma espessura de apenas 0,7 mm a partir da superfície da pele (Estágio I).

Nick O'Tyne é um eletrecista de 62 anos de idade que fumou dois maços de cigarros por dia durante 40 anos. Ele notou recentemente que sua tosse crônica tinha piorado. O médico solicitou um raio X de tórax, o qual mostrou um nódulo de 2 cm no lobo superior do pulmão direito. O exame citológico do escarro com técnica de Papanicolaou mostrou células consistentes com a presença de um adenocarcinoma bem-diferenciado de pulmão.

I. SÍNTESE DE DNA EM PROCARIOTOS

Os aspectos básicos do mecanismo de replicação do DNA são ilustrados pelo processo que ocorre na bactéria *E. coli.* Esse bacilo cresce simbioticamente no cólon humano. Ele tem sido muito estudado e serve como um modelo para os processos mais complexos e, conseqüentemente, menos conhecidos que ocorrem em células eucarióticas.

A. A Replicação é Bidirecional

A replicação da dupla fita de DNA circular do cromossomo da *E. coli* inicia com a ligação de aproximadamente 30 moléculas da proteína DnaA a um único ponto de origem, designado *oriC*, onde o DNA se enrola ao redor do núcleo da DnaA (Figura 13.2). Com a ajuda de outras proteínas (p. ex., uma helicase, uma girase e uma proteína de ligação de fita simples), as duas fitas parentais se separam nessa região, e ambas as fitas são copiadas simultaneamente. A síntese inicia na origem criando duas forquilhas de replicação que se distanciam da origem bidirecionalmente (em ambas as direções ao mesmo tempo). A replicação finaliza no outro lado do cromossomo em um ponto de terminação. Um ciclo de síntese, envolvendo a incorporação de mais de 4 milhões de nucleotídeos em cada nova fita de DNA, é completado em aproximadamente 40 minutos. Entretanto, um segundo ciclo de síntese pode iniciar na origem antes de o primeiro ciclo estar terminado. Essas múltiplas iniciações de replicação permitem à multiplicação bacteriana ocorrer muito mais rapidamente do que o tempo que ela leva para completar um ciclo simples de replicação.

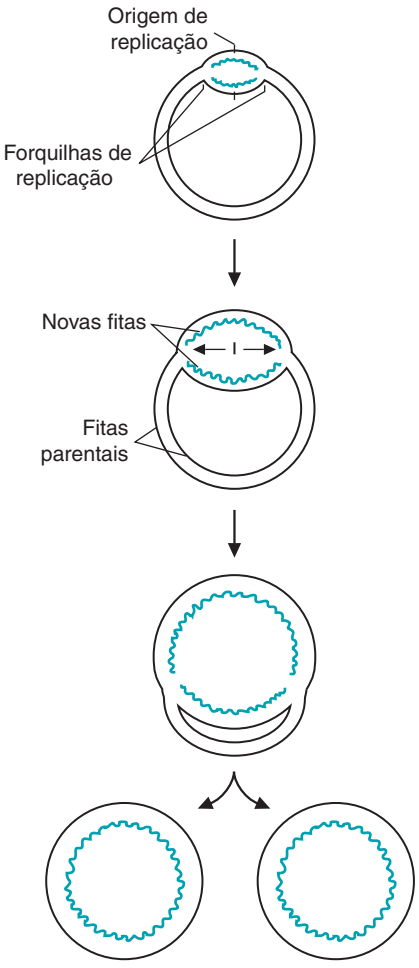


Figura 13.2 Replicação bidirecional de um cromossomo circular. A replicação inicia no ponto de origem (*oriC*) e segue em ambas as direções ao mesmo tempo.

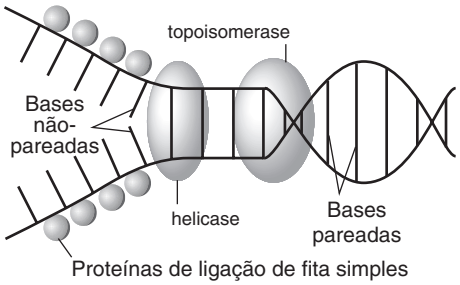
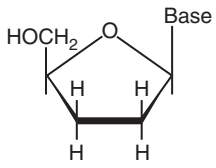


Figura 13.3 Proteínas envolvidas na separação e distorção das fitas de DNA parental na forquilha de replicação em procariotos.

A infecção do trato urinário de **Di Abietes** foi tratada com norfloxacina, um membro fluoretado da família das quinolonas. Esse grupo de fármacos inibe a DNA-girase bacteriana, uma topoisomerase que desenrola a hélice fechada do DNA circular bacteriano à frente da forquilha de replicação e, portanto, inibe a síntese de DNA bacteriano. Como as células eucarióticas têm DNA linear e não contêm DNA-girase, não são afetadas por quinolonas.

Um dos fármacos usados para tratar **Ivy Sharer** foi didanosina (ddI). Ela é um didesoxinucleosídeo, um exemplo mostrado a seguir.



Um didesoxinucleosídeo

Os didesoxinucleosídeos não têm um grupo hidroxila no carbono 2′ nem no 3′. Eles podem ser convertidos em didesoxinucleosídeos trifosfato nas células e, semelhante à ZDV, terminar o crescimento da cadeia quando incorporados ao DNA. No caso dos didesoxinucleosídeos, a terminação da cadeia resulta da ausência de um grupo hidroxila no carbono 3′. O vírus HIV muta de forma muito rápida (principalmente porque perde a atividade exonuclease 5′ para 3′ da transcriptase reversa, a atividade de checagem) e freqüentemente desenvolve resistência a um ou mais desses fármacos. Portanto, é recomendado que os pacientes com AIDS tomem diversos fármacos, incluindo mais do que um inibidor da transcriptase reversa.

B. A Replicação é Semiconservativa

Cada cromossomo-filho contém uma das fitas de DNA parental e uma fita complementar recentemente sintetizada. Por isso, a replicação é conhecida como semiconservativa; isto é, as fitas parentais são conservadas, mas não se mantêm juntas. Cada uma é pareada com uma nova fita sintetizada (ver Figuras 13.1 e 13.2).

C. Desenrolando as Fitas Parentais

A replicação requer a separação das fitas de DNA parentais e a abertura da hélice na frente da forquilha de replicação. As helicases (DnaB) separam as fitas de DNA e desenrolam a dupla fita parental. As proteínas de ligação de fita simples evitam que as fitas se reassociem e as protegem das enzimas que clivam o DNA de fita simples (Figura 13.3). As topoisomerases, enzimas que podem quebrar ligações fosfodiéster e refazê-las, abrandam a supertorção da dupla fita causada pelo desenrolamento. A DNA-girase é a maior topoisomerase em células bacterianas.

D. Ação da DNA-Polimerase

As enzimas que catalisam a síntese de DNA são conhecidas como DNA-polimerases. A *E. coli* tem três DNA-polimerases, Pol I, Pol II e Pol III. A Pol III é a principal enzima da replicação (Tabela 13.1). Todas as DNA-polimerases que têm sido estudadas copiam uma fita de DNA-molde na direção 3’ para 5’, produzindo uma nova fita na direção 5’ para 3’ (Figura 13.4). Os desoxirribonucleosídeos trifosfato (dATP, dGTP, dCTP e dTTP) servem como substratos para a adição de nucleotídeos para o crescimento da cadeia.

O nucleotídeo que chega forma um par de base com seu nucleotídeo complementar na fita-molde. Então, uma ligação éster é formada entre o primeiro fosfato 5’ do nucleotídeo que chega e o grupo hidroxila livre 3’ ao final da cadeia em crescimento. O pirofosfato é liberado. A liberação do pirofosfato e a sua clivagem subseqüente por um pirofosfato fornecem a energia que direciona o processo de polimerização.

As DNA-polimerases que catalisam a síntese de novas fitas durante a replicação exibem uma característica especial de processamento. Elas permanecem ligadas à fita-molde parental durante a continuidade do processo de alongamento da cadeia, em vez de se dissociarem e se reassociarem à medida que cada nucleotídeo é adicionado. Conseqüentemente, a síntese é muito mais rápida do que poderia ser com uma enzima que não tivesse essa característica especial de processamento.

E. Eliminação de Erros no Pareamento de Bases

Em *E. coli*, a enzima replicativa Pol III também realiza uma função de checagem ou edição. Essa enzima tem atividade exonuclease 3’-5’ em adição à sua atividade polimerase (ver Tabela 13.1). Se o nucleotídeo ao final do crescimento da cadeia é pareado de forma incorreta com a base da fita-molde, a Pol III remove esse nucleotídeo antes de continuar a extensão da cadeia em crescimento. Essa atividade de checagem elimina

Tabela 13.1 Funções das DNA-Polimerases Bacterianas

Polimerases	Funções[a]	Atividade Exonuclease[b]
Pol I	Preenchimento do espaço após remoção do iniciador de RNA Reparo do DNA Remoção do iniciador de RNA em conjunto com RNase H	5′ para 3′ e 3′ para 5′
Pol II	Reparo do DNA	3′ para 5′
Pol III	Replicação-síntese de DNA	3′ para 5′

[a] A síntese da nova fita de DNA sempre ocorre de 5′ para 3′.
[b] As exonucleases removem nucleotídeos da fita de DNA e atuam na terminação 5′ (clivagem 5′ para 3′) ou na terminação 3′ (clivagem 3′ para 5′).

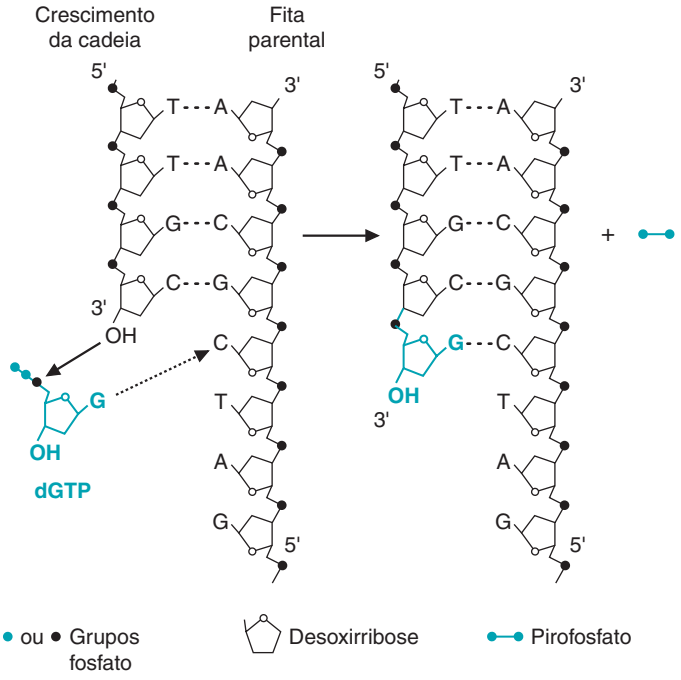


Figura 13.4 Ação da DNA-polimerase. Os desoxirribonucleosídeos trifosfato servem como precursores (substratos) usados pela DNA-polimerase para alongar a cadeia de DNA. A DNA-polimerase copia a fita-molde de DNA na direção 3′ para 5′. A nova fita cresce de 5′ para 3′.

a maioria dos erros de pareamento de bases à medida que ocorrem. Somente em torno de um par de base em um milhão é pareado erroneamente no produto final do DNA; a taxa de erro é em torno de 10^{-6}. Se essa atividade de checagem é experimentalmente removida da enzima, a taxa de erro aumenta para em torno de 10^{-3}.

Após a replicação, outros mecanismos repõem bases pareadas erroneamente que escapam do mecanismo de checagem para o qual a fidelidade de replicação do DNA é muito alta. Os dois processos de checagem e reparo de erros pós-replicação resultam em uma taxa de erro total de aproximadamente 10^{-10}, isto é, menos de um par de base pareado errado em 10 bilhões.

F. Função dos Iniciadores de RNA

A DNA-polimerase não pode iniciar a síntese de novas fitas; ela requer a presença de um grupo 3'-OH livre para funcionar. Portanto, um iniciador é necessário para fornecer o grupo 3'-OH livre. Esse iniciador é um oligonucleotídeo de RNA. Ele é sintetizado na direção 3' para 5' por uma RNA-polimerase (primase) que copia a fita-molde de DNA. A DNA-polimerase inicialmente adiciona um desoxirribonucleotídeo ao grupo hidroxila 3' do iniciador e, então, continua adicionando desoxirribonucleotídeos à extremidade 3' da fita em crescimento (Figura 13.5).

G. Síntese de DNA na Forquilha de Replicação

Ambas as fitas parentais são copiadas ao mesmo tempo na direção da forquilha de replicação, uma observação difícil de conciliar com a atividade conhecida da DNA-polimerase, a qual pode produzir cadeias somente na direção 5' para 3'. Devido ao fato de as fitas parentais correrem em direções opostas uma da outra, a síntese poderia ocorrer no sentido 5' para 3' **em direção à** forquilha de replicação em uma fita-molde e no sentido 5' para 3' na **direção oposta** da forquilha de replicação na outra fita-molde.

Okazaki resolveu esse dilema mostrando que a síntese de uma fita, chamada de fita-líder, é contínua no sentido 5' para 3' em direção à forquilha de replicação. A outra fita, chamada de fita atrasada, é sintetizada descontinuamente em curtos fragmentos



As nucleases clivam as ligações fosfodiéster. As endonucleases clivam as ligações nas cadeias polinucleotídicas. As exonucleases clivam as ligações no final da cadeia polinucleotídica, removendo um nucleotídeo de cada vez. As exonucleases 5′ iniciam na terminação 5′ da cadeia e clivam de 5′ para 3′. As exonucleases 3′ iniciam na terminação 3′ e clivam de 3′ para 5′.

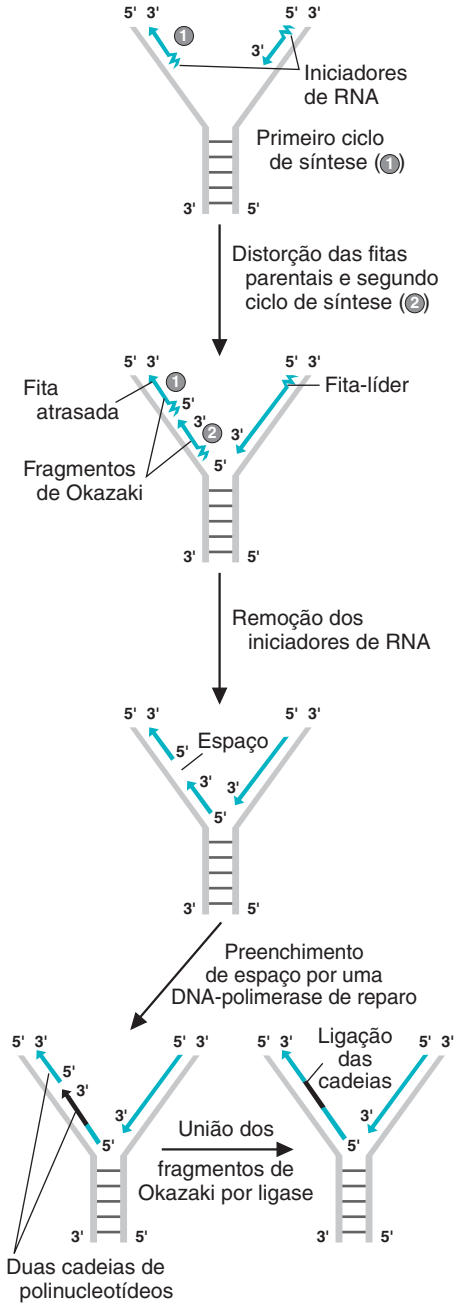


Figura 13.5 Síntese de DNA na forquilha de replicação. (Ver Figura 13.6 para a reação de ligação.)

RNase H é uma ribonuclease que degrada especificamente RNA de um híbrido RNA-DNA. O vírus HIV (ver Capítulo 12) converte um RNA genômico a uma cópia de DNA de dupla fita usando a enzima transcriptase reversa. Um intermediário na conversão de RNA genômico de fita simples para DNA de dupla fita é um híbrido RNA-DNA. Para remover o RNA para que uma molécula de DNA de dupla fita possa ser feita, a transcriptase reversa contém atividade RNase H. Cientistas estão atualmente tentando atingir a atividade RNase H da transcriptase reversa com inibidores como um método de controle da disseminação do vírus.

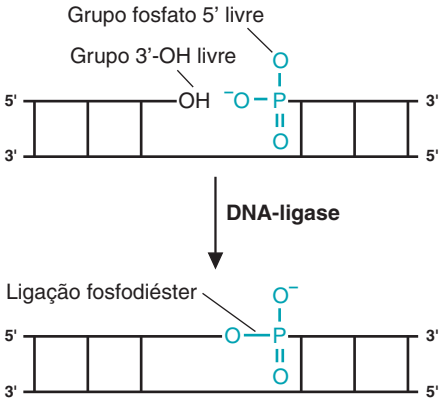


Figura 13.6 Ação da DNA-ligase. Duas cadeias polinucleotídicas, uma com um grupo 3′-OH livre e outra com um grupo fosfato 5′ livre, são unidas pela DNA-ligase, a qual forma uma ligação fosfodiéster.

(ver Figura 13.5). Esses fragmentos, chamados de Okazaki, são produzidos na direção 5' para 3' (oposta à forquilha), mas unidos a tal ponto que, no geral, o processo de síntese segue a forquilha de replicação.

H. Função da DNA-Ligase

Conforme a replicação progride, os iniciadores de RNA são removidos dos fragmentos de Okazaki, provavelmente pela ação combinada da DNA-polimerase I (Pol I, usando sua atividade exonuclease 5' → 3') e RNase H. A Pol I preenche os espaços produzidos pela remoção dos iniciadores. Como a DNA-polimerase não pode unir as duas cadeias de polinucleotídeos, uma enzima adicional, a DNA-ligase, é necessária para realizar essa função. O grupo hidroxila 3' na terminação de um fragmento é ligado ao grupo fosfato da terminação 5' do próximo fragmento (Figura 13.6).

II. SÍNTESE DE DNA EM EUCARIOTOS

O processo de replicação em eucariotos é similar àquele nos procariotos. Diferenças no processo estão relacionadas principalmente à quantidade muito maior de DNA em células eucarióticas (acima de 1.000 vezes a quantidade em *E. coli*) e à associação do DNA eucariótico com histonas nos nucleossomos. Enzimas com atividade DNA-polimerase, primase, ligase, helicase e topoisomerase estão todas presentes em eucariotos; no entanto, essas enzimas diferem em alguns aspectos daquelas dos procariotos.

A. O Ciclo Celular em Eucariotos

O ciclo celular de eucariotos consiste em quatro fases (Figura 13.7). As primeiras três fases (G1, S e G2) constituem a interfase. As células gastam a maior parte de seu tempo nessas três fases, realizando as suas atividades metabólicas normais. A quarta fase é a mitose, o processo de divisão celular. Essa fase é muito breve.

A primeira fase do ciclo celular, G1 (a primeira fase de "intervalo"), é a mais variável em extensão. No final da G1, as células preparam-se para duplicar seus cromossomos (p. ex., produzindo nucleotídeos precursores). Na segunda fase, ou fase S, o DNA replica. Nucleossomos se separam à medida que a forquilha de replicação avança. Durante a fase S, a síntese de histonas e outras proteínas associadas ao DNA é marcadamente aumentada. As quantidades de DNA e histonas duplicam, e os cromossomos

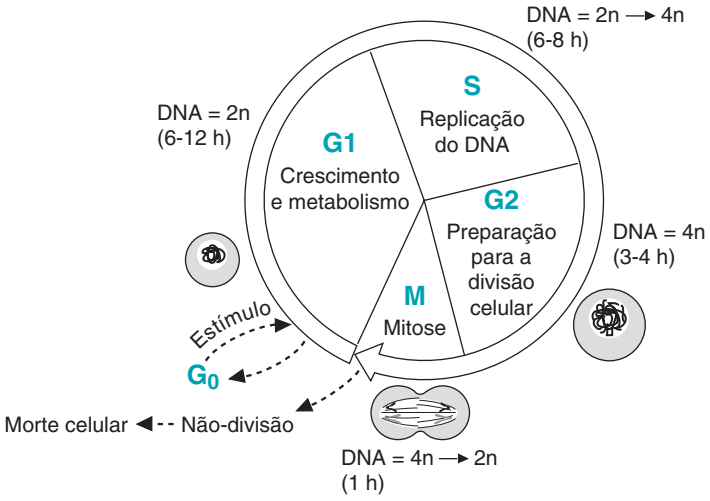


Figura 13.7 Ciclo celular de eucariotos. Os tempos dados para a extensão de cada fase são para células crescendo em cultura.

são duplicados. As histonas se unem com o DNA, e os nucleossomos são formados de forma muito rápida antes do avanço da forquilha de replicação.

Durante a terceira fase do ciclo celular, G2 (a segunda fase de "intervalo"), as células se preparam pra dividir e sintetizam tubulina para a construção dos microtúbulos do aparato do fuso. Finalmente, a divisão ocorre na breve fase mitótica ou fase M.

Após a mitose, algumas células retornam à fase G1, repetidamente seguindo as fases do ciclo celular e se dividindo. Outras células saem do ciclo celular após a mitose e não se dividem novamente, ou entram em uma fase G1 estendida (algumas vezes chamada de G0), na qual permanecem por longos períodos. Sob sinal apropriado, as células são estimuladas a entrar novamente no ciclo e se dividir.

B. Pontos de Origem para Replicação

Ao contrário dos cromossomos bacterianos (ver Seção I.A deste capítulo), os cromossomos eucarióticos têm múltiplos pontos de origem, nos quais a replicação inicia. "Bolhas" aparecem nesses pontos nos cromossomos. Ao final de cada bolha, forma-se uma forquilha de replicação; portanto cada bolha tem duas forquilhas. A síntese de DNA ocorre em cada uma dessas forquilhas, como ilustrado na Figura 13.8. À medida que as bolhas aumentam, elas finalmente se juntam, e a replicação é completada. Devido ao fato de os cromossomos eucarióticos conterem múltiplos pontos de origem de replicação (e, portanto, múltiplas unidades *replicons* de replicação), a duplicação de cromossomos tão grandes pode ocorrer em poucas horas.

C. DNA-polimerases de Eucariotos

Existem pelo menos nove DNA-polimerases nas células eucarióticas (α, β, γ, δ, ε, ζ, κ, η e ι) (Tabela 13.2). A polimerase δ (pol δ) é a principal enzima replicativa. A pol α e a pol ε também estão envolvidas na replicação. As polimerases β e ε, bem como a pol α, parecem estar envolvidas no reparo do DNA. A pol γ está localizada na mitocôndria e replica o DNA dessa organela. As polimerases ζ, κ, η e ι, as quais perdem a atividade exonuclease 3' → 5', são usadas quando o DNA é danificado.

D. O Complexo de Replicação em Eucariotos

Muitas proteínas se ligam à forquilha de replicação, ou próximo a ela, e participam no processo de duplicação do DNA (Figura 13.9) (Tabela 13.3). A polimerase δ (pol δ) é a principal enzima replicadora. No entanto, antes que ela atue, a primase associada à po-

Tabela 13.2 Funções das DNA-Polimerases Eucarióticas

Polimerase	Funções[a]	Atividade Exonuclease
Pol α	Replicação (em um complexo com primase e auxilia o iniciador)	Nenhuma
	Reparo do DNA	
Pol β	Exclusivamente reparo do DNA	Nenhuma
Pol γ	Replicação do DNA na mitocôndria	3' para 5'
Pol δ	Replicação (processamento da síntese de DNA na fita-líder e na atrasada)	3' para 5'
	Reparo do DNA	
Pol ε	Replicação (em alguns tecidos toma o lugar da Pol d)	3' para 5'
	Reparo do DNA	
Pol κ	Reparo do DNA (polimerase de desvio)[b]	Nenhuma
Pol η	Reparo do DNA (polimerase de desvio)	Nenhuma
Pol ζ	Reparo do DNA (polimerase de desvio)	Nenhuma
Pol ι	Reparo do DNA (polimerase de desvio)	Nenhuma

[a] A síntese de nova fita de DNA sempre ocorre de 5' para 3'.
[b] As polimerases de desvio são capazes de "desviar" áreas de DNA danificado e continuar a replicação do DNA. Algumas enzimas são livres de erro e inserem as bases corretas; outras enzimas são propensas a erro e inserem bases aleatórias.



As células HeLa, derivadas de carcinoma cervical humano, são células que se dividem rapidamente, podendo crescer em frascos de cultura. Seu ciclo celular é de cerca de 20 horas. Somente uma hora desse tempo é gasta na mitose.

As células do corpo que se dividem com menos freqüência, como as células do fígado, gastam dias, semanas ou meses em interfase antes de passarem para uma breve fase mitótica.



Embora Prometeu estivesse preso a uma rocha como punição por seu roubo do fogo dos Deuses, e um abutre tenha picado seu fígado todos os dias, ele sobreviveu. Você pode imaginar por quê?



No corpo humano, muitas células ciclam com freqüência, por exemplo, folículos pilosos, células da pele e células das criptas duodenais. Outras células, como as precursoras das hemáceas, dividem-se diversas vezes, então perdem seus núcleos e abandonam o ciclo celular para formar hemáceas maduras. Essas células transportam oxigênio e dióxido de carbono entre os pulmões e outros tecidos por cerca de 120 dias e, então, morrem. Outras células são normalmente quiescentes (em G0). No entanto, elas podem ser estimuladas a dividir. Algumas vezes, os estímulos são fatores de crescimento ou hormônios (p. ex., células alveolares mamárias e células uterinas). No caso das células do fígado, o estímulo é produzido pela morte de algumas células.

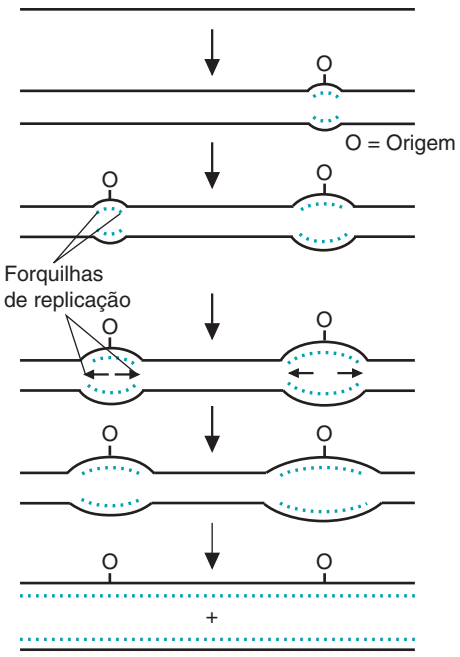


Figura 13.8 Replicação de um cromossomo eucariótico. A síntese é bidirecional de cada ponto da origem (O) e semiconservativa, cada hélice de DNA filha contém uma fita parental intacta (linha sólida) e uma fita recentemente sintetizada (linha pontilhada).

Os fragmentos de Okazaki são muito menores em eucariotos do que em procariotos (em torno de 200 nucleotídeos *versus* 1.000 a 2.000). Devido ao fato de o tamanho dos fragmentos de Okazaki eucarióticos ser equivalente ao tamanho do DNA encontrado em nucleossomos, parece provável que um nucleossomo de cada vez possa liberar seu DNA para replicação.

R: As células do fígado estão em G_0. Acima de 90% do fígado humano podem ser removidos. As células hepáticas remanescentes são estimuladas a entrar novamente no ciclo celular e dividir, regenerando a massa equivalente à massa original do fígado em poucas semanas. O mito de Prometeu mostra que a capacidade do fígado de regenerar foi reconhecida ainda em tempos passados.

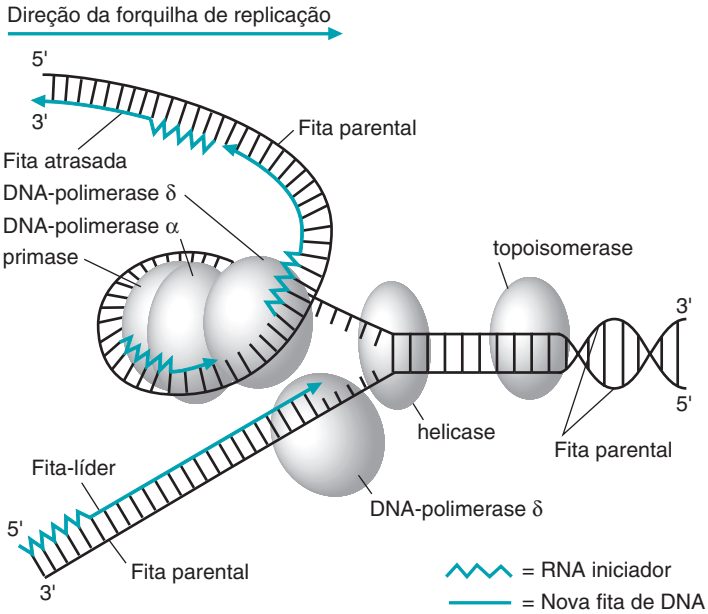


Figura 13.9 Complexo de replicação em eucariotos. A fita atrasada é mostrada em torno do complexo de replicação. As proteínas de ligação de fita simples (não-mostradas) são ligadas à fita simples, não-pareada, de DNA. Outras proteínas também participam neste complexo (ver texto).

limerase α (pol α) produz um iniciador de RNA (com aproximadamente 10 nucleotídeos de extensão). A pol α adiciona, então, cerca de 20 desoxirribonucleotídeos a esse RNA e dissocia-se da fita-molde, devido à baixa capacidade de processamento da pol α. Na fita-líder, a pol δ adiciona desoxirribonucleotídeos a esse iniciador RNA-DNA, produzindo essa fita continuamente. A pol δ é uma enzima altamente processadora.

A fita atrasada é produzida a partir de uma série de fragmentos de Okazaki (ver Figura 13.5). A síntese de cada fragmento de Okazaki é iniciada pela pol α e a primase associada, como descrito anteriormente. Após a pol α se dissociar, a pol δ adiciona desoxirribonucleotídeos ao iniciador, produzindo um fragmento de Okazaki. A pol δ interrompe a síntese de um fragmento quando atinge o início do fragmento de Okazaki previamente sintetizado (ver Figura 13.5). O iniciador do fragmento de Okazaki previamente sintetizado é removido por endonuclease 1 (FEN 1) e RNase H. O espaço

Tabela 13.3 Principais Proteínas Envolvidas na Replicação

DNA-polimerases	– Adicionam nucleotídeos a uma fita em crescimento 5′ → 3′, copiam um molde de DNA 3′ → 5′
Primase	– Sintetiza RNAs iniciadores
Helicases	– Separam as fitas de DNA parental, isto é, desenrolam a dupla hélice
Proteínas de ligação de fita simples	– Impedem a reassociação de fitas simples de DNA
Topoisomerases	– Aliviam a tensão na dupla fita parental causada pelo desenrolamento
Enzimas que removem iniciadores	– RNase H – hidrolisa RNA de híbridos DNA-RNA – Flap-endonuclease 1 (FEN 1) – reconhece *flap* (porção não-pareada do RNA) próxima à terminação 5′ do iniciador e cliva ajusante no DNA na região do iniciador
DNA-ligase	– Une, por formação de uma ligação fosfodiéster, duas fitas de DNA adjacentes que estão ligadas ao mesmo molde

deixado pelo iniciador é preenchido por uma DNA-polimerase que usa a fita de DNA parental como molde e o fragmento de Okazaki recentemente sintetizado como seu iniciador. A DNA-ligase subseqüentemente une os fragmentos de Okazaki um ao outro (ver Figura 13.6).

Obviamente, a replicação em eucariotos requer muitas proteínas. A complexidade da forquilha e o fato de ela não ser completamente conhecida limita os detalhes mostrados na Figura 13.9. Uma proteína não-mostrada é o antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA, do inglês *proliferating cell nuclear antigen*), o qual está envolvido na organização e orquestração do processo de replicação.

As atividades adicionais que ocorrem durante a replicação incluem checagem e reparo do DNA. A pol δ, que é parte do complexo de replicação, tem a atividade exonuclease 3' → 5' necessária para a checagem. As enzimas que catalisam o reparo de erros no pareamento de bases também estão presentes (ver Seção III.B.3 deste capítulo). Conseqüentemente, a replicação eucariótica ocorre com alta fidelidade; cerca de um erro de pareamento ocorre a cada 10^9 a 10^{12} nucleotídeos incorporados na cadeia de DNA em crescimento.

E. Replicação das Terminações dos Cromossomos

Os cromossomos eucarióticos são lineares, e suas porções terminais são chamadas de telômeros. Como a replicação do DNA chega ao final do cromossomo, um problema ocorre na fita atrasada (Figura 13.10). A primase não pode pôr de volta um fragmento iniciador na extremidade do cromossomo, ou, após a replicação do DNA estar completa, o RNA do final do cromossomo é degradado. Conseqüentemente, a fita recentemente sintetizada é mais curta na terminação 5', e existe uma projeção 3' na fita de DNA que está sendo replicada. Se o cromossomo torna-se mais curto em cada replicação sucessiva, genes poderiam ser perdidos. Como esse problema é resolvido?

A projeção 3' é alongada pela adição de telômeros até que a primase possa ligar e sintetizar a fita complementar. Os telômeros consistem em uma seqüência repetida de bases (TTAGGG para humanos), a qual pode ser repetida milhares de vezes. A enzima telomerase contém proteína e RNA e atua como uma DNA-polimerase RNA-dependente (semelhante à transcriptase reversa). O RNA da telomerase contém a cópia complementar da seqüência repetida nos telômeros e pode parear bases com a projeção 3' existente (Figura 13.11). A atividade polimerase da telomerase, então, usa o grupamento hidroxila 3' existente da projeção como um fragmento iniciador, e seu próprio RNA como um molde, e sintetiza novo DNA que alonga a terminação 3' da fita de DNA. A telomerase move o DNA para baixo em direção à nova terminação 3' e repete o processo diversas vezes. Quando a projeção 3' está suficientemente longa, a primase se liga, e a síntese da fita complementar é completada. A projeção 3' também pode formar uma estrutura complicada com os telômeros se ligando a proteínas para proteger as extremidades dos cromossomos de danos e do ataque de nucleases, uma vez que elas foram alongadas.

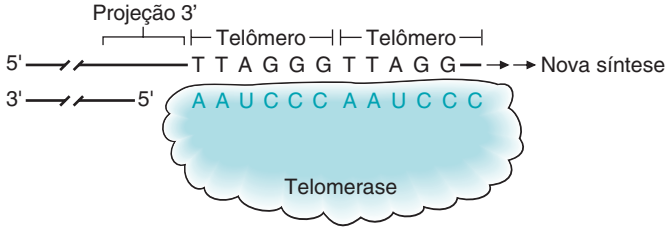


Figura 13.11 Ação da telomerase. O RNA presente na polimerase pareia bases com a projeção da terminação 3' dos telômeros e estende o DNA por ambas ações, como um molde e uma transcriptase reversa. Após copiar um pequeno número de repetições, o complexo se move de volta para a terminação 3' da projeção e repete o processo.

O antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA) é usado clinicamente como um marcador diagnóstico para a proliferação.

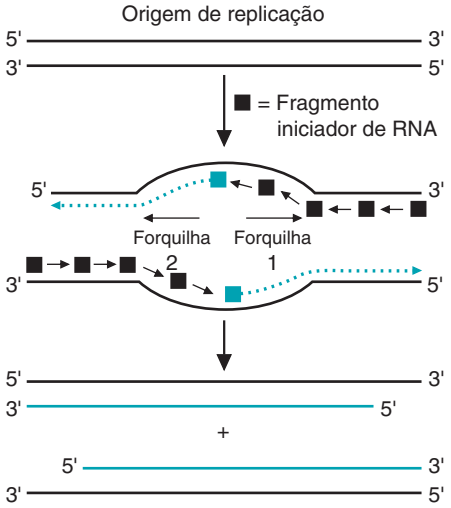


Figura 13.10 O problema do "final da replicação" em cromossomos lineares. Após a replicação, as telomerases têm projeções 3'. Quando essas moléculas são replicadas, ocorre o encurtamento dos cromossomos. A figura representa um cromossomo linear com uma origem de replicação. Na origem, duas forquilhas de replicação são geradas, cada uma movimentando-se na direção oposta, marcadas como Forquilha 1 e Forquilha 2. Como a Forquilha 1 move-se para a direita, a fita inferior é lida na direção 3' para 5', o que significa que ela é o molde para a fita-líder. O DNA complementar recentemente sintetizado para a fita superior na Forquilha 1 será a fita atrasada. Considerando a Forquilha 2, como ela se move para a esquerda, a fita superior é lida na direção 3' para 5'; então o DNA complementar recentemente sintetizado para a fita superior será a fita-líder, enquanto o DNA complementar recentemente sintetizado para a fita inferior será a fita atrasada.

Uma inabilidade para replicar telômeros tem sido associada ao envelhecimento e à morte celular. Muitas células somáticas não expressam telomerase; quando colocadas em cultura, elas sobrevivem a um número fixo de duplicações da população, entram em senescência e, então, morrem. Análises têm mostrado um significativo encurtamento do telômero nessas células. Em contraste, células indiferenciadas expressam telomerase e parecem ter um tempo de vida infinito em cultura. Pesquisas estão em andamento para conhecer o papel da telomerase no envelhecimento celular, no crescimento e no câncer.

Nick O'Tyne fumou por 40 anos apesar das advertências nos maços de cigarros de que esse hábito pode ser perigoso e mesmo mortal. A queima do fumo, assim como de qualquer material orgânico, produz muitos carcinógenos diferentes, tais como benzopireno. Esses carcinógenos cobrem as vias aéreas e os pulmões. Eles podem atravessar a membrana celular e interagir com o DNA, causando danos a bases que interferem no pareamento normal de bases. Se essas lesões no DNA não podem ser reparadas, ou não são reparadas suficientemente rápido, uma mutação permanente pode ser produzida quando as células replicam. Algumas mutações são silenciosas, enquanto outras podem levar ao crescimento celular anormal e resultar em câncer.

Os melanomas se desenvolvem da exposição da pele aos raios ultravioleta do sol. A radiação ultravioleta faz com que dímeros de pirimidina se formem no DNA. O resultado dessas mutações pode produzir melanomas, aparecendo como tumores marrom-escuros na pele.

Felizmente, a lesão maligna de pele de **Mel Anoma** foi descoberta no estágio inicial. Como não havia nenhuma evidência de câncer nas margens da massa ressecada, uma recuperação completa foi observada. No entanto, vigilância para o retorno do melanoma foi planejada para toda a vida.

Os dímeros de pirimidina, mais comumente dímeros de timina, podem ser reparados por enzimas fotorreativas que clivam as ligações entre as bases pelo uso de energia de luz visível. Nesse processo, os nucleotídeos não são removidos do DNA danificado. Esse processo de reparo é usado por bactérias e pode servir como um mecanismo de reparo muito menos importante em células humanas.

III. REPARO DO DNA

A. Ações de Agentes Mutagênicos

Apesar da checagem e do reparo de erros durante a replicação, algumas bases inapropriadas persistem. Problemas adicionais podem se originar de DNA danificado por agentes mutagênicos (mutágenos) químicos produzidos nas células, inalados ou absorvidos do ambiente que causam mutações. Mutágenos que levam células normais a tornarem-se células cancerosas são conhecidos como carcinógenos. Infelizmente, pareamento errado de bases e DNA danificado produzem milhões de lesões potencialmente mutagênicas em cada célula diariamente. Sem mecanismos de reparo, não haveria como sobreviver a esses ataques nos genes.

Os danos no DNA podem ser causados por radiação e por químicos (Figura 13.12). Esses agentes podem afetar diretamente o DNA ou atuar indiretamente. Por exemplo, raios X, um tipo de radiação ionizante, atua indiretamente para danificar o DNA por excitação da água nas células e geração de radicais hidroxila, os quais reagem com o DNA, alterando, assim, a estrutura das bases ou quebrando as fitas de DNA.

Enquanto a exposição a raios X é infreqüente, é mais difícil evitar a exposição à fumaça de cigarro e praticamente impossível evitar a exposição à luz do sol. A fumaça de cigarro contém carcinógenos como o hidrocarboneto policíclico aromático benzopireno (ver Figura 13.12). Quando esse composto é oxidado pelas enzimas celulares, as quais normalmente atuam para tornar os compostos inapropriados mais solúveis em água e fáceis pra excretar, ele se torna capaz de formar ligações fortes com resíduos de guanina no DNA. Raios ultravioleta do sol, os quais também produzem distorções na hélice de DNA, excitam bases pirimídicas adjacentes nas fitas de DNA, causando, então, a formação de dímeros covalentes (Figura 13.13).

B. Mecanismos de Reparo

Os mecanismos usados para o reparo do DNA têm muitas similaridades (Figura 13.14). Primeiro, uma distorção na hélice do DNA é reconhecida, e a região contendo a distorção é removida. O espaço na fita danificada é preenchido pela ação da DNA-polimerase que usa a fita intacta, não-danificada, como um molde. Finalmente, a ligase sela o fragmento na fita que foi submetida ao reparo.

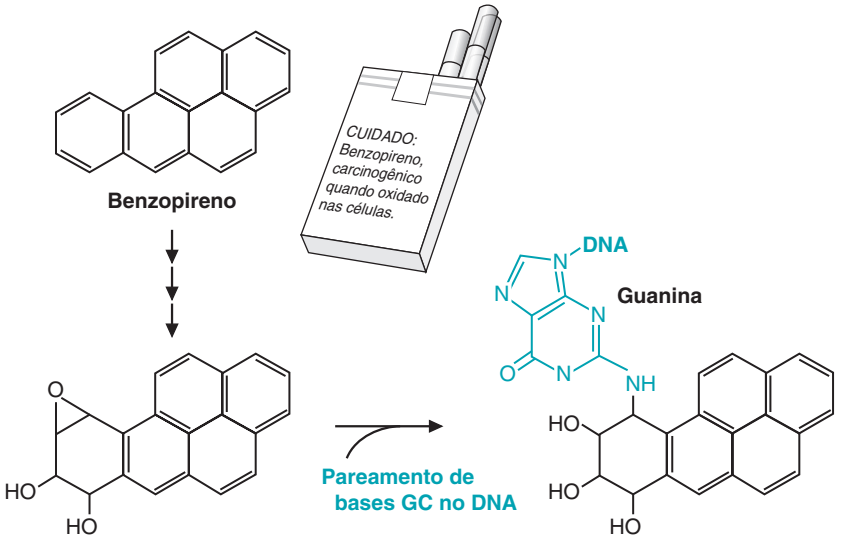


Figura 13.12 Oxidação de benzopireno e ligação covalente ao DNA. Benzopireno não é carcinogênico até a sua oxidação nas células. Então, pode ligar-se covalentemente aos resíduos de guanina no DNA, rompendo pontes de hidrogênio nos pares de bases G-C e produzindo distorções da hélice.

1. REPARO POR EXCISÃO DE NUCLEOTÍDEO

O reparo por excisão de nucleotídeo envolve distorção local da hélice de DNA, bem como erro no pareamento de bases ou grandes aductos (p. ex., benzopireno oxidado) (Figura 13.15, ver também Figura 13.14). As endonucleases clivam a cadeia anormal e removem a região distorcida. O espaço é, então, preenchido pela DNA-polimerase que adiciona desoxirribonucleotídeos, um de cada vez, à terminação 3' do DNA clivado, usando a fita de DNA complementar intacta como molde. O segmento recentemente sintetizado é unido à terminação 5' da fita de DNA original remanescente pela DNA-ligase.

2. REPARO POR EXCISÃO DE BASES

A DNA-glicosilase reconhece pequenas distorções no DNA envolvendo lesões causadas por dano a uma única base (p. ex., a conversão de citosina para uracil). Uma glicosilase cliva a ligação *N*-glicosídica que une a base errada à desoxirribose (ver Figura 13.15). O açúcar-fosfato da cadeia principal do DNA agora perde a base nesse sítio (conhecido como um sítio apúrico ou apirimídico, ou um sítio AP). Então uma nuclease AP cliva o açúcar-fosfato da fita nesse sítio. Subseqüentemente, os mesmos tipos de enzimas envolvidos em outros tipos de mecanismos de reparo fazem com que essa região retorne ao normal.

3. REPARO DE ERROS DE PAREAMENTO

Bases pareadas erroneamente (bases que não formam pares de bases normais de Watson-Crick) são reconhecidas por enzimas do sistema de reparo de erros de pareamento. Como nenhuma das bases em um pareamento errado está danificada, essas enzimas de reparo devem ser capazes de determinar qual base do par errado devem corrigir.

Esse complexo enzimático de reparo de erros de pareamento atua durante a replicação quando uma base normal, mas incorreta (isto é, A, G, C ou T), é incorporada à cadeia em crescimento (Figura 13.16). Em bactérias, as fitas de DNA parental contêm um grupo metila em uma base adenina na seqüência específica. Durante a replicação, as fitas recentemente sintetizadas não são imediatamente metiladas. Antes de a metilação ocorrer, as proteínas envolvidas no reparo de erros de pareamento podem distinguir a fita parental das fitas recentemente sintetizadas. A região da nova fita, não-metilada, contendo a base pareada erroneamente, é removida e substituída.

Enzimas humanas também podem distinguir as fitas parentais das fitas recentemente sintetizadas e reparar erros. No entanto, o mecanismo ainda não está tão bem definido como em bactérias.



Os dímeros de pirimidina ocorrem freqüentemente na pele. Em geral mecanismos de reparo corrigem esses danos, e raramente ocorre câncer. No entanto, em indivíduos com xeroderma pigmentoso, cânceres são extremamente comuns. Esses indivíduos têm defeitos em seus sistemas de reparo do DNA. O primeiro defeito a ser identificado foi a deficiência da endonuclease envolvida na remoção dos dímeros de pirimidina do DNA. Devido à inabilidade de reparar o DNA, a freqüência de mutações aumenta. Um câncer se desenvolve uma vez que proto-oncogenes ou genes supressores de tumor sofrem mutação. Por evitar muito a luz, esses indivíduos podem reduzir o número de cânceres de pele que se desenvolvem.



A desaminação espontânea ocorre com freqüência no DNA humano e converte bases citosina em uracil. Essa base normalmente não é encontrada no DNA e é potencialmente perigosa, pois U pareia com A, formando um par de bases U-A em vez do par normal C-G. Para prevenir a ocorrência dessa mudança, uma uracil-*N*-glicosilase remove o uracil e é substituída por uma citosina por meio do reparo por excisão de base.



O câncer colorretal hereditário não-poliposo (um câncer humano que não é originário de pólipos intestinais) é causado por mutações em genes de proteínas envolvidas no reparo de erros de pareamento (hMSH1, hMSH2, hPMS1 ou hPMS2). A incapacidade de reparar erros de pareamento aumenta a freqüência de mutações, resultando em câncer por mutações em genes reguladores de proliferação.

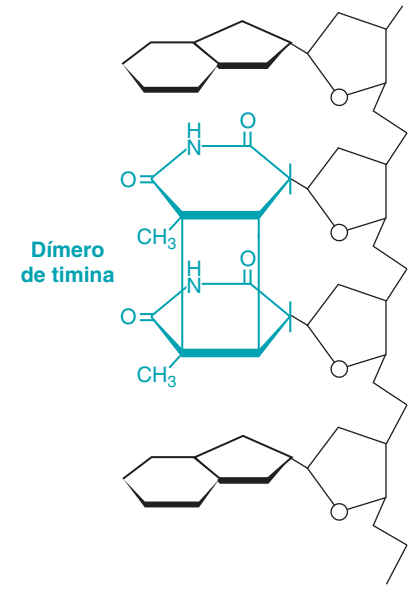


Figura 13.13 Um dímero de timina na fita de DNA. A luz ultravioleta pode levar duas pirimidinas adjacentes a formar um dímero covalente.

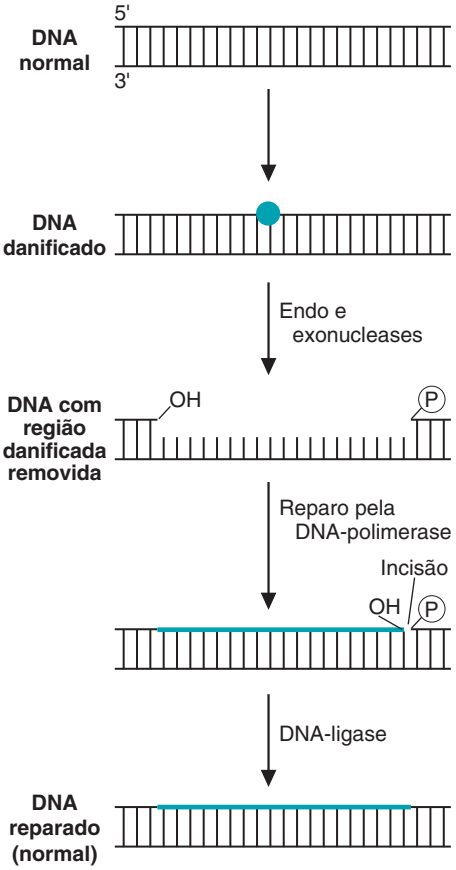


Figura 13.14 Passos comuns nos mecanismos de reparo do DNA.

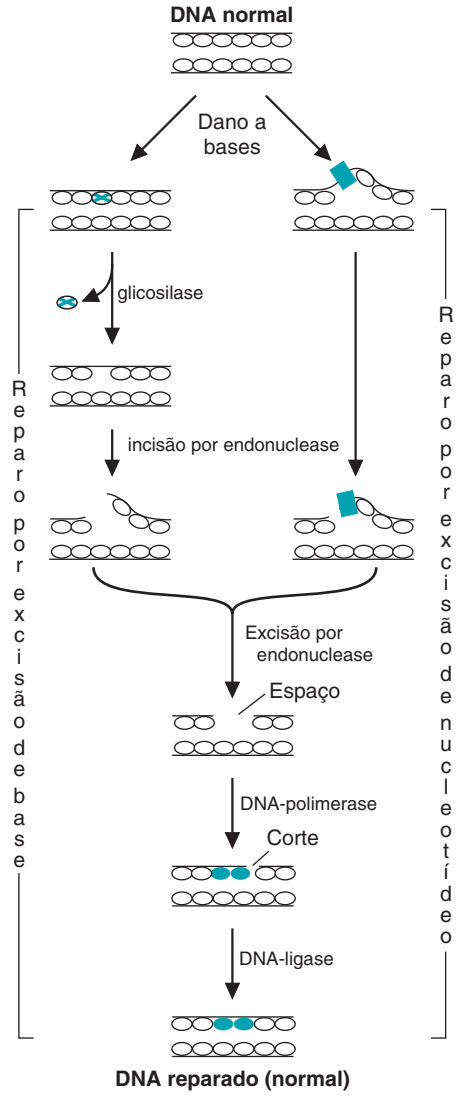


Figura 13.15 Tipos de danos e vários mecanismos de reparo. No reparo por excisão de base, a glicosilase corta a ligação glicosídica entre a base alterada (mostrada com um X) e a ribose. No reparo por excisão de nucleotídeo, o nucleotídeo inteiro é removido simultaneamente. O espaço formado pela incisão (corte) e excisão (remoção) por endonucleases geralmente é de diversos nucleotídeos a mais do que aquele mostrado.

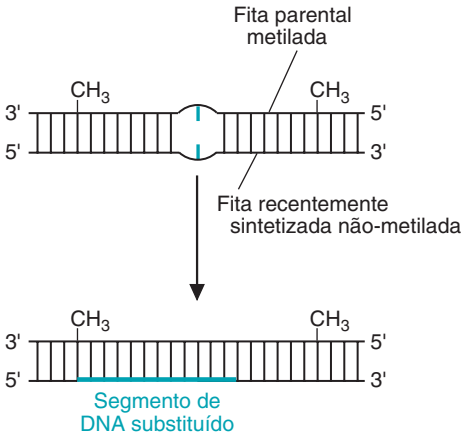


Figura 13.16 Reparo de erro de pareamento. A base normal, não-danificada, mas pareada erroneamente, liga proteínas do sistema de reparo de erro de pareamento. Em bactéria, essas proteínas reconhecem a fita parental mais velha, pois ela é metilada e substitui o segmento de DNA recentemente sintetizado (e não-metilado) contendo a base errada. O mecanismo para distinguir entre a fita parental e a recentemente sintetizada em humanos não é tão bem conhecido.

4. REPARO ASSOCIADO À TRANSCRIÇÃO

Os genes que são transcritos de forma ativa para produzir mRNA são preferencialmente reparados. A RNA-polimerase que está transcrevendo um gene (ver Capítulo 14 para a descrição desse processo) pára quando encontra uma região do DNA-molde danificada. Proteínas de reparo por excisão são atraídas para esse local e reparam a região danificada. Subseqüentemente, a RNA-polimerase pode retomar a transcrição.

IV. REARRANJOS GENÉTICOS

A troca de segmentos entre moléculas de DNA ocorre com muita freqüência e é responsável por alterações genéticas que podem ter conseqüências benéficas ou desvantajosas para os indivíduos afetados e, em alguns casos, para seus descendentes. Os segmentos do DNA que são modificados podem ser homólogos (isto é, de seqüências muito similares) ou totalmente diferentes. O tamanho desses segmentos pode variar de poucos nucleotídeos a dezenas ou milhares e pode incluir muitos genes diferentes ou porções de genes. Muitas das enzimas envolvidas nessas trocas são as mesmas ou são similares àquelas usadas para a replicação e o reparo e incluem endonucleases, exonucleases, enzimas desenroladoras (girases), topoisomerases, DNA-polimerases e ligases.

Um tipo de rearranjo genético que foi observado há muitos anos é o *crossing-over* entre cromossomos homólogos durante a meiose. Um outro tipo ocorre em células indiferenciadas quando elas se diferenciam em linfócitos. Os segmentos de genes das células indiferenciadas são rearranjados para que as células maduras sejam capazes de produzir somente um único tipo de anticorpo (ver Capítulo 16). Outros tipos de trocas genéticas envolvem elementos de transposição (*transposons*) que podem mover-se de um lugar para outro no genoma ou produzir cópias que podem ser inseridas em novos locais. Translocações ocorrem quando cromossomos quebram e porções tornam-se unidas a outros cromossomos aleatoriamente, produzindo mudanças grosseiras que podem ser observadas em microscópio óptico. Trocas genéticas podem até mesmo ocorrer entre espécies, por exemplo, quando um DNA estranho é inserido no genoma humano como resultado de uma infecção viral.

A. Recombinação Geral ou Homóloga

Vários modelos, suportados por evidências experimentais, têm sido propostos para os mecanismos de recombinação entre seqüências de DNA homólogas. Embora esses mecanismos sejam complexos, um esquema simplificado para um tipo de recombinação é apresentado na Figura 13.17.

Inicialmente, seqüências de dois cromossomos homólogos ou segmentos de dupla hélice (duplex) de DNA que são muito similares, mas não necessariamente idênticos, tornam-se alinhados (ver Figura 13.17). Uma fita de um duplex é cortada por uma enzima e invade o outro DNA duplex, pareando bases com uma região de seqüência complementar. O pareamento entre as seqüências não precisa ser perfeito; contudo, um número significativo de bases deve parear para que a fita deslocada de sua irmã possa formar uma alça de deslocamento (D). Essa alça D é cortada, e a fita deslocada agora pareia bases com a fita-irmã da fita invadida. A ligação ocorre, e uma estrutura *Holliday* é gerada (ver Figura 13.17). O ponto de inserção da estrutura *Holliday* pode migrar e mover muitos milhares de nucleotídeos da sua posição original. A estrutura *Holliday*, denominada pelo cientista que a descobriu, é finalmente clivada e, então, religada, formando dois cromossomos que têm segmentos trocados. Além das enzimas similares àquelas usadas na replicação do DNA, enzimas para a invasão da fita, a migração do segmento e a clivagem da estrutura *Holliday* são necessárias.

B. Translocações

Quebras em cromossomos, causadas por agentes como raios X ou carcinógenos químicos, podem resultar em rearranjos cromossomais grosseiros (Figura 13.18). Se as terminações livres do DNA no ponto da quebra religam com as terminações livres de um outro cromossomo quebrado, uma translocação é produzida. Essas trocas de grandes porções dos cromossomos podem ter efeitos deletérios e com freqüência são observadas em células cancerosas.

C. Elementos de Transposição

Elementos genéticos movíveis (ou transponíveis), *jumping genes* ("genes saltatórios"), foram primeiro observados por Barbara McClintock nos anos de 1940. Seu trabalho, inicialmente visto com ceticismo, foi finalmente aceito e recebeu o Prêmio Nobel em 1983.

Os *transposons* são segmentos de DNA que podem mover-se de sua posição original no genoma para uma nova localização (Figura 13.19). Eles são encontrados em todos os organismos. Os *transposons* contêm o gene de uma enzima chamada de transposase, a qual está envolvida na clivagem de *transposons* do genoma e na movimentação deles de uma localização para outra.

Os *retroposons* são similares aos *transposons* exceto que eles envolvem um RNA intermediário. A transcriptase reversa (ver a seguir) faz uma cópia do DNA de fita simples do RNA. Um DNA de dupla fita é, então, produzido e inserido no genoma em uma nova localização.

V. TRANSCRIPTASE REVERSA

A transcriptase reversa é a enzima que usa um molde de RNA de fita simples e faz uma cópia de DNA (Figura 13.20). O molde de RNA pode ser transcrito do DNA por RNA-polimerase ou obtido de outra fonte, como um RNA de vírus. A cópia de DNA produzida do RNA pela transcriptase reversa é conhecida como DNA complementar (pois é complementar ao molde de RNA), ou cDNA. O retrovírus (RNA viral) contém uma transcriptase reversa, a qual copia o RNA do genoma viral. Um cDNA de dupla fita é produzido e pode integrar-se ao genoma humano (ver Figura 12.23). Após a integração, os genes virais podem estar inativos ou ser transcritos, algumas vezes causando doenças como a AIDS ou o câncer (ver Capítulo 18).

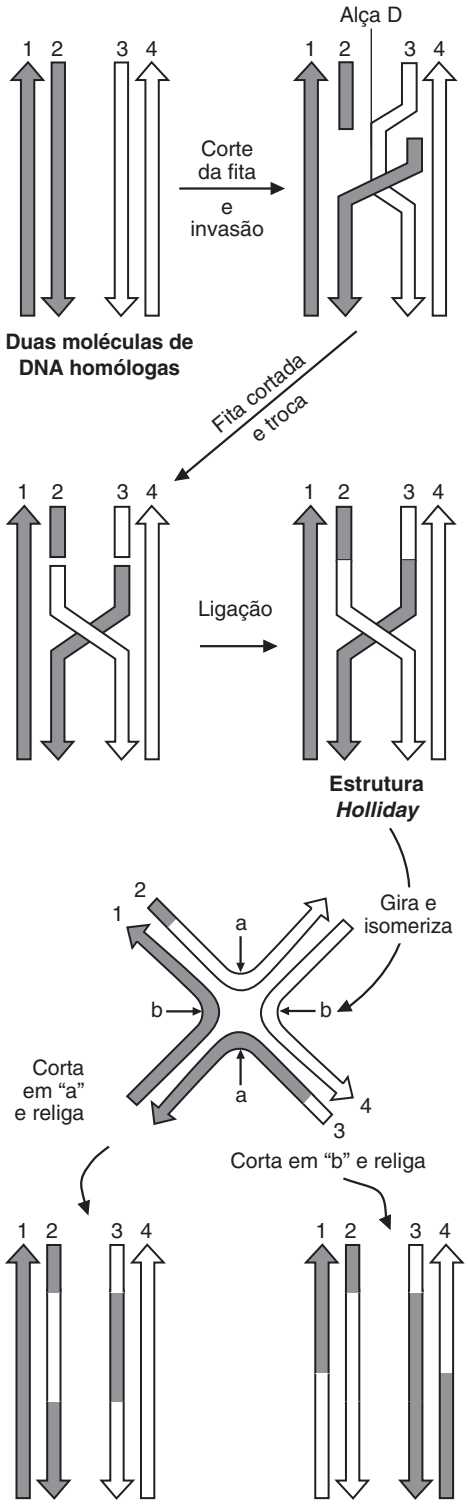


Figura 13.17 Principais passos na recombinação.

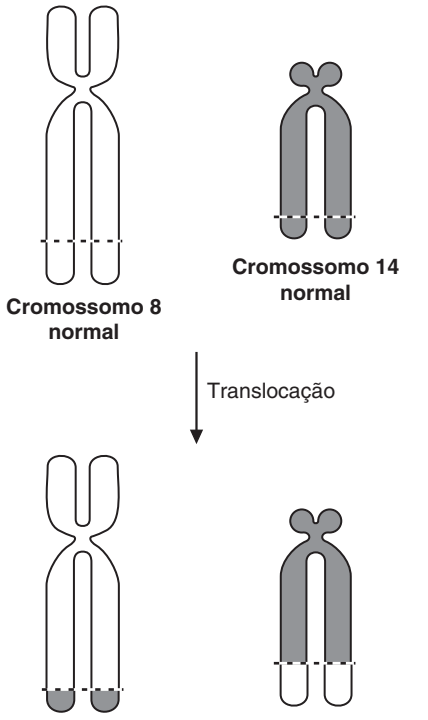


Figura 13.18 Uma translocação cromossômica. Uma porção do braço longo do cromossomo 8 é trocada por uma porção do braço longo do cromossomo 14. Essa translocação cromossomal ocorre no linfoma de Burkitt.

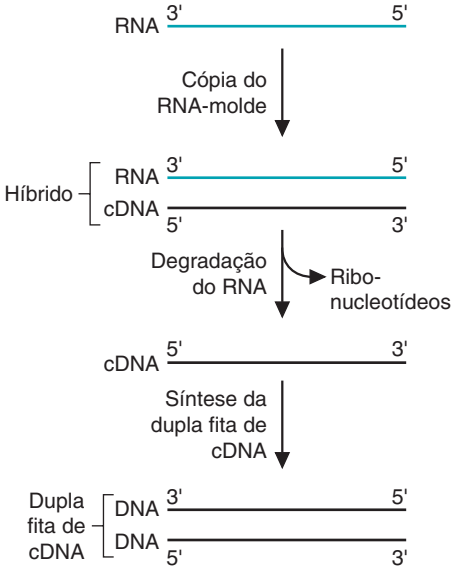


Figura 13.20 Ação da transcriptase reversa. Essa enzima catalisa a produção de uma cópia de DNA de um RNA-molde. O RNA de um híbrido DNA-RNA é degradado, e a fita simples de DNA é usada como molde para fazer a dupla fita de DNA. Essa figura é uma versão simplificada de um processo mais complexo.

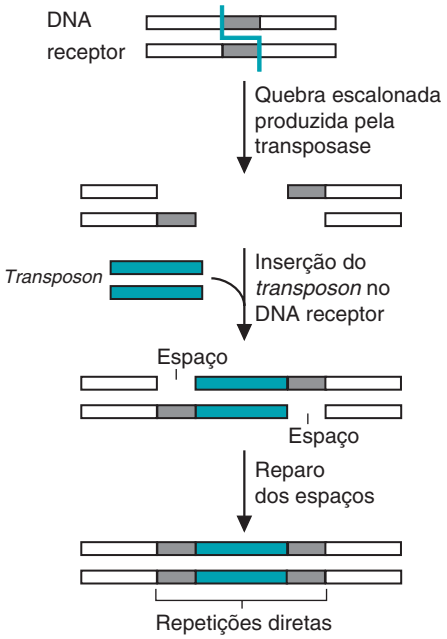


Figura 13.19 *Transposons*. Os passos envolvidos na transposição são mostrados. As repetições diretas são regiões do DNA que têm a mesma seqüência de bases na direção 5′→3′.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Ivy Sharer. Ivy Sharer contraiu AIDS quando utilizou agulhas contaminadas com HIV para injetar drogas por via intravenosa. Os usuários de drogas intravenosas correspondem a 15 a 20% dos casos novos de AIDS nos Estados Unidos. O HIV sofre mutação rapidamente, e, portanto, o tratamento atual envolve uma combinação de fármacos que afetam aspectos diferentes de seu ciclo de vida. Essa terapia com múltiplos fármacos diminui a titulação viral (o número de partículas virais encontradas em um dado volume de sangue), algumas vezes para níveis indetectáveis. Contudo, se o tratamento não é seguido de forma cuidadosa (ou seja, se o paciente não "adere"), a titulação aumenta rapidamente. Portanto, o médico de Ivy enfatizou que ela deve seguir cuidadosamente o esquema de fármacos.

Di Abietes. O diabetes melito mal controlado de Di Abietes a predispôs a uma infecção do trato urinário, pois a glicose na urina serve como um "meio de cultura" para o crescimento bacteriano. As unidades glomérulo-tubulares dos rins reabsorvem a glicose filtrada de tal modo que normalmente a urina é livre de glicose. Contudo, quando os níveis séricos de glicose sangüínea excedem 175 a 185 mg/dL (o limite tubular para a glicose), a capacidade de reabsorção é excedida. No caso da Srta. Abietes, os níveis de glicose sangüínea freqüentemente excedem esse limiar.

Mel Anoma. A pessoa comum tem 20 molas na superfície corporal; contudo, apenas sete pessoas a cada cem mil desenvolvem melanoma. A incidência de melanoma maligno, contudo, está aumentando rapidamente. Como 35 a 40% dos pacientes com melanoma maligno morrem como resultado desse câncer, a decisão do médico de realizar uma biópsia em uma mola pigmentada com bordas irregulares e variação de cor provavelmente salvou a vida de **Mel Anoma**.

Nick O'Tyne. O câncer de pulmão atualmente corresponde a um quinto de todos os cânceres em homens e um décimo em mulheres. A taxa geral de sobrevida em cinco anos é menor do que 15%. Para aqueles que fumam dois ou

mais maços de cigarros por dia, como faz **Nick O'Tyne**, a taxa de morte é 265 por 100.000 pessoas. Felizmente, o fumo de cigarros declinou nos Estados Unidos. Enquanto 50% dos homens e 32% das mulheres fumavam em 1965, esses números caíram atualmente para 26% e 24%, respectivamente.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



Carcinógenos químicos e promotores de tumor. Uma vez que foi compreendido que diversos químicos reagem com o DNA, levando a mutações, e que mutações podem levar à formação de tumor, toxicologistas procuraram por químicos com a capacidade para causar tumores de pele em ratos. Para o teste, um químico foi aplicado em uma área de pele depilada no dorso de um rato para ver se um tumor poderia se desenvolver. Os químicos aplicados se dividiram em dois grupos: o grupo I, os iniciadores, causou mutações no DNA, e o grupo II, os promotores, aumentou muito a probabilidade que as células previamente iniciadas tinham de desenvolver um tumor. Os compostos do grupo II ativam uma proteína-quinase (proteína-quinase C), a qual em geral é ativada transitoriamente só quando as células normais são estimuladas a crescer. Os promotores de tumor, no entanto, estão presentes por um longo tempo e levam a uma ativação aumentada da proteína-quinase C.

Existe um caminho fácil para determinar quando um composto é um iniciador? Bruce Ames desenvolveu um teste rápido e simples para determinar quando químicos são mutagênicos. O teste básico usa bactérias que têm uma mutação em um gene necessário para a biossíntese de histidina e requerem histidina para o crescimento. As bactérias são tratadas com os químicos a serem testados, e o número que pode crescer na ausência de histidina é medido. As bactérias que não precisam mais de histidina para crescer devem ter adquirido uma segunda mutação, quimicamente induzida, que se opõe à inativação, mutação original. Dessa forma, a capacidade dos químicos de alterar o DNA pode ser determinada. Como muitos químicos (como o benzopireno) não se tornam carcinogênicos em humanos até que sejam metabolizados pelo fígado, o teste de Ames também envolve a incubação do químico com extrato de fígado e, então, teste do extrato metabolizado para a atividade de modificação do DNA.

Leituras Sugeridas

Hanawalt P. Transcription-coupled repair and human disease. Science 1994;266:1957-1958.

Kunkel T. DNA replication fidelity. J Biol Chem 1992;267:18251-18254.

Modrich P. Mismatch repair, genetic stability, and cancer. Science 1994;266:1959-1960.

Sancar A. Mechanisms of DNA excision repair. Science 1994;266:1954-1956.

Waga S, Stillman B. The DNA replication fork in eukaryotic cells. Annu Rev Biochem 1998;67:721-751.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 13

1. A transcriptase reversa, uma DNA-polimerase dependente de RNA, difere da DNA-polimerase δ por qual das seguintes alternativas?

   (A) Sintetiza DNA na direção 5' para 3'
   (B) Contém atividade exonuclease de 3' para 5'
   (C) Segue as regras de pareamento de bases de Watson-Crick
   (D) Sintetiza DNA na direção 3' para 5'
   (E) Pode inserir inosina em uma cadeia de DNA em crescimento

2. Se um fragmento de 1.000 quilobases de DNA tem 10 origens de replicação igualmente espaçadas e simétricas e a DNA-polimerase move-se a 1 quilobase por segundo, quantos segundos serão necessários para produzir duas moléculas-filhas (ignore problemas potenciais nas terminações dessas peças lineares de DNA)? Assuma que as 10 origens

são igualmente espaçadas uma da outra, mas não das terminações do cromossomo.

(A) 20
(B) 30
(C) 40
(D) 50
(E) 100

3. A primase não é necessária durante o processo de reparo devido a qual das seguintes alternativas?

(A) Tudo da primase está associado à origem de replicação.
(B) O RNA poderia ser altamente mutagênico em um sítio de reparo.
(C) A DNA-polimerase I não requer um iniciador.
(D) A DNA-polimerase III não requer um iniciador.
(E) A DNA-polimerase I ou III pode usar qualquer 3'-OH para alongamento.

4. Qual das seguintes enzimas é necessária para intensificar ativamente a separação das fitas de DNA durante a replicação?

(A) Helicase
(B) Exonuclease 3' para 5'
(C) DNA-ligase
(D) Primase
(E) Endonuclease AP

5. O principal mecanismo deficiente em pacientes com xeroderma pigmentoso envolve qual das seguintes alternativas?

(A) Mutação no gene da primase
(B) Incapacidade para excisar um segmento de DNA danificado por UV
(C) Mutação de um dos componentes do mecanismo de reparo
(D) Incapacidade para sintetizar DNA pela região danificada
(E) Perda da capacidade de checagem

14 Transcrição: Síntese de RNA

*A síntese de RNA a partir de um **DNA-molde** é chamada de **transcrição**. Os genes são transcritos por enzimas chamadas de **RNA-polimerases** as quais geram uma **fita simples de RNA** idêntica na seqüência (com exceção do U no lugar do T) a uma das fitas da dupla fita de DNA. A fita de DNA que direciona a seqüência de nucleotídeos no RNA por **complementaridade no pareamento de bases** é a fita-molde. A fita de RNA que é inicialmente gerada é o **transcrito primário**. O **DNA-molde é copiado** na direção **3' para 5',** e o **RNA transcrito** é **sintetizado** na direção **5' para 3'**. As RNA-polimerases diferem das DNA-polimerases, pois podem **iniciar** a **síntese** de novas fitas na ausência de um iniciador (*primer*).*

*Além de catalisar a polimerização de **ribonucleotídeos**, a RNA-polimerase deve ser capaz de reconhecer o gene apropriado para transcrever, a fita apropriada da dupla fita de DNA para copiar e o **ponto de início** da transcrição (Figura14.1). As seqüências específicas no DNA, chamadas de promotores, determinam onde a RNA-polimerase se liga e com que freqüência ela inicia a transcrição. Outras seqüências regulatórias, como **elementos proximais ao promotor** e **reforçadores**, também afetam a freqüência da transcrição.*

*Em **bactérias**, uma **única RNA-polimerase** produz os transcritos primários precursores para as três principais classes de RNA: RNA mensageiro (mRNA), RNA ribossomal (rRNA) e RNA transportador (tRNA). Devido ao fato de a bactéria não conter núcleo, os ribossomos se ligam ao mRNA quando ele está sendo transcrito, e a síntese de proteína ocorre simultaneamente com a transcrição.*

*Os **genes de eucariotos** são transcritos no núcleo por **três diferentes RNA-polimerases**, cada uma responsável por uma das principais classes de RNA. Os transcritos primários são **modelados** e **ordenados** para produzir os RNAs maduros. Os precursores do **mRNA** (chamados de **pré-mRNAs**) têm uma **guanosina** "capa" adicionada à terminação 5' e uma **"cauda" poli(A)** na terminação 3'. **Éxons**, os quais contêm a seqüência codificadora para as proteínas, são separados em **pré-mRNA** por **íntrons**, regiões que não têm função codificadora. Durante reações de **processamento** (*splicing*), os íntrons são removidos, e os éxons são conectados para formar o mRNA maduro. Em eucariotos, os precursores de tRNA e rRNA também são modificados e ordenados, contudo não tão extensivamente como o pré-mRNA.*

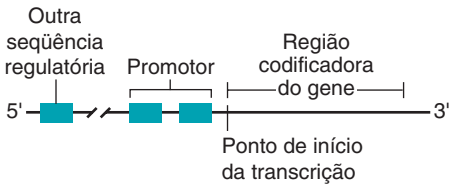


Figura14.1 Regiões de um gene. Um gene é um segmento do DNA que funciona como uma unidade para gerar um RNA produto ou, por meio dos processos de transcrição e tradução, uma cadeia polipeptídica. A região transcrita de um gene contém o molde para a síntese de um RNA, que começa no ponto de início da transcrição. Um gene também inclui regiões do DNA que regulam a produção do produto codificado, como uma região promotora. Em um gene estrutural, a região transcrita contém a seqüência codificadora que dita a seqüência de aminoácidos de uma cadeia polipeptídica.

SALA DE ESPERA

Anne Niemick é uma menina de 4 anos de ascendência mediterrânea cuja altura e peso estão abaixo do percentil 20 para meninas da sua idade. Ela é letárgica, cansa-se facilmente e se queixa de perda de apetite e falta de ar aos esforços. Uma dor dolente tem estado presente no quadrante superior direito pelos últimos três meses. Sua pele é acinzentada, e ela parece pálida. Os exames laboratoriais iniciais indicam uma anemia grave (contagem diminuída de células sangüíneas vermelhas) com uma hemoglobina de 6,2 g/dL (valores de referência, 12 a 16). Uma bateria adicional de testes hematológicos mostrou que Anne tem β^{+}-talassemia, tipo intermediário.

As talassemias são um grupo heterogêneo de anemias hereditárias que constituem a desordem genética mais comum no mundo, com um percentual de portadores de quase 7%. A doença foi primeiro descoberta em países próximos ao Mar Mediterrâneo e foi denominada pela palavra grega *thalassa*, significando "mar". No entanto, ela está presente também em áreas que se estendem para a Índia e a China, que estão próximas do equador.

As síndromes de talassemia são causadas por mutações que diminuem ou eliminam a síntese das cadeias α ou β no tetrâmero da hemoglobina A do adulto. As síndromes individuais são denominadas de acordo com a cadeia da qual a síntese é afetada e a gravidade da deficiência. Portanto, em talassemia β^0, o sobrescrito 0 indica que nenhuma das cadeias β está presente; em talassemia β^+, o + indica uma redução parcial na síntese da cadeia β. Mais de 170 mutações diferentes que causam talassemia têm sido identificadas; a maioria delas interfere na transcrição do mRNA da globina β ou seu processamento ou tradução.

Ivy Sharer, uma paciente com AIDS (ver Capítulos 12 e 13), desenvolveu uma tosse que produz um escarro levemente tingido de sangue. Um raio X de tórax indica infiltrados nas cavidades de ambos os campos pulmonares superiores (infiltrados cavitários). Uma coloração do escarro mostra a presença de bacilos ácido-resistentes, sugerindo um diagnóstico de tuberculose pulmonar causada por *Mycobacterium tuberculosis*.

Amanda Tin colheu cogumelos em uma área florestal perto de sua casa. Umas poucas horas após comer um pequeno cogumelo, ela teve náusea leve e diarréia. Ela trouxe um cogumelo com ela para a emergência do hospital. Um especialista em venenos identificou-o como *Amanita phalloides* (a "taça da morte"). Esses cogumelos contêm a toxina α-amanitina.

Sis Lupus, uma programadora de computador de 28 anos, observa fadiga crescente, dor no peito de origem pleural e uma tosse não-produtiva. Além disso, ela se queixa de dores articulares, especialmente nas mãos. Um *rash* em ambas as bochechas e na ponte do nariz ("*rash* em borboleta") tem estado presente pelos últimos seis meses. Os exames laboratoriais iniciais indicam uma contagem subnormal de células sangüíneas brancas e uma redução leve na hemoglobina. Os testes resultam em um diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico (LES) (freqüentemente chamado de lúpus).

I. AÇÃO DA RNA-POLIMERASE

A transcrição, a síntese do RNA a partir de um DNA-molde, é feita pela RNA-polimerase (Figura 14.2). Semelhante às DNA-polimerases, as RNA-polimerases catalisam a formação de ligações éster entre nucleotídeos que pareiam bases com os nucleotídeos complementares no DNA-molde. Diferentemente das DNA-polimerases, as RNA-polimerases podem começar a síntese de novas cadeias na ausência de iniciadores. Elas também perdem a atividade exonuclease 3' para 5' encontrada nas DNA-polimerases. A fita de DNA serve como um molde para a síntese de RNA e é copiada na direção 3' para 5'. A síntese de novas moléculas de RNA ocorre na direção 5' para 3'. Os ribonucleosídeos trifosfato ATP, GTP, CTP e UTP servem como precursores. A base de cada nucleotídeo pareia seqüencialmente com a base do desoxirribonucleotídeo complementar no DNA-molde (A, G, C e U pareiam com T, C, G e A, respectivamente). A polimerase forma uma ligação éster entre o fosfato α da ribose, a hidroxila 5' do nucleotídeo precursor e a hidroxila 3' da ribose no final da cadeia de RNA em crescimento. A clivagem de uma ligação fosfato de alta energia no nucleotídeo trifosfato e a liberação do pirofosfato (dos fosfatos β e γ) fornecem a energia para essa reação de polimerização. A clivagem subseqüente do pirofosfato por uma pirofosfatase também auxilia a direcionar a seqüência da reação de polimerização por remoção de um produto.

As RNA-polimerases devem ser capazes de reconhecer o ponto de início da transcrição de cada gene e a fita apropriada de DNA a ser usada como molde. Elas também devem ser sensíveis a sinais que refletem a necessidade do produto do gene e controlar a freqüência da transcrição. Uma região da seqüência regulatória chamada de promotor, em geral contígua com a região transcrita, controla a ligação da RNA-polimerase ao DNA e identifica o ponto de início da transcrição (ver Figura 14.1). A freqüência de transcrição é controlada por seqüências regulatórias no promotor, perto do promotor (elementos proximais ao promotor), e por outras seqüências regulatórias, tais como reforçadores, que podem estar localizadas a distâncias consideráveis, algumas vezes milhares de nucleotídeos, do ponto de início da transcrição. Os elementos proximais ao promotor e os reforçadores interagem com as proteínas que estabilizam a ligação da RNA-polimerase ao promotor.

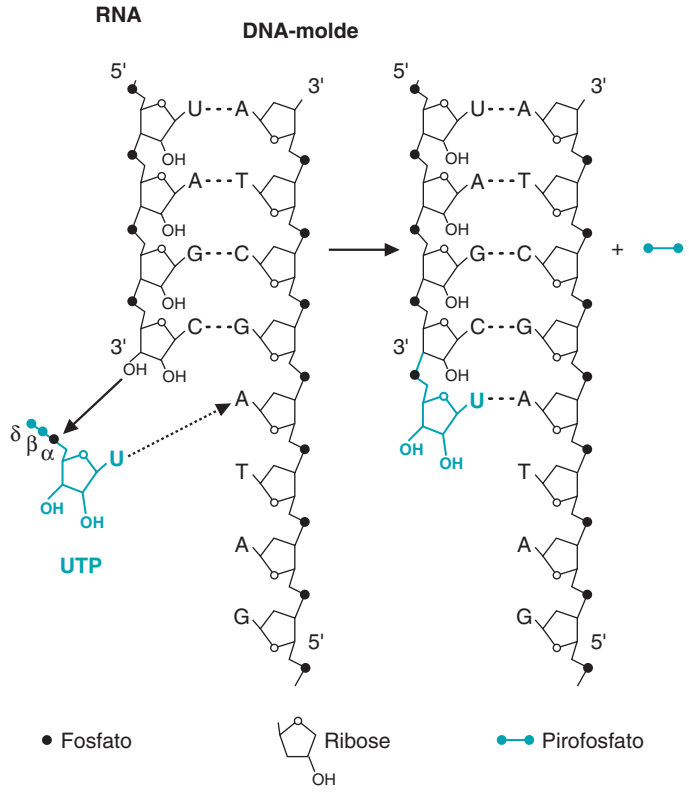


Figura 14.2 Síntese de RNA. O fosfato α do nucleotídeo adicionado (mostrado em preto) conecta os grupos ribosil.

II. TIPOS DE RNA-POLIMERASES

As células bacterianas têm uma unica RNA-polimerase que transcreve DNA para gerar todos os diferentes tipos de RNA (mRNA, rRNA e tRNA). A RNA-polimerase de *Escherichia coli* contém quatro subunidades ($\alpha_2\beta\beta'$), as quais formam a enzima principal. Uma outra proteína chamada de fator σ (sigma) liga a enzima principal e direciona a ligação da RNA-polimerase à região promotora específica do DNA-molde. O fator σ dissocia-se rapidamente após o início da transcrição. A *E. coli* tem diversos fatores σ diferentes que reconhecem a região promotora de diferentes grupos de genes. O maior fator σ é o σ^{70}, uma designação relacionada ao seu peso molecular de 70.000 dáltons.

Ao contrário dos procariotos, as células eucarióticas têm três RNA-polimerases (Tabela 14.1). A polimerase I produz a maioria dos rRNA, a polimerase II produz mRNA, e a polimerase III produz pequenos RNA, tais como tRNA e 5S rRNA. Todas essas RNA-polimerases têm o mesmo mecanismo de ação, contudo reconhecem diferentes tipos de promotores.

A. Seqüência de Genes

A dupla fita de DNA consiste em uma fita codificadora e uma fita-molde (Figura 14.3). A fita de DNA-molde é a fita que é usada de fato pela RNA-polimerase durante o processo de transcrição. Ela é complementar e antiparalela à fita codificadora (não-molde) do DNA e ao RNA transcrito produzido do molde. Portanto, a fita codificadora do DNA é idêntica na seqüência de bases e na direção ao RNA transcrito, exceto, é claro, que, quando essa fita de DNA contém um T, o RNA transcrito contém um U. Por convenção, a seqüência de nucleotídeos de um gene é representada pelas letras das bases



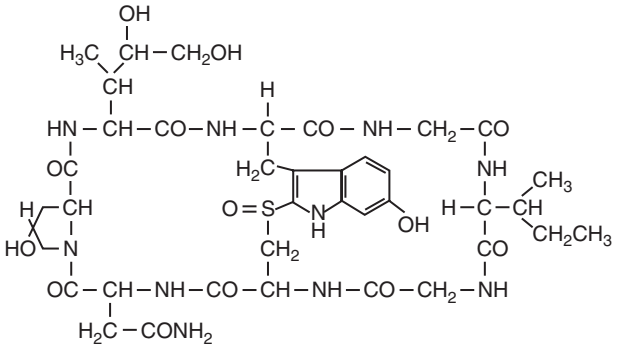
Os pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) com freqüência desenvolvem tuberculose. Após a coloração do escarro de **Ivy Sharer** ter sugerido que ela tinha tuberculose, um regime multifármacos antituberculose, o qual incluía um antibiótico da família da rifamicina (rifampicina), foi iniciado. A cultura do escarro foi feita para confirmar o diagnóstico.

O rifampicina inibe a RNA-polimerase bacteriana, seletivamente matando as bactérias que causam a infecção. A RNA-polimerase nuclear das células eucarióticas não é afetada. Embora a rifampicina possa inibir a síntese de RNA mitocondrial, a concentração necessária é consideravelmente maior do que aquela usada para o tratamento da tuberculose.

Tabela 14.1 Produtos das RNA-Polimerases de Eucariotos

RNA-polimerase I:	RNA
RNA-polimerase II:	mRNA
RNA-polimerase III:	tRNA + outros RNAs pequenos

Os cogumelos colhidos por **Amanda Tin** continham α-amanitina, um inibidor das RNA-polimerases de eucariotos. Ela é particularmente efetiva em bloquear a ação da RNA-polimerase II. Essa toxina inicialmente causa distúrbios gastrintestinais, desequilíbrio eletrolítico e febre, seguido por disfunções hepática e renal. Entre 40 e 90% dos indivíduos que ingerem α-amanitina morrem em poucos dias.



α–Amanitina

nitrogenadas da fita codificadora da dupla hélice de DNA. Ela é escrita da esquerda para a direita na direção 5' para 3'.

Durante a tradução, o mRNA é lido de 5' para 3' em conjuntos de três bases, chamados de códons, os quais determinam a seqüência de aminoácidos das proteínas (ver Figura14.3). Portanto, a seqüência de bases da fita codificadora do DNA pode ser usada para determinar a seqüência de aminoácidos da proteína. Por essa razão, quando seqüências gênicas são dadas, elas referem-se à fita codificadora.

Um gene consiste na região transcrita e nas regiões que regulam a transcrição do gene (p. ex., promotor e regiões reforçadoras) (Figura 14.4). A base na fita codificadora do gene servindo como o ponto de início da transcrição é numerada +1. Esse nucleotídeo corresponde ao primeiro nucleotídeo incorporado no RNA na terminação 5' do transcrito. Os nucleotídeos subseqüentes na região transcrita do gene são numerados +2, +3, etc., na direção da terminação 3' do gene. As seqüências não-transcritas à esquerda do ponto de início da transcrição, conhecida como região flanqueadora 5' (*5' flanking*) do gene, são numeradas –1, –2, –3, etc., iniciando no nucleotídeo (–1) imediatamente a esquerda do ponto de início da transcrição (+1) e se movendo da direita para a esquerda. Por analogia a um rio, é dito que as seqüências à esquerda do ponto de início estão contra a corrente (à montante, *upstream*) do ponto de início da transcrição, e aquelas da direita estão a favor da corrente (a jusante, *downstream*).

B. Reconhecimento de Genes pela RNA-Polimerase

Para que os genes sejam expressos, as RNA-polimerases devem reconhecer o ponto apropriado para iniciar a transcrição e a fita de DNA a ser transcrita (a fita-molde).

As duas fitas de DNA são antiparalelas, com nucleotídeos complementares em cada posição. Dessa forma, cada fita poderia produzir um mRNA diferente, resultando em diferentes códons para aminoácidos e um diferente produto protéico. Portanto, é crucial que a RNA-polimerase transcreva a fita correta.

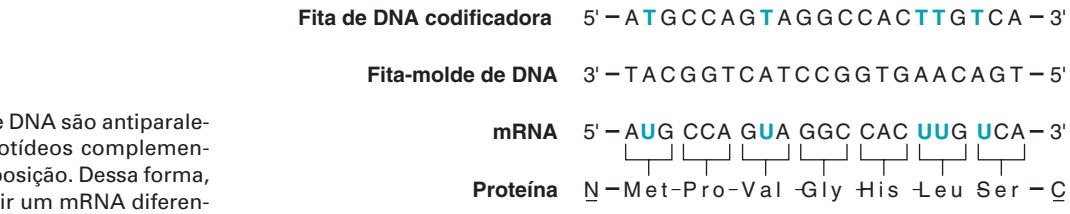


Figura 14.3 Relação entre a fita de DNA codificadora, a fita-molde, o mRNA transcrito e a proteína produzida do gene. As bases no mRNA são usadas em conjuntos de três (chamados de códons) para especificar a ordem dos aminoácidos inseridos no crescimento da cadeia polipeptídica durante o processo de tradução (ver Capítulo 15).

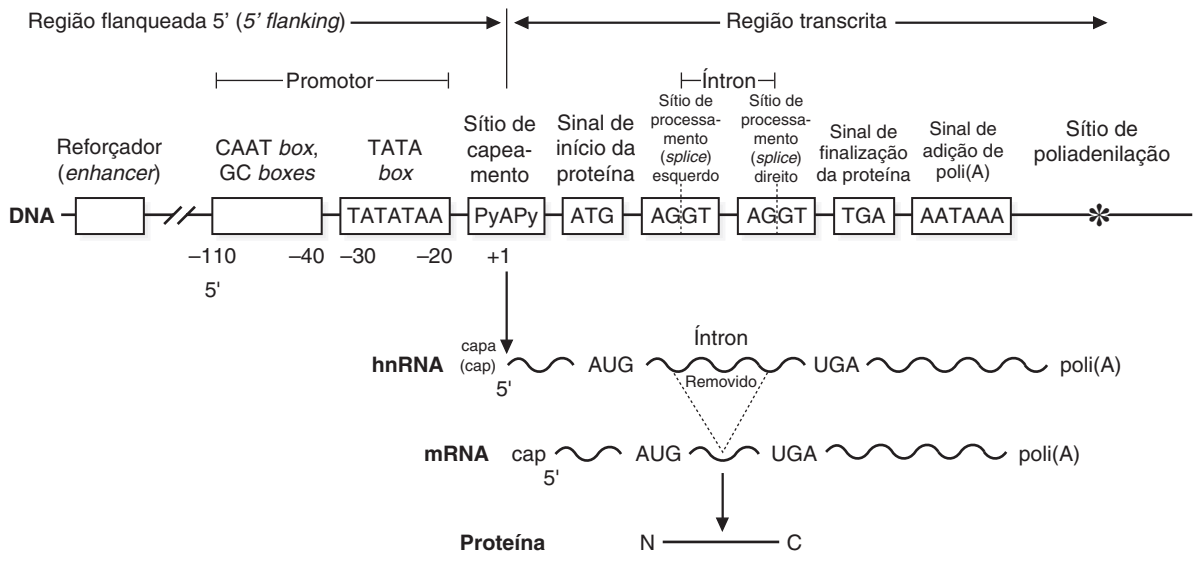


Figura 14.4 Uma visão esquemática de um gene de eucarioto e os passos necessários para a produção de um produto protéico. O gene consiste em promotor e regiões transcritas. A região transcrita contém íntrons, os quais não contêm a seqüência codificadora para proteínas, e éxons, que possuem a seqüência codificadora para proteínas. A primeira forma de RNA produzida é o RNA nuclear heterogêneo (hnRNA), o qual contém ambas as seqüências intrônicas e exônicas. O hnRNA é modificado quando uma capa é adicionada à terminação 5′ (sítio de capeamento) e uma cauda poli(A) é adicionada à terminação 3′. Os íntrons são removidos (um processo chamado de *splicing*) para produzir o mRNA maduro, o qual deixa o núcleo para direcionar a síntese de proteína no citoplasma. Py é pirimidina (C ou T).

A RNA-polimerase também deve reconhecer quais genes transcrever, pois os genes transcritos são somente uma pequena fração do DNA total. Os genes transcritos diferem de um tipo de célula para outro e mudam com alterações nas condições fisiológicas. Os sinais no DNA que a RNA-polimerase reconhece são chamados de promotores. Os promotores são seqüências no DNA (freqüentemente compostas de pequenas seqüências chamadas de *boxes* ou elementos) que determinam o ponto de início e a freqüência da transcrição. Devido ao fato de os promotores estarem localizados na mesma molécula de DNA e próximos ao gene que eles regulam, são denominados *cis* ativadores (isto é, *cis* refere-se à ação no mesmo lado). As proteínas que se ligam a essas seqüências de DNA e facilitam ou previnem a ligação da RNA-polimerase são denominadas *trans* ativadoras.

C. Regiões Promotoras de Genes para mRNA

A ligação da RNA-polimerase e a subseqüente iniciação da transcrição do gene envolvem diversas seqüências-consenso na região promotora do gene (Figura 14.5). Uma seqüência-consenso é a seqüência mais comumente encontrada em uma determinada região quando muitos genes são examinados. Nos procariotos e nos eucariotos, uma seqüência-consenso rica em adenina e timina no promotor determina o ponto de início da transcrição por ligação de proteínas que facilitam a ligação da RNA-polimerase. No procarioto *E. coli,* essa seqüência-consenso é TATAAT, a qual é conhecida como TATA. Ela é centrada em torno de –10 e é reconhecida pelo fator sigma σ^{70}. Uma seqüência similar na região –25 de genes de eucariotos tem uma seqüência-consenso de TATA(A/T)A. (O [A/T] na quinta posição indica que ou A ou T ocorre com freqüência igual.) Essa seqüência de eucariotos é também conhecida como TATA *box*, mas algumas vezes é denominada Hogness ou Hogness-Goldberg *box* após sua descoberta. Outras seqüências-consenso envolvidas na ligação da RNA-polimerase são encontradas mais distantes a montante da região promotora (ver Figura 14.5). Os promotores de bactérias contêm uma seqüência TTGACA na região –35. Os eucariotos freqüentemente têm CAAT *boxes* e seqüências ricas em GC na região entre –40 e –110. Os genes de eucariotos também contêm elementos proximais ao promotor (na região de –100 a



Anne Niemick tem uma β^+-talassemia classificada clinicamente como β-talassemia intermediária. Ela produz uma quantidade intermediária de cadeias globina β funcionais (sua hemoglobina é 6,2 g/dL; o normal é 12 a 16). A β-talassemia intermediária em geral é o resultado de duas mutações diferentes (uma que afeta mediamente a taxa de síntese da globina β e uma que afeta gravemente sua taxa de síntese), ou, com menos freqüência, homozigosidade para uma mutação média na taxa de síntese, ou uma combinação complexa de mutações. Por exemplo, mutações na região promotora do gene da globina β poderiam resultar em um taxa significativamente diminuída de síntese de globina β em um indivíduo que é homozigoto para o alelo, sem abolir completamente a síntese da proteína.

Duas das mutações pontuais que resultam no fenótipo β^+ estão no TATA *box* (A—>G ou A—>C na região –28 a –31). Essas mutações reduzem a acurácia do ponto de início da transcrição até que somente 20 a 25% da quantidade normal de globina β sejam sintetizadas. Outras mutações que também reduzem a freqüência da transcrição da globina β têm sido observadas mais distantes a montante da região promotora (–87 C—>G e –88 C—>T).

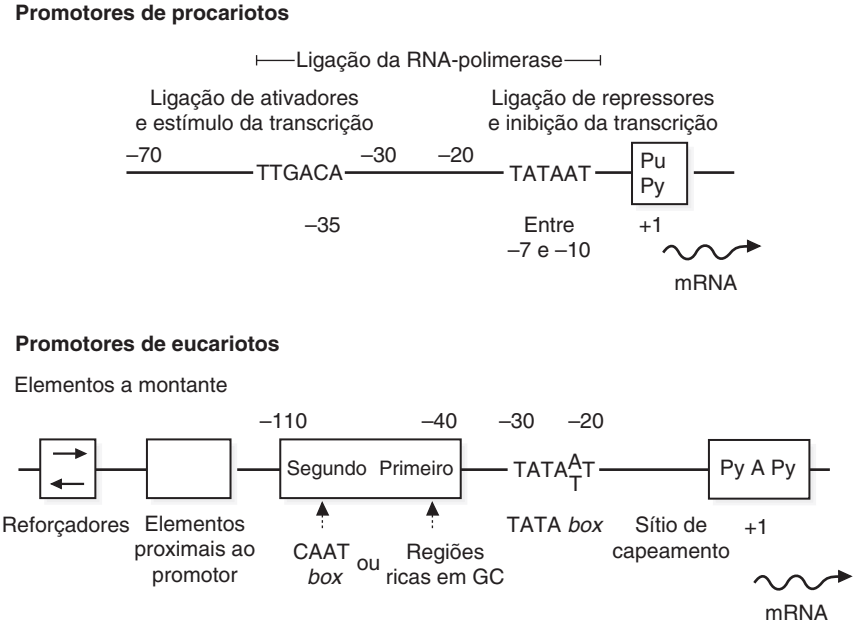


Figura14.5 Promotores de procariotos e eucariotos. A região proximal ao promotor contém sítios de ligação para fatores de transcrição, os quais podem acelerar a freqüência com que a RNA-polimerase se liga ao promotor. Pu = purina; Py = pirimidina.

Q: Que propriedade de uma região rica em AT de uma dupla hélice de DNA a torna disponível para servir como um sítio de reconhecimento para o ponto de início da transcrição?

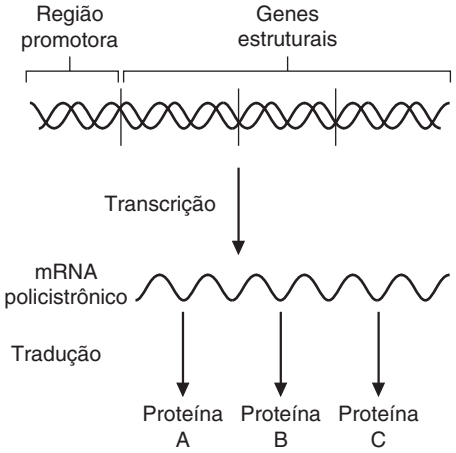


Figura 14.6 Óperon bacteriano. Um cístron codifica uma cadeia polipeptídica simples. Em bactérias, um promotor simples pode controlar a transcrição de um óperon contendo muitos cístrons. Um mRNA policistrônico simples é transcrito. Sua tradução produz diversas cadeias polipeptídicas.

– 200), os quais são sítios que ligam outras proteínas regulatórias de genes. Os genes variam no número de tais seqüências presentes.

Em bactérias, diversos genes produtores de proteínas podem estar associados e ser controlados por um único promotor. Essa unidade genética é chamada de óperon (Figura 14.6). As proteínas se ligam ao promotor e inibem ou facilitam a transcrição do óperon. Os repressores são proteínas que se ligam a uma região no promotor conhecida como operador e inibem a transcrição por impedimento da ligação da RNA-polimerase ao DNA. Os ativadores são proteínas que estimulam a transcrição por ligação com a região –35 ou anterior a ela, facilitando a ligação da RNA-polimerase. (Os óperons são descritos em mais detalhes no Capítulo 16.)

Em eucariotos, as proteínas conhecidas como fatores de transcrição gerais (ou fatores basais) se ligam ao TATA *box* e facilitam a ligação da RNA-polimerase II, a polimerase que transcreve mRNA (Figura 14.7). Esse processo de ligação envolve pelo menos seis fatores de transcrição basais (marcados como TFIIs, fatores de transcrição para RNA-polimerase II, do inglês *transcription factors for RNA polymerase II*). A proteína de ligação de TATA (TBP, do inglês *TATA-binding protein*), a qual é um componente do TFIID, inicialmente se liga ao TATA *box*. O TFIID consiste em TBP e diversos coativadores transcricionais. O TFIIA e o TFIIB interagem com a TBP. A RNA-polimerase II se liga ao complexo de fatores de transcrição e ao DNA e é alinhada no ponto de início da transcrição. O TFIIE, o TFIIF e o TFIIH se ligam subseqüentemente, clivando trifosfato de adenosina (ATP), e a transcrição do gene é iniciada.

Com somente esses fatores de transcrição (ou fatores basais) e RNA-polimerase II aderida (o complexo transcricional basal), o gene é transcrito em uma taxa baixa ou basal.

O TFIIH desempenha diversos papéis na transcrição e no reparo do DNA. Em ambos os processos, ele atua como uma helicase ATP-dependente, desenrolando o DNA para ocorrerem a transcrição ou o reparo. Duas das formas de xeroderma pigmentoso (XPB e XPD; ver Capítulo 13) originam-se de mutações nas duas diferentes helicases subunidades do TFIIH. O TFIIH também contém uma atividade de quinase, e a RNA-polimerase II é fosforilada por esse fator durante certas fases da transcrição.

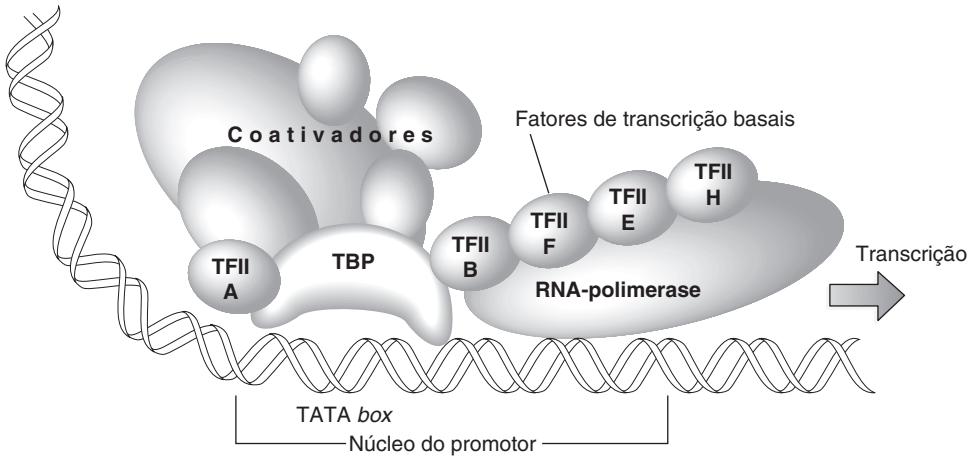


Figura 14.7 Aparato transcricional. A proteína de ligação de TATA (TBP), um componente do TFIID, liga-se ao TATA *box*. Os fatores de transcrição TFII A e B se ligam à TBP. A RNA-polimerase se liga, então TFIIFE, F e H se ligam. Esse complexo pode transcrever em um nível basal. Algumas proteínas coativadoras estão presentes como um componente do TFIID e podem se ligar a outras proteínas regulatórias de ligação de DNA (chamadas de fatores de transcrição específicos ou ativadores transcricionais).

A taxa de transcrição pode estar adicionalmente aumentada pela ligação de outras proteínas reguladoras de ligação ao DNA a seqüências gênicas regulatórias adicionais (tais como o proximal ao promotor ou regiões reforçadoras). Essas proteínas reguladoras de ligação de DNA são chamadas de fatores de transcrição gene-específico (ou transativadores), pois são específicas para o gene envolvido (ver Capítulo 16). Elas interagem com coativadores no complexo de transcrição basal.

R: Em regiões nas quais o DNA está sendo transcrito, as duas fitas de DNA devem estar separadas. As bases AT pareadas no DNA são unidas por somente duas pontes de hidrogênio, enquanto os pares GC têm três pontes de hidrogênio. Portanto, em regiões do DNA ricas em AT, as duas fitas podem ser separadas mais facilmente do que em regiões que contêm pares de base GC.

III. TRANSCRIÇÃO DE GENES BACTERIANOS

Em bactérias, a ligação da RNA-polimerase com um fator σ à região promotora do DNA causa a distorção e a separação das duas fitas em uma região de aproximadamente 10 a 20 nucleotídeos de extensão. Enquanto a polimerase transcreve o DNA, a região não-transcrita da hélice continua a se separar, ao mesmo tempo em que a região transcrita do DNA-molde reencontra seu DNA complementar (Figura 14.8). O fator sigma é liberado quando a cadeia de RNA em crescimento está com cerca de 10 nucleotídeos de comprimento. A reação de alongamento continua até a RNA-polimerase encontrar um

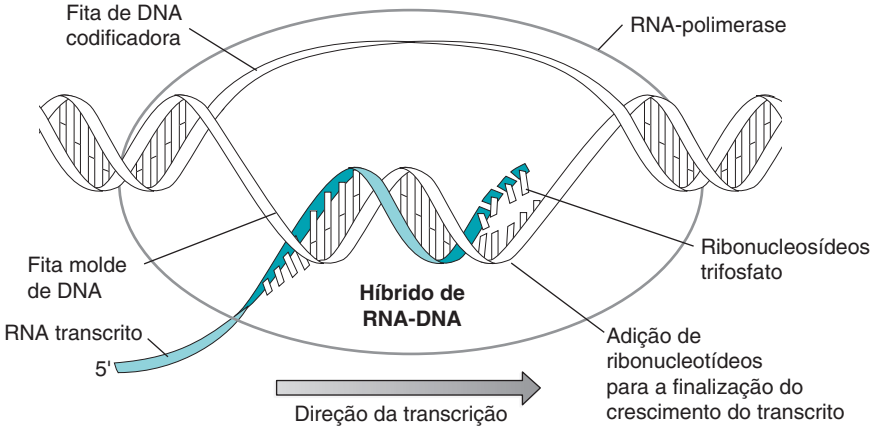


Figura 14.8 Mecanismo da transcrição.

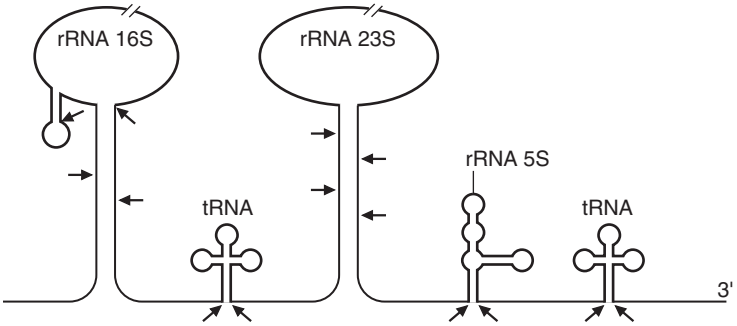


Figura 14.9 rRNA e tRNA bacterianos transcritos. Um grande precursor é clivado (nas setas) para produzir rRNA 16S, 23S e 5S e alguns tRNAs.

sinal de terminação da transcrição. Um tipo de sinal de terminação envolve a formação de uma alça em grampo no transcrito, precedendo diversos resíduos U. O segundo tipo de mecanismo para terminação envolve a ligação de uma proteína, o fator rho, o qual causa a liberação do RNA transcrito da fita-molde. O sinal para ambos os processos de terminação é a seqüência de bases no RNA recentemente sintetizado.

Um cístron é uma região do DNA que codifica uma única cadeia polipeptídica. Em bactérias, o mRNA em geral é gerado de um óperon como um transcrito policistrônico (aquele que contém a informação para produzir diversas proteínas diferentes). O transcrito policistrônico é traduzido enquanto está sendo transcrito. Esse transcrito não é modificado e processado e não contém íntrons (regiões na seqüência codificadora de um transcrito que são removidas antes de ocorrer a tradução). Diversas proteínas diferentes são produzidas durante a tradução de um transcrito policistrônico, uma de cada cístron (ver Figura 14.6).

Em procariotos, o rRNA é produzido com um único transcrito longo que é clivado para produzir os RNAs ribossomais 16S, 23S e 5S. O tRNA também é clivado de transcritos maiores (Figura 14.9). Uma das enzimas de clivagem, RNase P, é uma proteína contendo uma molécula de RNA. Esse RNA na realidade catalisa a reação de clivagem.

IV. TRANSCRIÇÃO DE GENES EM EUCARIOTOS

O processo de transcrição em eucariotos é similar àquele em procariotos. A RNA-polimerase se liga ao complexo fator de transcrição na região promotora e ao DNA, a hélice se desenrola na região próxima ao ponto de início da transcrição, ocorre a separação das fitas de DNA, a síntese do RNA transcrito é iniciada, e o RNA transcrito é alongado, copiando o DNA-molde. As fitas de DNA se separam ao mesmo tempo que a polimerase se aproxima e se ligam novamente enquanto a polimerase passa.

Uma das maiores diferenças entre eucariotos e procariotos é que os primeiros têm três polimerases, enquanto os últimos apresentam apenas uma. Outras diferenças incluem o fato de o mRNA de eucariotos geralmente conter a informação codificante para somente uma cadeia polipeptídica e o RNA de eucariotos ser transcrito no núcleo e migrar para o citoplasma onde a tradução ocorre.

A. Síntese de mRNA em Eucariotos

Em eucariotos, o processamento extensivo do transcrito primário ocorre antes que o mRNA maduro seja formado e possa migrar para o citosol, onde é traduzido para um produto protéico. A RNA-polimerase II sintetiza um grande transcrito primário a partir da fita-molde que é capeado na terminação 5' enquanto é transcrito (Figura 14.10). O transcrito também adquire rapidamente uma cauda poli(A) na terminação 3'. Os pré-mRNA, então, contêm regiões não-traduzidas em ambas as terminações



Embora cada mRNA de eucarioto codifique somente para uma cadeia polipeptídica, diversas proteínas podem conter diferentes cadeias polipeptídicas ou ter múltiplos sítios ativos, permitindo à proteína catalisar mais de uma reação.



Os termos hnRNA (RNA nuclear heterogêneo) e pré-mRNA são usados para indicar mRNAs precursores. O termo hnRNA foi originalmente aplicado a um conjunto de moléculas de RNA no núcleo que foram rapidamente sintetizadas e variaram muito em tamanho. Essas moléculas de RNA agora são reconhecidas como mRNA precursores que apresentam uma grande variação em tamanho por conterem éxons que codificam cadeias polipeptídicas de diferentes tamanhos e íntrons que variam em quantidade e tamanho.

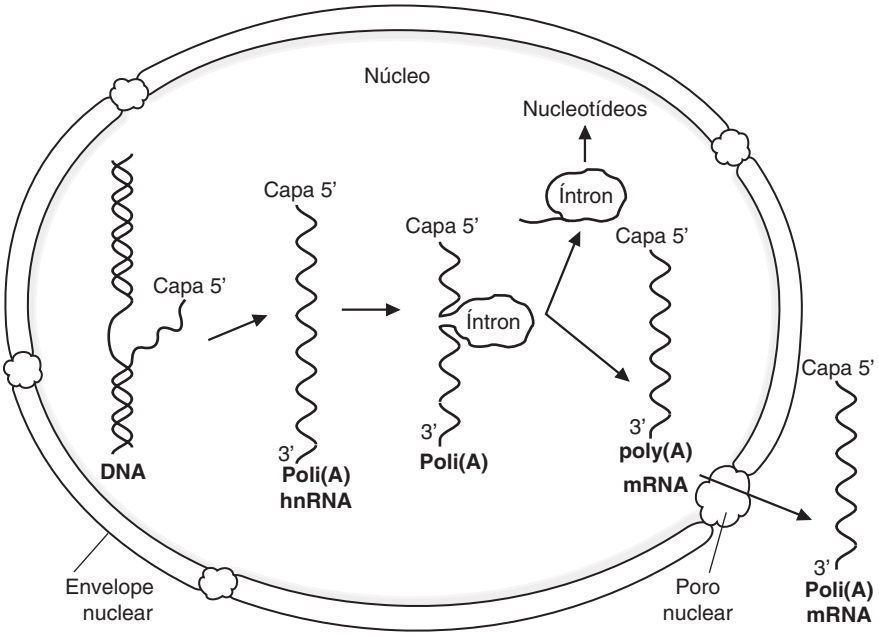


Figura 14.10 Visão geral da síntese de mRNA. A transcrição produz hnRNA da fita de DNA. O processamento do hnRNA envolve a adição de uma capa 5′ e uma cauda poli(A) e o *splicing* para unir éxons e remover íntrons. O produto, mRNA, migra para o citoplasma, onde direcionará a síntese da proteína.

5' e 3' (as seqüências-líder e finalizadoras, respectivamente). Essas regiões não-traduzidas são mantidas no mRNA maduro. A região codificadora do pré-mRNA, a qual começa no códon de iniciação para a síntese de proteínas e finaliza no códon de terminação, contém éxons e íntrons. Os éxons consistem em códons de nucleotídeos que determinam a seqüência de aminoácidos do eventual produto protéico. As regiões posicionadas entre os éxons, chamadas de íntrons, contêm seqüências de nucleotídeos que são removidas por reações de *splicing* para formar o RNA maduro. Portanto, o RNA maduro contém uma seqüência-líder (que inclui a capa), uma região codificadora compreendendo os éxons e um prolongamento da seqüência que inclui a cauda poli(A).

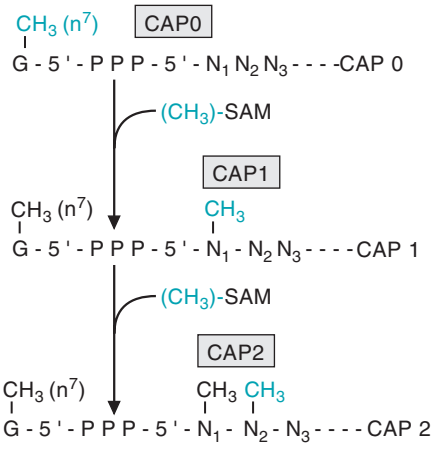
Esse mRNA maduro hibridiza com a proteína de ligação poli(A) e outras proteínas. Ele passa através dos poros no envelope nuclear para o citoplasma. Ali ele se combina com ribossomos e direciona a incorporação de aminoácidos às proteínas.

1. TRANSCRIÇÃO E CAPEAMENTO DO mRNA

O "capeamento" do transcrito primário sintetizado pela RNA-polimerase ocorre na sua terminação 5' enquanto ele está sendo transcrito (Figura 14.11). O terminal 5', o nucleotídeo inicial do transcrito, é uma pirimidina com três grupos fosfato aderidos à hidroxila 5' da ribose. Para formar a capa, o terminal trifosfato perde um fosfato, formando um difosfato 5'. O fosfato β do difosfato, então, ataca o fosfato α do GTP, liberando pirofosfato e formando uma ligação incomum trifosfato 5' para 5'. Um grupo metila é transferido da S-adenosilmetionina (SAM), um doador metil universal, para a posição 7 do anel guanina adicionado. A metilação também ocorre no grupo hidroxila 2' da ribose no nucleotídeo terminal ao qual a capa é adicionada, e algumas vezes no grupo hidroxila 2' do nucleotídeo ribose adjacente. Essa capa "sela" a terminação 5' do transcrito primário e diminui a taxa de degradação. Ela também serve como um sítio de reconhecimento para a ligação do mRNA maduro a um ribossomo na iniciação da síntese protéica.

Uma vez que a SAM (*S*-adenosilmetionina) doa seu grupo metila, este deve ser regenerado por reações que requerem as vitaminas folato e B12. Portanto, a formação do mRNA também é um dos processos afetados pela deficiência dessas vitaminas.

Existem três diferentes tipos de capas metil, mostrados em azul: CAP0 refere-se à guanosina metilada (no nitrogênio na posição 7, N^7) adicionada na ligação 5′ para 5′ ao mRNA; CAP1 refere-se a CAP0 com a adição de um metil ao carbono 22 da ribose no nucleotídeo (N_1) na terminação 5′ da cadeia, e CAP2 refere-se a CAP1 com a adição de um outro grupo metila 2′ ao próximo nucleotídeo (N_2). Os grupos metila são doados pela *S*-adenosilmetionina (SAM).



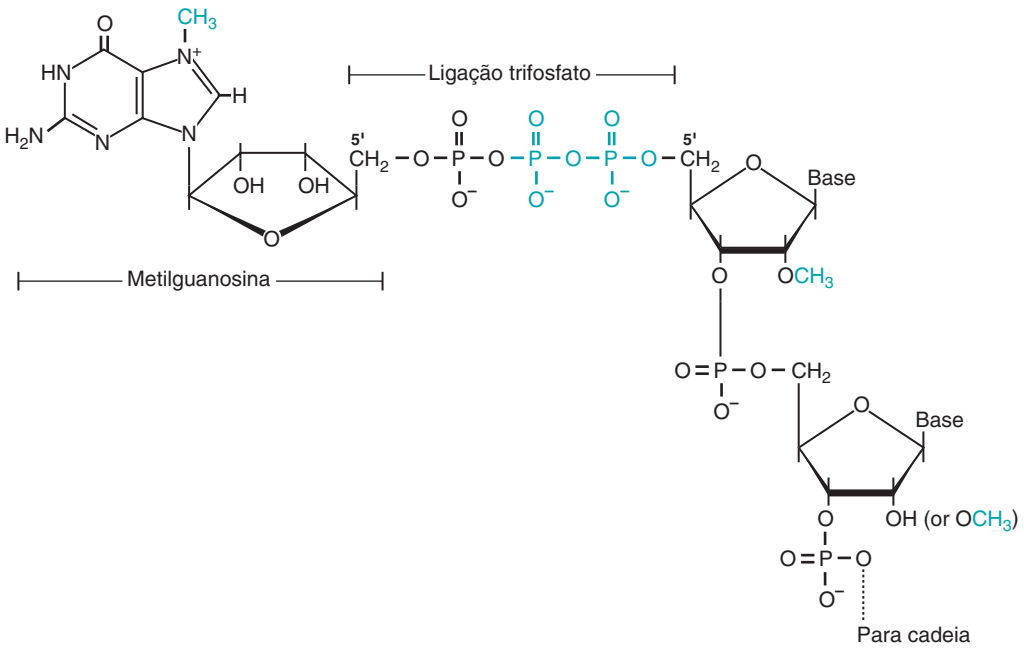


Figura 14.11 A estrutura de capa no mRNA de eucariotos. O fosfato em azul originou-se do transcrito do RNA original; o fosfato em preto vem do GTP.

2. ADIÇÃO DE UMA CAUDA POLI(A)

Após a RNA-polimerase transcrever o códon de terminação para a tradução da proteína, ela passa uma seqüência chamada de sinal de poliadenilação (AAUAAA) (Figura 14.12). Passado o sinal de poliadenilação, ela continua até atingir o sinal de terminação desconhecido, e possivelmente inespecífico, muitos nucleotídeos mais tarde. No entanto, à medida que o transcrito primário é liberado do complexo de alongamento da RNA-polimerase, um complexo enzimático se liga ao sinal de poliadenilação e cliva o transcrito primário cerca de 10 a 20 nucleotídeos à frente, para a formação da terminação 3'. Após essa clivagem, uma cauda poli(A) que pode ter acima de 200 nucleotídeos de comprimento é adicionada à terminação 3'. Portanto, não existe seqüência poli(dT) no molde de DNA que corresponda a essa cauda; ela é adicionada pós-transcricionalmente. O ATP serve como o precursor para a adição seqüencial dos nucleotídeos adenina. Eles são adicionados um de cada vez, com polimerase poli(A) catalisando cada adição. A cauda poli(A) é um sítio de ligação de proteína que protege o mRNA da degradação.

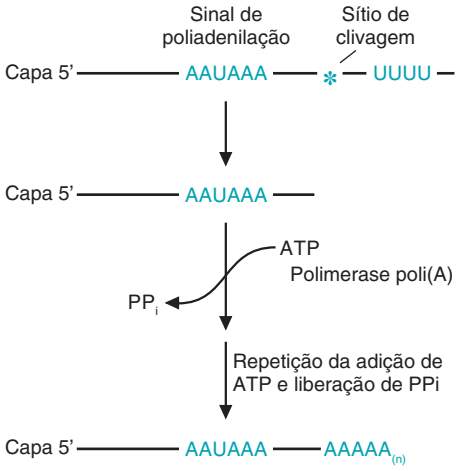


Figura 14.12 Síntese da cauda poli(A). Como a RNA-polimerase continua a transcrever o DNA, as enzimas clivam o transcrito (hnRNA) em um ponto 10 a 20 nucleotídeos de distância de uma seqüência AAUAAA, imediatamente anterior a uma seqüência de Us (ou Gs). Aproximadamente 250 nucleotídeos adenina são, então, adicionados à terminação 3' do hnRNA, um de cada vez, pela polimerase poli(A).

Em poucos dias do início do tratamento para tuberculose, os resultados laboratoriais da coloração do escarro de **Ivy Sharer** confirmaram o diagnóstico de tuberculose pulmonar causada por *M. tuberculosis*. Portanto, a terapia multifármaco, a qual incluiu o antibiótico rifampina, foi continuada. A rifampina se liga à RNA-polimerase de diversas bactérias. A *M. tuberculosis* rapidamente desenvolve resistência à rifampina por meio de mutações que resultam em uma RNA-polimerase que não pode se ligar ao complexo estrutural. O tratamento simultâneo com um fármaco que trabalha por um mecanismo diferente diminui a vantagem seletiva da mutação e a taxa na qual a resistência se desenvolve.

A presença da cauda poli(A) no mRNA de eucariotos permite a essa forma de RNA ser facilmente separada do rRNA mais abundante. Após extração de todo o RNA de uma célula, o RNA total é aplicado a uma coluna de esferas a qual o oligo dT foi covalentemente aderido. Como o mRNA flui através da coluna, sua cauda poli(A) pareia bases com o oligo dT, e o mRNA ficará ligado à coluna. Todos os outros tipos de RNA fluirão através da coluna e não se ligarão às esferas. O mRNA ligado pode então ser eluído da coluna por mudança da força iônica do tampão.

3. REMOÇÃO DE ÍNTRONS

O pré-mRNA transcrito em eucariotos contém regiões conhecidas como éxons e íntrons. Os éxons aparecem no mRNA maduro; os íntrons são removidos do transcrito e não são encontrados no mRNA maduro (ver Figura 14.10). Os íntrons, portanto, não contribuem para a seqüência de aminoácidos da proteína. Alguns genes contêm 50 ou mais íntrons. Esses íntrons são cuidadosamente removidos do pré-mRNA transcrito, e os éxons são unidos uns ao outros para que a proteína apropriada seja produzida a partir do gene.

A seqüência-consenso nas bordas íntron/éxon do pré-mRNA são AGGU (AGGT no DNA). As seqüências variam em alguma extensão na borda do lado do éxon, mas quase todos os íntrons iniciam com um GU 5' e terminam com um AG 3' (Figura 14.13). Essas seqüências de íntrons à esquerda e à direita dos sítios de clivagem são, portanto, invariáveis. Como a cada combinação GU 5' e AG 3' não resulta em um sítio de processamento funcional, claramente outros fatores no éxon ou íntron ajudam a definir os sítios de processamento apropriados. Esses fatores, os quais estão atualmente sendo identificados, envolvem a presença de seqüências regulatórias *cis* ativadoras positivas e negativas no íntron.

Uma estrutura complexa como um spliceossomo certifica que os éxons sejam unidos com grande acurácia (Figura 14.14). Pequenas ribonucleoproteínas nucleares (snRNPs, do inglês *small nuclear ribonucleoproteins*), chamadas de *snurps*, estão en-

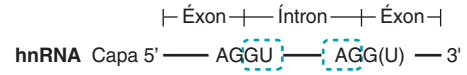


Figura 14.13 *Splicing* de junções no hnRNA. As seqüências de íntrons mostradas nos quadrados de linhas azuis interrompidas são invariáveis. Elas sempre aparecem nessa posição nos íntrons. As seqüências no éxon lateral do sítio de *splicing* são mais variáveis.



Anne Niemick tem β^+-talassemia (quantidade suficiente da cadeia β é produzida para manter os níveis de hemoglobina sangüínea acima de 6,0 g/dL). Uma mutação resultando em β^+-talassemia é uma mutação pontual (AATAAA → AACAAA) que muda a seqüência no hnRNA no sítio do sinal de poliadenilação de AAUAAA para AACAAA. Indivíduos homozigotos com essa mutação produzem somente um décimo da quantidade do mRNA normal da globina β.

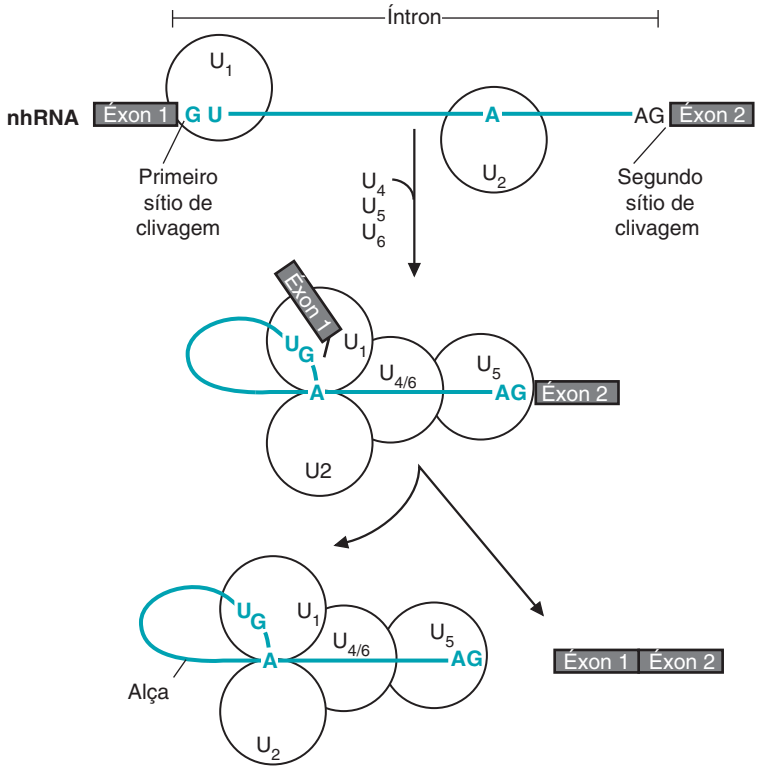


Figura 14.14 Processo de *splicing*. As ribonucleoproteínas nucleares (*snurps* U_1 a U_6) se ligam ao íntron, causando a formação de uma alça. O complexo é chamado de spliceossomo. A *snurp* U_1 se liga próximo à primeira junção éxon/íntron, e U_2 se liga com o íntron em uma região contendo um nucleotídeo adenina remanescente. Um outro grupo de *snurps*, U_4, U_5 e U_6, liga-se ao complexo, e a alça é formada. O fosfato aderido ao resíduo C da terminação 5' do íntron forma uma ligação 2'- 5' com o grupo hidroxila 2' do nucleotídeo adenina remanescente. A clivagem ocorre na terminação do primeiro éxon, entre os resíduos AG da terminação 3' do éxon e o resíduo GU da terminação 5' do íntron. O local do complexo continua a ser ocupado pelo spliceossomo. A segunda clivagem ocorre na terminação 3' do íntron após a seqüência AG. Os éxons são conectados uns aos outros. O íntron, com formato semelhante a um laço, é liberado e degradado a nucleotídeos.

Alguns tipos de β^0-talassemia (pouca ou nenhuma cadeia de hemoglobina β produzida) são causados por mutações homozigotas nas seqüências de clivagem e união nas bordas íntron/éxon. Em alguns indivíduos, um AT substitui um GT na terminação 5′ do primeiro ou segundo íntron do gene. As mutações também ocorrem nas seqüências de clivagem e união na terminação 3′ dos íntrons (GT no sítio doador da terminação 5′ e AG no sítio aceptor da terminação 3′). As mutações em outros sítios eliminam totalmente o *splicing* normal e resultam em β^0-talassemia.

volvidas na formação do spliceossomo. Como as *snurps* são ricas em uracil, elas são identificadas por números precedidos de um U.

Os éxons com freqüência codificam para separar domínios funcionais ou estruturais de proteínas. As proteínas com regiões funcionais similares (p. ex., regiões de ligação ATP ou NAD) freqüentemente têm domínios similares, embora a estrutura geral e a seqüência de aminoácidos sejam completamente diferentes. É provável que um processo conhecido como embaralhamento de éxons tenha ocorrido durante a evolução, levando ao desenvolvimento de novas proteínas com funções similares àquelas de outras proteínas.

B. Síntese do rRNA em Eucariotos

Os RNA ribossomais (rRNA) formam o complexo ribonucleico no qual a síntese de proteínas ocorre. Em eucariotos, o gene do rRNA existe como muitas cópias na região nucleolar organizadora do núcleo (Figura 14.15, círculo 1). Cada gene produz um transcrito grande 45S, que é clivado para produzir os rRNA ribossomais 18S, 28S e 5,8S. Aproximadamente 1.000 cópias desse gene estão presentes no genoma humano.

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença auto-imune caracterizada por um espectro particular de anticorpos contra muitos componentes celulares, incluindo cromatina, ribonucleoproteínas e fosfolipídeos da membrana celular. Nessa anomalia, o corpo produz esses anticorpos contra seus próprios componentes. Os snRNP são alguns dos alvos desses anticorpos. De fato, os snRNP foram descobertos como resultado de estudos usando anticorpos obtidos de pacientes com LES.

Testes foram realizados no sangue de **Lupus Sis** para detectar níveis elevados de anticorpos antinucleares (incluindo anticorpos para DNA, anticorpos para histonas, anticorpos para ribonucleoproteínas e anticorpos para antígenos nucleares). Os testes foram positivos e, em conjunto com os sintomas, levaram ao diagnóstico de LES.

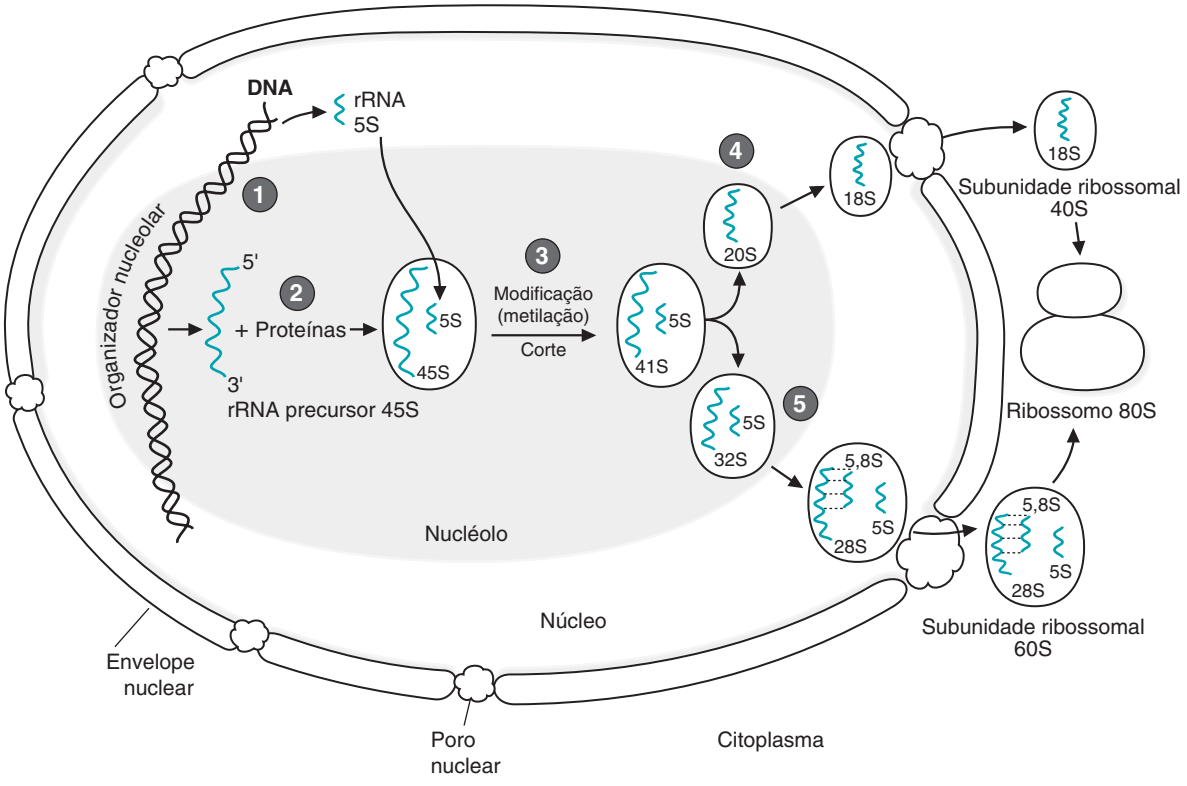


Figura 14.15 rRNA e síntese de ribossomos. O 5S rRNA é transcrito no nucleoplasma e move-se para o nucléolo. Os outros rRNA são transcritos do DNA e maturam no nucléolo, formando as subunidades ribossomais 40S e 60S, as quais migram para o citoplasma.

Os genes são conectados um ao lado do outro, separados por regiões espaçadoras que contêm o sinal de terminação para um gene e o promotor para o próximo. Os promotores para os genes do rRNA estão localizados na região flanqueadora 5' dos genes e estendem-se para a região circunjacente ao ponto de início da transcrição. Os genes do rRNA capturados no ato da transcrição por micrografia eletrônica mostram que muitas moléculas de RNA-polimerase I podem estar ligadas ao gene em qualquer momento, todas movendo-se na direção da terminação 3' ao mesmo tempo em que os precursores rRNA 45S são sintetizados.

À medida que os precursores rRNA 45S são liberados do DNA, eles ligam-se com proteínas, formando partículas ribonucleoprotéicas que geram as regiões granulares dos nucléolos (ver Figura 14.15, círculo 2). O processamento do transcrito ocorre nas regiões granulares. O rRNA 5S, produzido pela RNA-polimerase III de genes localizados fora do nucléolo no nucleoplasma, migra para o nucléolo e une-se às partículas ribonucleoprotéicas.

Um a dois por cento dos nucleotídeos do precursor 45S tornam-se metilados, primeiramente no grupo hidroxila 2' da ribose intermediária (ver Figura 14.15, círculo 3). Esses grupos metila podem servir como um marcador para a clivagem dos precursores 45S e são conservados no rRNA maduro. Uma série de clivagens no transcrito 45S ocorre para produzir o rRNA maduro (Figura 14.16).

Na produção de ribossomos citoplasmáticos em células humanas, uma porção do rRNA precursor 45S dá origem ao rRNA 18S que, associado a proteínas, forma a subunidade ribossomal pequena 40S (Figura 14.15, círculo 4). Um outro segmento do precursor se dobra sobre si mesmo e é clivado, formando o rRNA 28S, ligado por pontes de hidrogênio ao rRNA 5,8S. O rRNA 5S, transcrito de genes não-nucleolares, e diversas proteínas associam-se aos rRNA 28S e 5,8S para formar a subunidade ribossomal 60S (Figura 14.15, círculo 5). As subunidades ribossomais migram através dos poros nucleares. No citoplasma, as subunidades ribossomais 40S e 60S interagem com o mRNA, formando os ribossomos 80S, nos quais ocorre a síntese de proteínas.

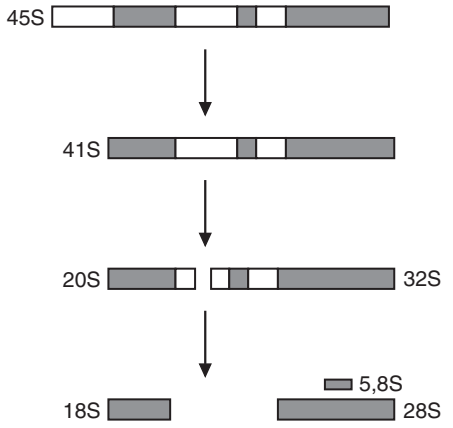


Figura 14.16 Maturação do rRNA precursor 45S. As regiões claras são removidas, e as regiões escuras tornam-se rRNA maduros. (O rRNA 5S não é produzido desse precursor.)

Alguns precursores de rRNA contêm íntrons nas regiões que tornam-se os rRNAs maduros. Esses íntrons são removidos pelos próprios precursores do rRNA, os quais se submetem a reações de *autosplicing*. Os precursores do rRNA que catalisam seu próprio *splicing* são conhecidos como ribozimas (ver Capítulo 12, III. A).

C. Síntese do tRNA em Eucariotos

Um RNA transportador tem um sítio de ligação para uma seqüência específica de três nucleotídeos no mRNA (o sítio anticódon) e um outro sítio de ligação para o aminoácido codificado. Portanto, os tRNA asseguram que o código genético seja traduzido

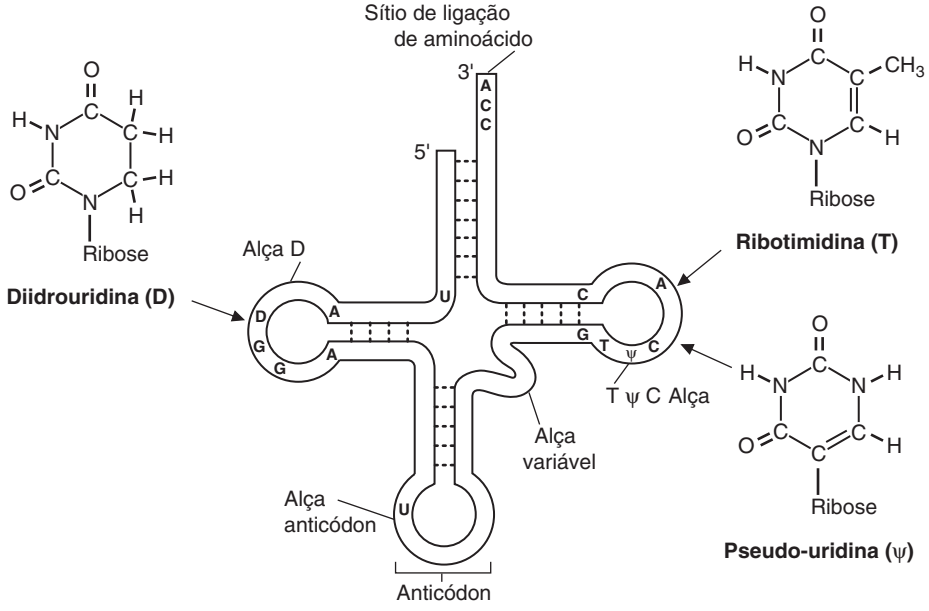


Figura 14.17 O tRNA em forma de trevo. As bases que comumente ocorrem em uma posição particular são indicadas por letras. O pareamento de bases na região da haste do trevo é indicado por linhas entre as fitas. A localização das bases modificadas diidrouridina (D), ribotimidina (T) e pseudo-uridina (ψ) é indicada.

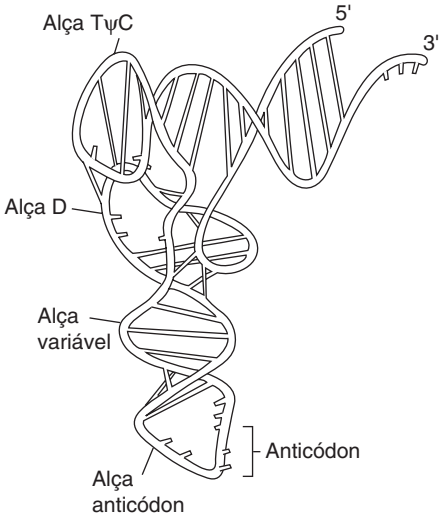


Figura 14.18 A conformação tridimensional do tRNA. (Reimpressa com a permissão de Kim SH, et al. Science 1974;185:436. Copyright 1974 American Association for the Advancement of Science.)

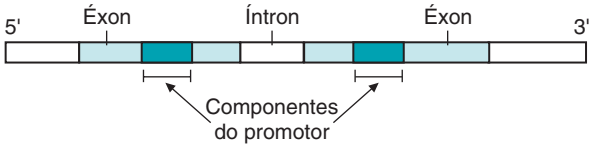


Figura 14.19 Promotor para a transcrição do tRNA. Os segmentos dos genes dos quais o tRNA maduro é produzido estão indicados pela cor azul-claro. As duas regiões do promotor localizadas nesses segmentos estão indicadas pela cor azul-escuro.

para a seqüência correta de aminoácidos. Existem pelo menos 20 tipos de tRNAs nas células, um para cada aminoácido que é incorporado na cadeia polipeptídica em crescimento durante a síntese de proteínas. O tRNA tem uma estrutura em forma de trevo, que muda a sua conformação espacial para um L tridimencional, e contém diversas bases que são pós-transcricionalmente modificadas (Figura 14.17). A alça mais próxima da terminação 5' é conhecida como a alça D, pois contém diidrouridina (D). A segunda alça, ou anticódon, contém o anticódon trinucleotídeo que pareia bases com o códon no mRNA. A terceira alça (a alça TψC) contém ribotimidina (T) e pseudouridina (ψ). A quarta alça, conhecida como alça variável, pois varia em tamanho, com freqüência é encontrada entre o anticódon e a alça TψC. O pareamento de bases ocorre na região da haste do trevo do tRNA, e a seqüência de três nucleotídeos (p. ex., CCA) da terminação 3' é o sítio de adesão para o aminoácido específico transportado por cada tRNA. Diferentes tRNA ligam diferentes aminoácidos. A estrutura tridimencional do tRNA foi determinada e é mostrada na Figura 14.18. O tRNA é produzido pela RNA-polimerase III, a qual reconhece uma porção do promotor na região transcrita do gene (Figura 14.19). Um segmento do promotor está localizado entre +8 e +19. Um segundo segmento está 30 a 60 pares de bases à direita do primeiro.

Os tRNAs precursores com cerca de 100 nucleotídeos de comprimento são gerados (Figura 14.20, círculo 1). O pré-tRNA assume uma conformação de trevo e é subseqüentemente clivado nas terminações 5' e 3' (ver Figura 14.20, círculo 2). A enzima que atua na terminação 5' é a RNase P, similar à RNase P da bactéria. Ambas as

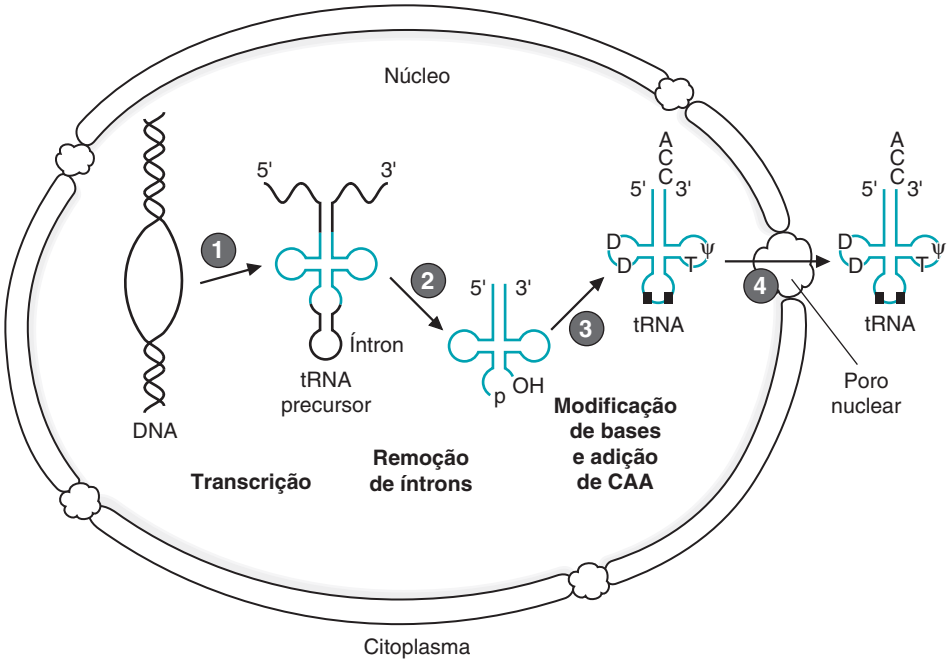


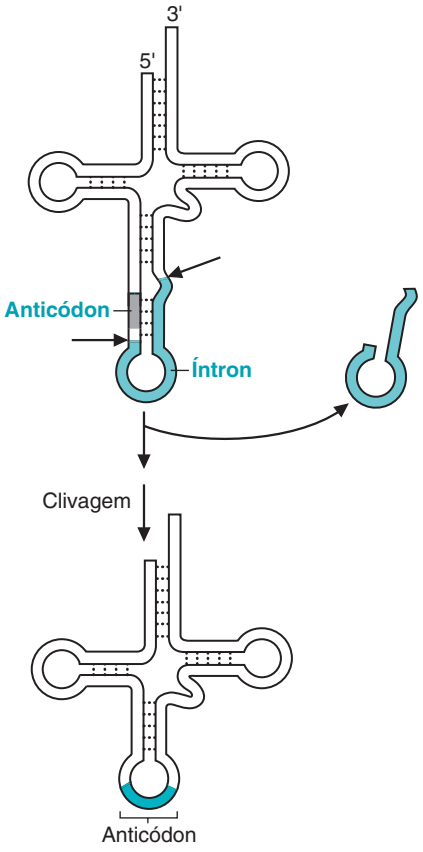
Figura 14.20 Visão geral da síntese do tRNA. D, T, ψ e ■ indicam bases modificadas. D = diidrouracil, T = ribotimina, ψ = pseudo-uridina, ■ = outras bases modificadas.

enzimas contêm um pequeno RNA (M1) que tem atividade catalítica e serve como uma endonuclease. Alguns precursores de tRNA contêm íntrons que são removidos por endonucleases. Para fechar a abertura, um grupo fosfato 2' ou 3' de uma terminação é ligado a uma hidroxila na outra terminação por uma RNA-ligase.

As bases são modificadas ao mesmo tempo em que as reações de clivagem de endonucleotídeos estão ocorrendo (ver Figura 14.20, círculo 3). Três modificações ocorrem na maioria dos tRNA: (1) uracil é metilado por *S*-adenosilmetionina (SAM) para formar timina; (2) uma das ligações duplas do uracil é reduzida para formar diidrouracil, e (3) um uracil residual (aderido à ribose por uma ligação *N*-glicosídica) é rotada para formar pseudo-uridina, a qual contém uracil associado à ribose por uma ligação carbono-carbono (ver Figura 14.17). Outras modificações, menos comuns, mas mais complexas, também ocorrem e envolvem outras bases além do uracil. Digna de nota é a desaminação da adenosina para formar a base inosina.

O passo final na formação do tRNA maduro é a adição de uma seqüência CCA à terminação 3' (ver Figura 14.20, círculo 4). Esses nucleotídeos são adicionados um de cada vez pela nucleotidiltransferase. O tRNA migra, então, para o citoplasma. A adenosina terminal da terminação 3' é o sítio no qual o aminoácido específico para cada tRNA é ligado e ativado para incorporação em uma proteína.

A remoção de íntrons no pré-tRNA tem sido mais extensivamente estudada em leveduras. O íntron, com menos de 20 nucleotídeos de comprimento, está localizado na alça anticódon da terminação 3'. A remoção do íntron por endonucleases produz duas metades do tRNA, as quais permanecem unidas por pontes de hidrogênio entre pares de bases na região estrutural. A abertura é fechada por uma RNA-ligase.



V. DIFERENÇAS NO TAMANHO DO DNA DE EUCARIOTOS E PROCARIOTOS

A. As Células Humanas São Diplóides

Exceto para as células germinativas, as células humanas normais em sua maioria são diplóides. Portanto, elas contêm duas cópias de cada cromossomo contendo genes que são alelos dos genes nos cromossomos homólogos. Como um cromossomo em cada conjunto de cromossomos homólogos é obtido do pai e outro da mãe, os alelos podem ser idênticos, contendo a mesma seqüência de DNA, ou diferentes. Uma célula humana diplóide contém 2.000 vezes mais DNA do que o genoma da bactéria na célula haplóide de *E. coli* (aproximadamente 4 x 10^6 pares de bases).

B. Os Genes Humanos Contêm Íntrons

Os íntrons em eucariotos contribuem para a diferença de tamanho entre as células de bactéria e as células humanas. Em genes de eucariotos, os íntrons (regiões não-codificadoras) ocorrem nas seqüências que codificam proteínas. Conseqüentemente, o transcrito primário (RNA nuclear heterogêneo ou hnRNA, do inglês *heterogeneus nuclear RNA*) é em média aproximadamente 10 vezes mais longo do que o RNA maduro produzido pela remoção dos íntrons. Ao contrário, os genes bacterianos não contêm íntrons.

C. Seqüências Repetitivas no DNA de Eucariotos

Apesar de diploidia e íntrons explicarem algumas das diferenças entre o conteúdo do DNA de humanos e de bactérias, há uma grande diferença que está relacionada à maior complexidade do organismo humano. As células bacterianas têm uma cópia simples de cada gene, chamado de DNA único, e contêm pouco DNA que não produz produtos funcionais. As células de eucariotos contêm quantidades substanciais de DNA que não codificam produtos funcionais (isto é, proteínas ou rRNA e tRNA). Em adição, alguns genes que codificam produtos funcionais estão presentes em múltiplas cópias, cha-

Q: Calcule o número de diferentes proteínas, com 300 aminoácidos de comprimento, que poderia ser produzido do genoma de *E.coli* (4 x 10^6 pares de base de DNA).

Inúmeras diferenças entre eucariotos e procariotos afetam os processos de replicação, transcrição e tradução, em adição ao conteúdo de seus DNAs. O DNA de eucariotos é unido com histonas, e o DNA de procariotos não. Em células eucarióticas, o processo de transcrição, o qual ocorre no núcleo, é separado pelo envelope nuclear do processo de tradução (síntese de proteínas a partir do mRNA-molde), a qual ocorre no citoplasma. Devido ao fato de os procariotos perderem o núcleo, os processos de transcrição e tradução ocorrem simultaneamente. A transcrição do DNA de bactérias requer somente um promotor por óperon. Ao contrário, o DNA de humanos requer um promotor para cada gene.

A complexidade pode explicar algumas das diferenças entre o conteúdo de DNA de bactérias e de humanos. Contudo, uma extensão dessa linha de pensamento poderia levar à conclusão de que rãs são mais complexas do que humanos, pois elas têm mais de 20 cm de DNA por núcleo diplóide em comparação a pouco mais de 15 cm em células humanas. A lógica, ou talvez a vaidade, sugere que a quantidade de DNA por célula não necessariamente reflete a complexidade do organismo. Um dos aspectos do DNA da rã que pode explicar seu comprimento é que as rãs têm mais DNA repetitivo do que os humanos. Mais de 75% do genoma da rã estão na categoria moderada ou altamente repetitiva, enquanto somente em torno de 35% do genoma humano estão na categoria repetitiva.

R: Quatro milhões de pares de bases contêm $4 \times 10^6/3$ ou 1,33 milhão de códons. Se cada proteína contém aproximadamente 300 aminoácidos, a *E. coli* poderia produzir em torno de 4.000 proteínas diferentes ($1{,}33 \times 10^6/300$).

madas de DNA altamente ou moderadamente repetitivos. Cerca de 64% do DNA no genoma humano são únicos, consistindo em seqüências presentes em uma ou algumas poucas cópias no genoma (Figura 14.21). As seqüências de DNA únicas são transcritas para gerar mRNA, que é traduzido para produzir proteínas.

O DNA altamente repetitivo consiste em seqüências com aproximadamente 6 a 100 pares de bases de comprimento que estão presentes em centenas de milhares a milhões de cópias, agrupadas em poucos locais no genoma (ver Figura 14.21). Elas ocorrem nos centrômeros (que unem cromátides-irmãs durante a mitose) e nos telômeros (as terminações dos cromossomos). Esse DNA representa cerca de 10% do genoma humano. Ele não é transcrito.

O DNA moderadamente repetitivo está presente em poucas dezenas de milhares de cópias no genoma (ver Figura 14.21). Essa fração constitui cerca de 25% do genoma humano. Ele contém DNA que é funcional e transcrito para produzir rRNA, tRNA e também algum mRNA. Os genes histona, presentes em poucas centenas de cópias no genoma, pertencem a essa classe. O DNA moderadamente repetitivo também inclui algumas seqüências de genes que são funcionais, mas não transcritas. Promotores e reforçadores (os quais estão envolvidos na regulação da expressão gênica) são exemplos de seqüências de genes dessa categoria. Outros grupos de seqüências de genes mode-

As seqüências Alu no DNA foram denominadas pela enzima Alu (obtida do *Arthrobacter luteus*), a qual é capaz de clivá-las. As seqüências Alu correspondem a 6 a 8% do genoma humano. Em alguns casos de hipercolesterolemia familiar, a recombinação homóloga ocorreu entre duas repetições Alu, resultando em uma grande deleção no gene do receptor da lipoproteína de baixa densidade (LDL). O receptor da LDL medeia a captação do colesterol, contendo partículas LDL para muitos tipos celulares, e, na ausência de receptores de LDL funcionais, os níveis de colesterol sangüíneo são elevados. Os pacientes que são homozigotos para essa mutação podem morrer de doença cardíaca em sua segunda ou terceira década de vida.

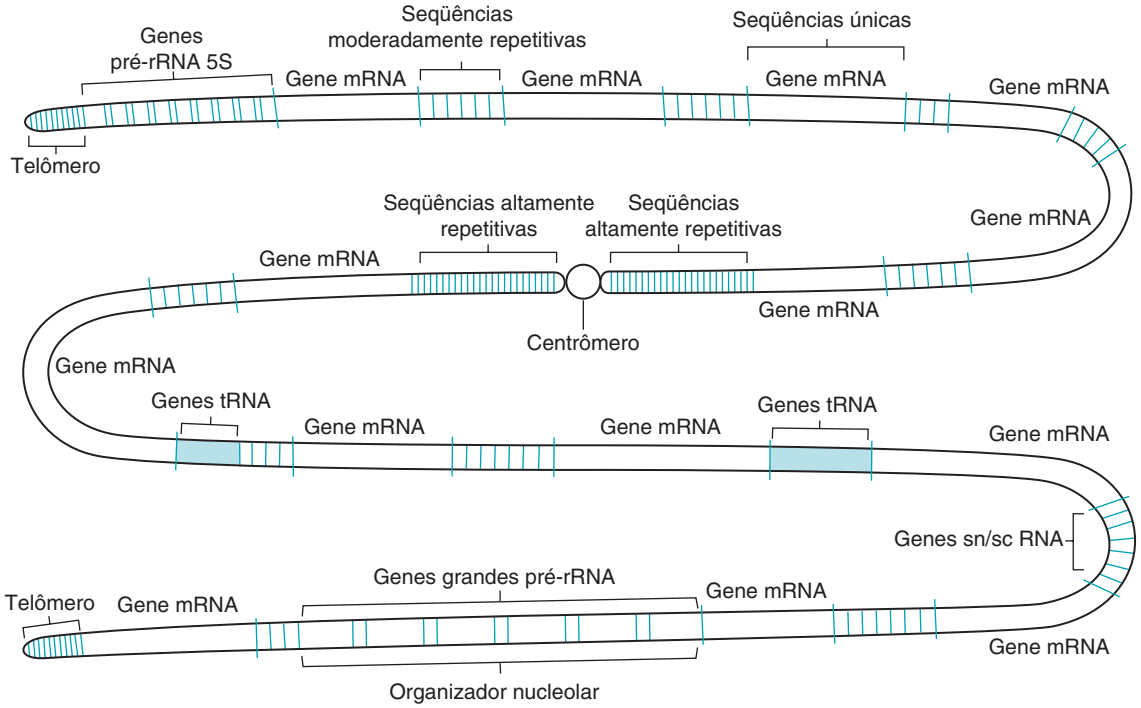


Figura 14.21 Distribuição das seqüências única, moderadamente repetitiva e altamente repetitiva em um cromossomo humano hipotético. Os genes únicos codificam mRNA. Esses genes ocorrem em cópias simples. Os genes precursores para o rRNA grande e o tRNA ocorrem em múltiplas cópias que estão agrupadas no genoma. Os genes do rRNA grande formam o organizador nucleolar. As seqüências moderadamente repetitivas são distribuídas no genoma, e as seqüências altamente repetitivas são agrupadas próximas ao centrômero e às terminações do cromossomo (telômeros). De Wolfe SL. Mol Cell Biol 1993:761.

Tabela 14.2 Diferenças entre Eucariotos e Procariotos

	Eucariotos (humanos)	Procariotos (*E. coli*)
Núcleo	Sim	Não
Cromossomos		
Número	23 por célula haplóide	1 por célula haplóide
DNA	Linear	Circular
Histonas	Sim	Não
Genoma		
Diplóide	Células somáticas	Não
Haplóide	Células germinativas	Todas as células
Tamanho	3×10^9 pares de base por célula haplóide	4×10^6 pares de base
Genes		
Únicos	64%	100%
Repetitivos		
Moderadamente	25%	Nenhum
Altamente	10%	Nenhum
Óperons	Não	Sim
mRNA		
Policistrônico	Não	Sim
Íntrons (hnRNA)	Sim	Não
Tradução	Separada da transcrição	Conjugada com a transcrição

radamente repetitivos que foram encontradas em humanos são chamadas de seqüências Alu (com aproximadamente 300 pares de base de comprimento). As seqüências Alu também são exemplos de SINE (do inglês *short interspersed elements*, elementos intercalados curtos). As seqüências LINE (*long interspersed elements*, elementos intercalados longos) têm 6.000 a 7.000 pares de bases de comprimento. As funções das seqüências Alu e LINE não foram determinadas.

As grandes diferenças entre DNA e RNA de procariotos e eucariotos são resumidas na Tabela 14.2.

Os LINE representam em torno de 5% do genoma humano. Em alguns pacientes com hemofilia (uma doença na qual o sangue não coagula normalmente), uma seqüência LINE foi inserida no éxon 14 do gene para o Fator VIII, uma proteína do sistema de coagulação. A inserção da seqüência LINE leva à produção de uma proteína não-funcional.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Anne Niemick. Pacientes com β^+-talassemia que mantêm os níveis de hemoglobina acima de 6,0 a 7,0 g/dL em geral são classificados como tendo thalassemia intermedia. Nas β-talassemias, as cadeias α de uma hemoglobina A ($\alpha_2\beta_2$) continuam a ser sintetizadas em uma velocidade normal. Essas cadeias se acumulam na medula óssea, onde as células sangüíneas vermelhas são sintetizadas na eritropoiese (produção de células sangüíneas vermelhas). O acúmulo de cadeias α diminui a eritropoiese, resultando em anemia. Os indivíduos que são homozigotos para uma mutação grave necessitam de transfusões constantes.

Os indivíduos com talassemia intermediária, como **Anne Niemick**, podem ter herdado dois alelos defeituosos diferentes, um de cada progenitor. Um progenitor pode ser o portador "silencioso", com uma alelo normal e um alelo levemente afetado. Esse progenitor produz globina β funcional suficiente, de tal modo que não aparecem sinto-

As mutações que causam a talassemia afetam a síntese da cadeia α ou β da hemoglobina do adulto, causando uma anemia. Elas são classificadas pela cadeia afetada (α ou β) e pela quantidade da cadeia sintetizada (0 para nenhuma síntese e + para a síntese de algumas cadeias funcionais). Elas são também classificadas como maior, intermediária ou menor, de acordo com a gravidade do distúrbio clínico. A β-talassemia maior (também chamada de β-talassemia homozigota) é um distúrbio clinicamente grave, necessitando de transfusões sangüíneas freqüentes. Ela é causada pela herança de dois alelos para uma mutação grave. Na β-talassemia intermediária, o paciente exibe um fenótipo clínico menos grave e é capaz de manter os níveis de hemoglobina acima de 6 g/dL. Em geral ela é o resultado de duas mutações moderadas diferentes ou homozigosidade para uma mutação moderada. A β-talassemia menor (também conhecida como um trato de β-talassemia) é um distúrbio heterozigoto envolvendo uma mutação simples que com freqüência é clinicamente assintomática.

Durante a vida embrionária e fetal, a cadeia β é substituída pelas cadeias ε e γ. Como resultado, pacientes com mutações graves na cadeia α tendem a morrer no útero, enquanto aqueles com mutações na cadeia β exibem sintomas pós-natais, quando a hemoglobina F normalmente é substituída pela hemoglobina A do adulto.

mas clínicos de talassemia (contudo, em geral eles têm uma quantidade de hemoglobina um pouco diminuída, resultando em células sangüíneas vermelhas microcíticas e hipocrômicas). Quando esse progenitor contribui com o alelo levemente defeituoso, e o outro progenitor heterozigoto contribui com um alelo mais gravemente defeituoso, ocorre talassemia intermediária na criança. A criança é, assim, heterozigota para dois alelos defeituosos diferentes.

Ivy Sharer. Ivy Sharer foi tratada com esquema de múltiplos fármacos para tuberculose, pois os micróbios que causam a doença freqüentemente se tornam resistentes a fármacos individuais. Rifampicina em combinação com o fármaco isoniazida (o qual afeta o metabolismo da vitamina B nas bactérias patogênicas) em geral é efetiva, mas são necessários meses de tratamento.

Da mesma forma que as bactérias podem se tornar resistentes a fármacos, o HIV também pode. Uma grande preocupação para médicos tratando pacientes com AIDS é o aparecimento de cepas de HIV-1 resistentes em pacientes tomando um único fármaco, como ZDV (zidovudina), por seis meses ou mais. Portanto, são utilizados esquemas de múltiplos fármacos que incluem outros inibidores da transcriptase reversa de nucleosídios, como didesoxiinosina (didanosina, anteriormente chamada de ddI) e didesoxicitidina (zalcitabina, anteriormente chamada de ddC). A terapia com múltiplos fármacos freqüentemente inclui inibidores não-nucleosídeos (p. ex., efavirenz), os quais agem alostericamente sobre a transcriptase reversa, e inibidores de protease (p.ex., indinavir), que previnem que a poliproteína HIV seja quebrada em seus produtos maduros (ver Comentários Bioquímicos).

Amanda Tin. A toxina α-amanitina é capaz de causar distúrbios hepatocelular e renal irreversível por meio da inibição de RNA-polimerases de mamíferos. Felizmente, a toxicidade em Amanda Tin era leve. Ela desenvolveu apenas sintomas gastrintestinais e leves alterações em suas funções hepática e renal, as quais retornaram ao normal dentro de poucas semanas. O tratamento foi primariamente de apoio, com reposição de líquido e eletrólitos para a perda pelo trato gastrintestinal. Não há antídoto efetivo disponível para a toxina do *A. phalloides*.

Sis Lupus. O LES é uma doença multissistêmica de origem desconhecida caracterizada por inflamação relacionada com a presença de auto-anticorpos no sangue.

Esses auto-anticorpos reagem com antígenos normalmente encontrados no núcleo, no citoplasma e na membrana plasmática da célula. Tais "auto"-interações antígeno-anticorpo (auto-imunes) iniciam uma cascata inflamatória que produz o perfil amplo de sintomas de disfunção de múltiplos órgãos encontrado em **Sis Lupus**.

A terapia farmacológica para LES, direcionada para imunossupressão, inclui altas doses de corticosteróides, os quais suprimem a resposta imune. Em casos refratários que não respondem a corticosteróides, fármacos citotóxicos que inibem a síntese de células produtoras de anticorpo pela medula óssea também são utilizados para causar imunossupressão.

Estudos recentes têm indicado que a falha no arranjo apropriado de restos celulares, um produto secundário normal da morte celular, pode levar à indução de auto-anticorpos direcionados contra a cromatina em pacientes com LES. As células normais têm um tempo de vida limitado, e são programadas para morrer (apoptose) por meio de um mecanismo bioquímico distinto. Um dos passos desse mecanismo é a interrupção da degradação do DNA celular (e de outros componentes celulares). Se os componentes intracelulares normais são expostos ao sistema imune, podem ser gerados auto-anticorpos contra eles. A enzima que degrada o DNA nas células é a desoxirribonuclease I (DNase I), e os indivíduos com LES têm níveis reduzidos de atividade sérica da DNase I em comparação com os indivíduos que não têm a doença. Portanto, o conhecimento dos mecanismos moleculares pelos quais os auto-anticorpos são produzidos pode possibilitar o desenvolvimento de terapias para combater esse distúrbio.

A transcriptase reversa que copia o genoma viral tem uma alta taxa de erro e não tem a capacidade de checagem. Como a incorporação de erros de pareamento de bases leva à evolução do vírus, novas populações se desenvolvem rapidamente em resposta a mudanças no ambiente. As mutações no gene da transcriptase reversa viral levam a enzima a tornar-se resistente a fármacos como a AZT (zidovudina). As vacinas atualmente desenvolvidas experimentalmente contra a proteína de superfície gp120 podem não ser efetivas, pois essa proteína também muta. Como uma conseqüência da rápida taxa de mutação do HIV, os tratamentos atuais para AIDS têm efetividade limitada, e a cura tem se mostrado difícil.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Produção do vírus que causa AIDS. A AIDS é causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). Duas formas do vírus foram descobertas, HIV-1, a qual é prevalente em países industrializados, e HIV-2, que é prevalente em certas regiões da África. Oito a dez anos ou mais podem passar entre a infecção inicial e o desenvolvimento completo da síndrome.

As proteínas no capsídeo viral se ligam a receptores de membrana (denominados CD4) de linfócitos T auxiliares, uma classe de células envolvida na resposta do sistema imune. Subseqüentemente, ocorrem mudanças conformacionais que levam as proteínas do capsídeo viral a ligar-se a um co-receptor de quimiocina na membrana celular. Os lipídeos do capsídeo viral, então, fusionam-se com a membrana celular, e o núcleo viral entra na célula, liberando RNA e enzimas (incluindo a transcriptase reversa) por

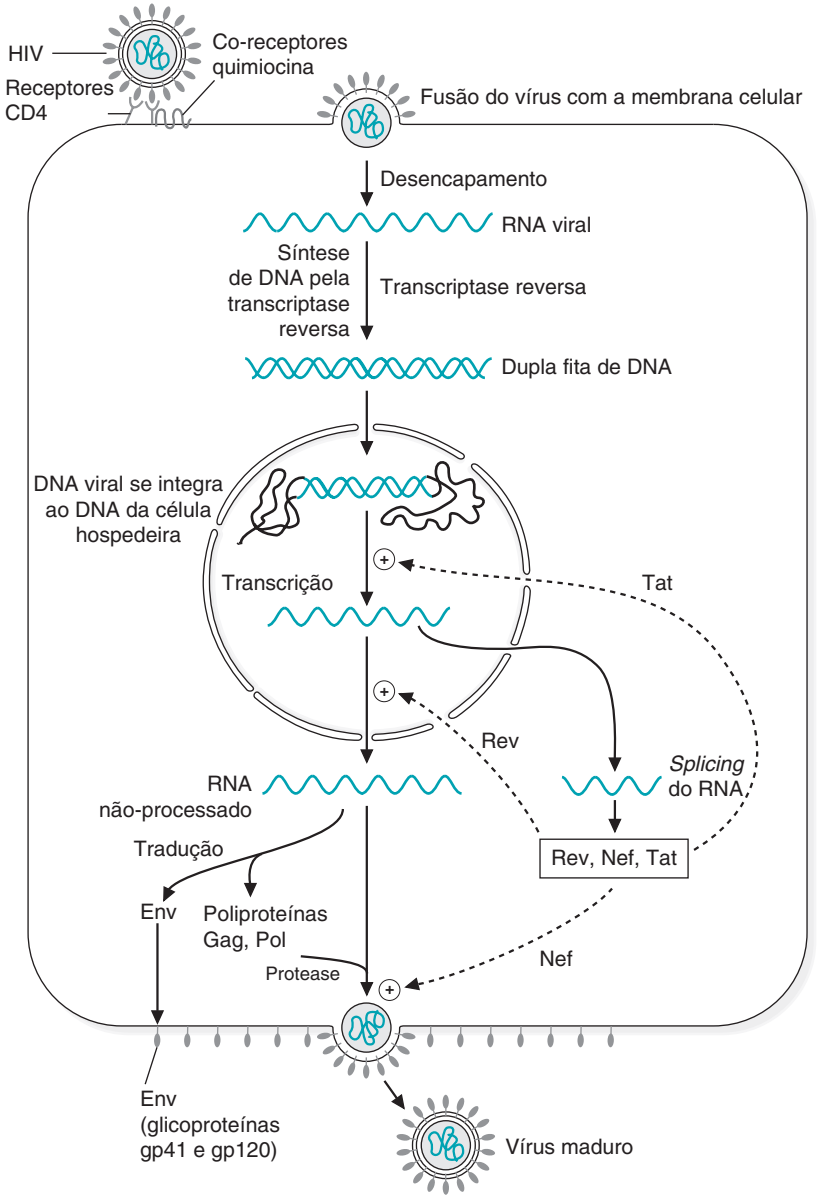


Figura 14.22 Infecção de uma célula hospedeira por HIV. A partícula viral HIV se liga ao receptor CD4 e a um co-receptor de quimiocina na membrana da célula hospedeira. O vírus entra na célula e perde a cápsula, liberando RNA e proteínas. A enzima viral transcriptase reversa produz uma cópia de dupla fita de DNA, que é integrada ao genoma da célula hospedeira. O HIV é agora um pró-virus. Os transcritos do DNA viral são processados e traduzidos para produzir as proteínas Tat, Rev e Nef. A Tat estimula a transcrição do DNA viral, e a Rev causa o deslocamento dos transcritos de RNA viral não-processados para o núcleo. O RNA não-processado serve como genoma viral e também codifica para proteínas do núcleo e do envelope viral. As proteínas do envelope (gp41 e gp120, as quais são derivadas da proteína env) entram na membrana celular. As proteínas nucleares virais são sintetizadas como uma poliproteína, a qual é clivada por uma protease que forma as partículas virais e os brotamentos da membrana celular. As partículas transportam lipídeos de membrana como um envoltório que contém gp41 e gp120. A Nef indiretamente ajuda na associação de partículas virais. A Pol é a transcriptase reversa produzida do RNA viral. ⊕ = estimulação.

um processo chamado de "desencapamento". A transcriptase reversa usa o RNA viral como molde para produzir uma cópia de DNA de fita simples, a qual serve, então, como molde para a síntese de uma dupla fita de DNA. Uma enzima integrase, também transportada pelo vírus, capacita esse DNA a se integrar no genoma da célula hospedeira como um pró-vírus (Figura 14.22).

No estágio inicial de transcrição do pró-vírus, o transcrito é processado, e as três proteínas Nef, Tat e Rev são produzidas. A Tat estimula a transcrição de genes virais. Enquanto a Rev acumula, permite ao RNA viral não-processado ir para o núcleo e produzir proteínas do envelope e do núcleo viral, incluindo a transcriptase reversa. Duas das glicoproteínas do envelope (gp41 e gp120, as quais são derivadas do produto do gene env) formam um complexo de fixação na membrana celular. As outras proteínas, as quais são transcritas como uma poliproteína e clivadas pela protease viral, combinam-se com a totalidade do RNA viral para formar partículas nucleares virais, as quais brotam da membrana celular. Portanto, o vírus obtém sua cobertura lipídica da membrana da célula hospedeira, e o capsídeo contém as proteínas virais gp41 e gp120. Essas proteínas de superfície do vírus se ligam aos receptores CD4 e a outros linfócitos T auxiliares humanos, e a infecção se dissemina.

Em uma pessoa infectada, os linfócitos T auxiliares em geral estão em um número aproximado de 1.000/mL. Infecção por HIV causa uma diminuição no número dessas células, o que resulta em uma deficiência do sistema imune. Quando o número de linfócitos T chega a menos de 200/mL, a doença está em um estágio avançado, e ocorrem infecções oportinísticas, como a tuberculose. Embora os macrófagos e as células dendríticas percam receptores CD4, eles também podem se tornar infectados com HIV e podem transportar o vírus para o sistema nervoso central.

A forma mais efetiva de combater a infecção por HIV envolve o uso de fármacos que inibem a transcriptase reversa ou a protease viral. No entanto, esses fármacos somente controlam a infecção; eles não efetuam a cura.



Os fármacos correntemente usados para o tratamento da AIDS atuam na transcriptase reversa viral ou na protease (ver Figura 14.22). Os farmácos não-nucleosídicos (p. ex., efavirenz) ligam a transcriptase reversa e inibem sua ação. Os análogos de nucleosídeos (p. ex., ZDV) se juntam à terminação 3′ do crescimento do DNA transcrito produzido pela transcriptase reversa e previnem o alongamento adicional. Os inibidores de proteases (p. ex., indinavir) se ligam à protease e a impedem de clivar a poliproteína.

Leituras Sugeridas

Uma cobertura mais completa da transcrição pode ser encontrada em:

Lewin B. Chapter 5: mRNA. In: Genes VII. Oxford: Oxford University Press, 2000:119-138.

Lewin B. Chapter 9: mRNA and Transcription. In: Genes VII. Oxford: Oxford University Press, 2000:232-272.

Lewin, B. Chapter 20: Initiation of transcription. In: Genes VII. Oxford: Oxford University Press, 2000:649-684.

Tjian R. Molecular machines that control genes. Sci Am 1995;272:54-61.

Referências envolvendo as doenças discutidas neste capítulo:

Clumeck N. Choosing the best initial therapy for HIV-1 infection. N Engl J Med 1999;341:1925-1926. (Ver também artigos atualizados.)

Frankel AD, Young JAT. HIV-1: Fifteen proteins and an RNA. Annu Rev Biochem 1998;67:1-25.

Weatherall DJ, Clegg JB. Higgs DR, Wood WG. The hemoglobinopathies. Vol. III. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle B., eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th Ed. New York: McGraw Hill, 2001: 4571-4636.

Watport MJ. Lupus, DNase and defective disposal or cellular debris. Nature Genetics 2000;25:135-136.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 14

1. O curto transcrito AUCCGUACG poderia ser derivado de qual das seguintes seqüências-molde de DNA? (Observe que todas as seqüências estão escritas de 5' para 3'.)

   (A) ATCCGTACG
   (B) CGTACGGAT
   (C) AUCCGUACG
   (D) TAGGCATGC
   (E) GCATGCCTA

2. Considerando que a DL_{50} (a dose na qual 50% dos receptores morrem) de amanitina é 0,1 mg por quilo de peso corporal e que o cogumelo contém 7 mg de amanitina, quantos cogumelos devem ser consumidos por Amanda Tin (50 kg peso corporal) para estar acima da DL_{50}?

   (A) 1
   (B) 2
   (C) 3
   (D) 4
   (E) 5

3. Qual das seguintes seqüências de controle do DNA de eucariotos não necessita estar em uma localização fixa e é a principal responsável por altas taxas de transcrição de genes específicos?

   (A) Promotor
   (B) Elemento proximal ao promotor
   (C) Reforçador
   (D) Operador
   (E) Sítio de processamento

4. Qual das seguintes afirmativas é verdadeira para a expressão gênica de eucariotos e procariotos?

   (A) Após a transcrição, uma cauda poli(A) 3' e uma capa 5' são adicionadas ao mRNA.
   (B) A tradução de mRNA pode iniciar antes de a transcrição estar completa.
   (C) O mRNA é sintetizado na direção 3' para 5'.
   (D) A RNA-polimerase se liga a uma região anterior ao promotor do gene.
   (E) O mRNA maduro é sempre precisamente co-linear ao gene do qual ele foi transcrito.

5. Em um segmento de um gene transcrito, a fita de DNA não-molde tem a seguinte seqüência: 5'...AGCTCACTG...3' Qual será a seqüência correspondente no RNA produzido desse segmento de gene?

   (A) CAGUGAGCU
   (B) AGCUCACUG
   (C) CAGTGAGCT
   (D) UCGAGUGAC
   (E) GTCACTCGA

15 Tradução: Síntese de Proteínas

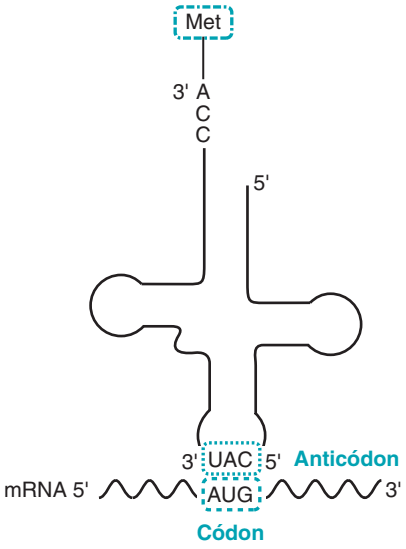


Figura 15.1 Ligação do tRNA ao códon no mRNA. O tRNA contém um aminoácido na sua terminação 3′ que corresponde ao códon no mRNA, com o qual o anticódon do tRNA pode parear bases. Note que o pareamento códon-anticódon é complementar e antiparalelo.

*As proteínas são produzidas pelo processo de **tradução**, o qual ocorre nos **ribossomos** e é direcionado pelo **mRNA**. A mensagem genética codificada no DNA é primeiro transcrita em mRNA, e a **seqüência de nucleotídeos** na região codificadora do mRNA é, então, traduzida para a **seqüência de aminoácidos** da proteína.*

***Tradução do código**. A porção do mRNA que especifica a seqüência de aminoácidos da proteína é lida em **códons**, que são **conjuntos de três nucleotídeos** que especificam aminoácidos individuais (Figura 15.1). Os códons no mRNA são lidos seqüencialmente na direção 5' para 3', começando no códon de "iniciação" 5'-AUG (ou* start*), que especifica a metionina e orienta a leitura da fita, e finalizando com o códon de "terminação" 3' (ou* stop*) UAG, UGA ou UAA. A proteína é sintetizada da sua porção N-terminal para C-terminal.*

*Cada aminoácido é transportado para o ribossomo por um **aminoacil-tRNA** (isto é, um RNA transportador com um aminoácido covalentemente ligado). O **pareamento de bases** entre o **anticódon** do tRNA e o **códon** no mRNA assegura que cada aminoácido seja inserido na cadeia polipeptídica em crescimento na posição apropriada.*

***Síntese de proteína.** A **iniciação** envolve a formação de um complexo contendo o **metionil-tRNA** inicial ligado ao códon de "iniciação" AUG do **mRNA** e o sítio "P" do **ribossomo**. Ele requer **GTP** e proteínas conhecidas como **fatores de iniciação de eucariotos** (eIFs, do inglês* eukariotic iniciation factors*).*

*O **alongamento** do polipeptídeo envolve **três passos**: (a) **ligação** de um **aminoacil-tRNA** ao sítio "A" no ribossomo, onde ele pareia bases com o segundo códon no mRNA; (b) **formação** de uma **ligação peptídica** entre o primeiro e o segundo aminoácido, e (c) **translocação**, movimento do mRNA em direção ao ribossomo, para que o terceiro códon do mRNA se mova para o sítio "A". Esses três passos de **alongamento** são **repetidos** até que o códon de **terminação** se alinhe com o sítio no ribossomo, onde o próximo aminoacil-tRNA deveria se ligar normalmente. Os **fatores de liberação** se ligam no lugar, fazendo com que a proteína completada seja liberada do ribossomo.*

*Após um ribossomo se ligar e se mover ao longo do mRNA, traduzindo o polipeptídeo, um outro ribossomo pode se ligar e iniciar a tradução. O complexo de um único mRNA com múltiplos ribossomos é conhecido como **polissomo**.*

***Dobramento, modificação e direcionamento da proteína**. O **dobramento** do polipeptídeo para sua configuração tridimencional ocorre quando um polipeptídeo está sendo traduzido. Esse processo envolve proteínas chamadas de **chaperonas**. A **modificação** de aminoácidos residuais em uma proteína ocorre durante e após a tradução. As proteínas sintetizadas nos **ribossomos citosólicos** são liberadas para o citosol ou transportadas para a mitocôndria, os peroxissomos e o núcleo. As proteínas sintetizadas nos ribossomos aderidos ao **retículo endoplasmático rugoso** (RER) são destinadas aos lizossomos, às membranas celulares ou à secreção da célula. Essas proteínas são transferidas para o **complexo de Golgi**, onde são modificadas e **direcionadas** a sua localização final.*

SALA DE ESPERA

Anne Niemick, uma paciente de 4 anos de idade com β-talassemia intermediária (ver Capítulo 14), não apresentou melhora de seus sintomas na segunda consulta. O nível de hemoglobina era de 7,0 g/dL (valores de referência para mulheres, 12 a 16 g/dL).

Jay Sakz é um menino de nove meses filho de pais judeus Ashkenazi. Seu crescimento e desenvolvimento foi normal até os cinco meses, quando começou a apresentar fraqueza muscular moderada generalizada. Aos sete meses, ele tinha pouco controle da cabeça, desenvolvimento lento de habilidades motoras e uma desatenção crescente pelo seu ambiente. Os pais também notaram movimentos incomuns dos olhos e episódios em que ficava com os olhos fixos. Ao exame cuidadoso da retina, o pediatra observou um ponto vermelho-cereja dentro de uma mácula pálida. O médico suspeitou de doença de Tay-Sachs e enviou amostras de sangue total para o laboratório de biologia molecular-genética.

Neu Moania retornou ao consultório de seu médico após uma semana de eritromicina (ver Capítulo 12). A amostra de escarro da consulta prévia foi para cultura. Os resultados confirmaram que a infecção respiratória era causada por *Streptococcus pneumoniae* e que o organismo era sensível à penicilina, macrolídeos (p. ex., eritromicina, claritromicina), tetraciclina e outros antibióticos.

Erna Nemdy, uma estudante de medicina do primeiro ano, de 25 anos ("*earn a M.D.*", tornar-se médico), traz sua filha saudável de quatro meses, **Beverly**, ao pediatra para a segunda imunização contra difteria, coqueluxe, tétano (DPT-2). Erna diz ao médico que sua tia-avó havia morrido de difteria durante uma epidemia muitos anos atrás.

Os resultados de testes realizados no laboratório de biologia molecular mostraram que **Jay Sakz** tem uma inserção no éxon 11 da cadeia β do gene da hexosaminidase A, a mutação mais comum encontrada em pacientes de descendência judaica Ashkenazi que têm doença de Tay-Sachs.

I. O CÓDIGO GENÉTICO

Tanto a transcrição, a transferência da mensagem genética do DNA para o RNA, quanto a tradução, a transferência da mensagem genética da linguagem dos nucleotídeos dos ácidos nucleicos para a linguagem dos aminoácidos das proteínas, dependem do pareamento de bases. No final dos anos de 1950 e no início dos anos de 1960, biólogos moleculares, tentando decifrar o processo de tradução, reconheceram dois problemas. O primeiro envolveu a decodificação, a relação entre a "linguagem" dos ácidos nucleicos e a "linguagem" das proteínas, e o segundo envolveu a determinação do mecanismo molecular pelo qual a tradução entre essas duas linguagens ocorria.

Vinte diferentes aminoácidos são comumente incorporados às proteínas, e, portanto, o "alfabeto" das proteínas tem 20 caracteres. O alfabeto dos ácidos nucleicos, no entanto, tem somente quatro caracteres, correspondendo aos quatro nucleotídeos do mRNA (A, G, C e U). Se dois nucleotídeos constituíssem o código para um aminoácido, então somente 4^2 ou 16 aminoácidos poderiam ser especificados. Portanto, o número de nucleotídeos que codifica para um aminoácido deve ser três, propiciando 4^3 ou 64 combinações possíveis ou "códons", mais do que o necessário, mas não em excesso.

Os cientistas começaram, então, a determinar os códons específicos para cada aminoácido. Em 1961, Marshall Nirenberg produziu a primeira revelação no código genético (a coleção de códons que especificavam todos os aminoácidos encontrados em proteínas). Ele mostrou que poli(U), um polinucleotídeo no qual todas as bases são uracil, produzia polifenilalanina em um sistema de síntese de proteína célula-livre. Dessa forma, UUU deve ser o códon para a fenilalanina. Como resultado de experimentos usando polinucleotídeos sintéticos no lugar do mRNA, outros códons foram identificados.

A. Códons para alanina



B. Pareamento de bases dos códons alanina com o anticódon

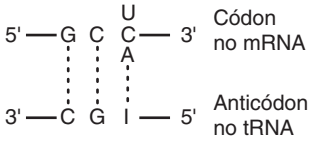


Figura 15.2 Pareamento de bases dos códons para alanina com 5′-IGC-3′. **A.** Note que a variação está na terceira base. **B.** Os primeiros três desses códons podem parear com um mRNA que contém o anticódon 5′-IGC-3′. A hipoxantina (I) é uma base incomum encontrada no tRNA que pode formar pares de base com U, C ou A. Ela é formada pela desaminação da adenina.



A hipoxantina é a base aderida ao ribossomo no nucleosídeo inosina. A abreviatura de uma única letra para hipoxantina é "I", em referência ao nucleosídeo inosina. (Em outros casos, a primeira letra da base é também a primeira letra do nucleosídeo e da abreviatura de uma única letra. Por exemplo, A é a base adenina e o nucleosídeo adenosina.)

Os biólogos moleculares pioneiros reconheceram que, devido ao fato de os aminoácidos não poderem se ligar diretamente ao conjunto de três nucleotídeos que formam seus códons, "adaptadores" são necessários. Os "adaptadores" são as moléculas de tRNA. Cada molécula de tRNA contém um anticódon e liga covalentemente um aminoácido específico à sua terminação 3' (ver Capítulos 12 e 14). O anticódon de uma molécula de tRNA é o conjunto de três nucleotídeos que pode interagir com um códon no mRNA (Figura 15.2). Para interagir, o códon e o anticódon devem ser complementares (isto é, eles devem ser capazes de formar pares de bases em uma orientação antiparalela). Portanto, o anticódon de um tRNA serve como uma ligação entre um códon mRNA e o aminoácido que o códon especifica.

Obviamente, cada códon presente no mRNA deve corresponder a um aminoácido específico. Niremberg estabeleceu que trinucleotídeos de seqüências de bases conhecidas poderiam se ligar aos ribossomos e induzir a ligação de aminoacil-tRNAs específicos (isto é, tRNA com aminoácidos covalentemente ligados). Como um resultado desses experimentos e dos iniciais, a relação especificada entre todos os 64 códons e os aminoácidos (o código genético completo) foi determinada na metade dos anos de 1960 (Tabela 15.1).

Três dos 64 possíveis códons (UGA, UAG e UAA) terminam a síntese da proteína e são conhecidos como códons de "terminação" (*stop*) ou códon sem sentido. Os 61 códons remanescentes especificam aminoácidos. Somente dois aminoácidos têm um códon cada um (AUG = metionina, UGG = triptofano). Os aminoácidos restantes têm múltiplos códons.

A. O Código Genético É Degenerado, mas Não É Ambíguo

Devido ao fato de muitos aminoácidos serem especificados por mais de um códon, o código genético é descrito como "degenerado", o que significa que um aminoácido tem mais de um códon. No entanto, cada códon especifica somente um aminoácido, e o código genético, portanto, não é ambíguo.

O exame de uma tabela de códons mostra que, na maioria dos casos de múltiplos códons para um único aminoácido, a variação ocorre na terceira base do códon (ver Tabela 15.1). Crick notou que o pareamento da base 3' do códon e da base 5' do anticódon nem sempre segue as estritas regras do pareamento de bases que ele e Watson tinham previamente descoberto (isto é, A pareia com U, e G com C). Essa observação resultou na hipótese do "pareamento vacilante".

Na terceira base do códon (a posição 3' do códon e a posição 5' do anticódon), o par de base pode "deslizar"; por exemplo, G pode parear com U, e A, G ou U podem parear com a base incomum hipoxantina (I) encontrada no tRNA. Portanto, três dos

Tabela 15.1 O Código Genético

Primeira Base	Segunda Base				Terceira Base
(5′)	U	C	A	G	(3′)
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Stop	Stop	A
	Leu	Ser	Stop	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

quatro códons para alanina (GCU, GCC e GCA) podem parear com um único tRNA que contém o anticódon 5'-IGC- 3' (ver Figura 15.2). Se cada um dos 61 códons para aminoácidos necessitasse de um tRNA distinto, as células poderiam conter 61 tRNA. No entanto, devido ao "deslizamento" entre o códon e o anticódon, menos de 61 tRNA são necessários para traduzir o código genético.

B. O Código É Quase Universal

Todos os organismos estudados até agora usam o mesmo código genético, com algumas raras exceções. Uma exceção ocorre no mRNA mitocondrial humano, onde UGA codifica para o triptofano em vez de servir como um códon de terminação, AUA codifica para metionina alternativamente à isoleucina, e CUA codifica para treonina alternativamente à leucina.

C. O Código Não Contém Pontuação Nem Sobreposição

O mRNA não contém marcas para separar um códon do próximo, e os códons não se sobrepõem. Cada nucleotídeo é lido somente uma única vez. Começando com o códon de iniciação (AUG) próximo à extremidade 5' do mRNA, os códons são lidos seqüencialmente, finalizando com um códon de terminação (UGA, UAG ou UAA) próximo à terminação 3' do mRNA.

II. RELAÇÃO ENTRE O mRNA E O PRODUTO PROTÉICO

O códon de iniciação (AUG) orienta a leitura da fita, a ordem na qual a seqüência de bases no mRNA é agrupada para os códons (Figura 15.3). A ordem dos códons no mRNA determina a seqüência na qual os aminoácidos serão adicionados para o crescimento da cadeia polipeptídica. Portanto, a ordem dos códons no mRNA determina a seqüência linear de aminoácidos na proteína.

III. EFEITOS DE MUTAÇÕES

As mutações que resultam de modificação nos nucleotídeos da molécula de DNA ou de erros de pareamento durante a replicação (ver Capítulo 13) podem ser transcritas para o mRNA e, portanto, podem resultar na tradução de uma proteína com uma seqüência de aminoácidos anormal. Vários tipos de mutações podem ocorrer que têm diferentes efeitos na proteína codificada (Tabela 15.2).

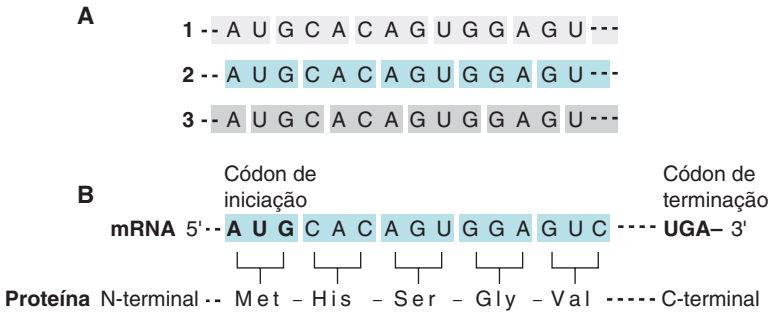


Figura 15.3 Leitura da fita do mRNA. **A.** Para qualquer seqüência de mRNA, existem três leituras possíveis da fita (1, 2 e 3). **B.** Um AUG próximo à extremidade 5′ do mRNA (o códon de iniciação) orienta a leitura da fita para a tradução de uma proteína do mRNA. Os códons são lidos em ordem linear, iniciando com o AUG. (As outras leituras potenciais da fita não são usadas. Elas poderiam originar proteínas com seqüências de aminoácidos diferentes.)

Tabela 15.2 Tipos de Mutações

Tipo	Descrição	Exemplo
Pontual	Mudança de uma única base	
Silenciosa	Uma mudança que especifica o mesmo aminoácido	CGA → CGG Arg → Arg
Missense	Uma mudança que especifica um aminoácido diferente	CGA → CCA Arg → Pro
Nonsense	Uma mudança que produz um códon de terminação (*stop*)	CGA →UGA Arg → *Stop*
Inserção	Uma adição de uma ou mais bases	
Deleção	Uma perda de uma ou mais bases	

A. Mutações Pontuais

As mutações pontuais ocorrem quando somente uma base no DNA é alterada, produzindo uma mudança em uma única base de um códon do mRNA. Existem três tipos básicos de mutações pontuais: mutações silenciosas, mutações que causam erro de leitura (*missense*) e mutações que causam interrupção da leitura (*nonsense*). As mutações pontuais são denominadas "silenciosas" quando não afetam a seqüência de aminoácidos da proteína. Por exemplo, um códon muda de CGA para CGG sem afetar a proteína, pois ambos os códons especificam arginina (ver Tabela 15.1). Em mutações *missense*, um aminoácido na proteína é substituído por um aminoácido diferente. Por exemplo, uma mudança de CGA para CCA causa a substituição de arginina por prolina. Uma mutação *nonsense* causa a terminação prematura de uma cadeia polipeptídica. Por exemplo, a mudança de um códon de CGA para UGA faz com que um códon para arginina seja substituído por um códon de terminação, e a síntese da proteína mutante termina nesse ponto.

A anemia falciforme é causada por uma mutação *missense*. Em cada um dos alelos para globina β, o DNA de **Will Sichel** tem uma única mudança de base (ver Capítulo 6). No gene da célula falciforme, GTG substitui o GAG normal. Portanto, no mRNA, o códon GUG substitui GAG, e um resíduo de valina substitui um resíduo de glutamato na proteína.

Um tipo de talassemia é causado por uma mutação *nonsense*. O códon 17 da cadeia da globina β é mudado de UGG para UGA. Essa mudança resulta na conversão de um códon para um resíduo triptofano para um códon de terminação (*stop*).

É possível que **Anne Niemick** tenha essa mutação no códon 17?

Alguns tipos de talassemias são causados por deleções nos genes da globina. Os pacientes que têm grandes deleções na extremidade 5′ ou na 3′ da região codificadora do gene da globina β têm sido estudados, removendo quase um terço da seqüência de DNA.

É possível que **Anne Niemick** tenha uma grande deleção no gene da globina β?

B. Mutações por Inserções, Deleções e Deslocamento do Código

Uma inserção ocorre quando um ou mais nucleotídeos são adicionados ao DNA. Se a inserção não gera um códon de terminação, uma proteína com mais aminoácidos do que o normal poderá ser produzida.

Quando um ou mais nucleotídeos são removidos do DNA, a mutação é conhecida como deleção. Se a deleção não afeta os códons normais de iniciação e terminação da transcrição, uma proteína com um número de aminoácidos menor do que o normal pode ser produzida.

Uma mutação por deslocamento do código (*frameshift*) ocorre quando o número de nucleotídeos inseridos ou deletados não é múltiplo de três (Figura 15.4). A leitura da fita desloca no ponto onde a inserção ou a deleção iniciam. A partir desse ponto, a seqüência de aminoácidos da proteína traduzida do mRNA difere da proteína normal.

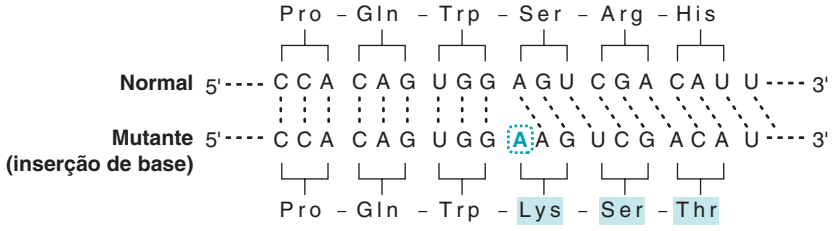


Figura 15.4 Uma mutação por deslocamento da leitura. A inserção de um nucleotídeo simples (o A no quadrado pontilhado) causa o deslocamento da leitura da fita, então a seqüência de aminoácidos da proteína traduzida do mRNA é diferente após o ponto de inserção. Um efeito similar pode resultar da inserção ou deleção de nucleotídeos se o número inserido ou deletado não é um múltiplo de 3.

IV. FORMAÇÃO DE AMINOACIL-tRNA

Um tRNA que contém um aminoácido covalentemente ligado na sua terminação 3' é chamado aminoacil-tRNA e é tido como "carregado". Os aminoacil-tRNAs são denominados tanto para os aminoácidos quanto para o tRNA que transporta o aminoácido. Por exemplo, o tRNA para alanina ($tRNA^{ala}$) adquire alanina para tornar-se alanil-$tRNA^{ala}$. Um tRNA específico reconhece somente o códon de iniciação AUG que começa a síntese de proteína e não outros códons AUG que especificam a inserção de metionina na cadeia polipeptídica. Esse iniciador metionil-$tRNA^{met}$ é indicado pelo "i" subscrito no metionil-$tRNA_i^{Met}$.

Os aminoácidos são ligados aos seus tRNAs por enzimas altamente específicas conhecidas como aminoacil-tRNA-sintetases. Existem 20 diferentes sintetases, uma para cada aminoácido. Cada sintetase reconhece um aminoácido em particular e todos os tRNAs que o transportam.

A formação de ligações éster que ligam o aminoácido ao tRNA por uma aminoacil-tRNA-sintetase é um processo dependente de energia que ocorre em dois passos. O aminoácido é ativado no primeiro passo quando seu grupo carboxila reage com trifosfato de adenosina (ATP) para formar um complexo enzima/aminoacil-AMP e pirofosfato (Figura 15.5). A clivagem da ligação de alta energia do ATP nessa reação fornece energia, e a clivagem subseqüente do pirofosfato por uma pirofosfatase auxilia a direcionar a reação por remoção de um dos produtos. No segundo passo, o aminoácido ativado é transferido para o grupo hidroxila 2' ou 3' (dependendo do tipo de aminoacil-tRNA-sintetase catalisando a reação) do resíduo terminal A 3' do tRNA, e AMP é liberado (relembrando que todos os tRNAs têm um CCA adicionado à sua terminação 3' após o término da transcrição). A energia da ligação éster aminoacil-tRNA é subseqüentemente usada na formação de uma ligação peptídica durante o processo de síntese de proteína.

Algumas aminoacil-tRNA-sintetases usam o anticódon do tRNA como um sítio de reconhecimento conforme aderem o aminoácido ao grupo hidroxila na terminação 3' do tRNA (Fig. 15.6). No entanto, outras sintetases não usam o anticódon, mas reconhecem somente bases localizadas em outras posições no tRNA. Por outro lado, a inserção de aminoácidos em uma cadeia polipeptídica em crescimento depende somente das bases do anticódon, direcionando o pareamento de bases complementar com o códon mRNA.

V. PROCESSO DE TRADUÇÃO

A tradução de uma proteína envolve três passos: iniciação, alongamento e terminação. Ela começa com a formação de um complexo de iniciação. Subseqüentemente, a sín-

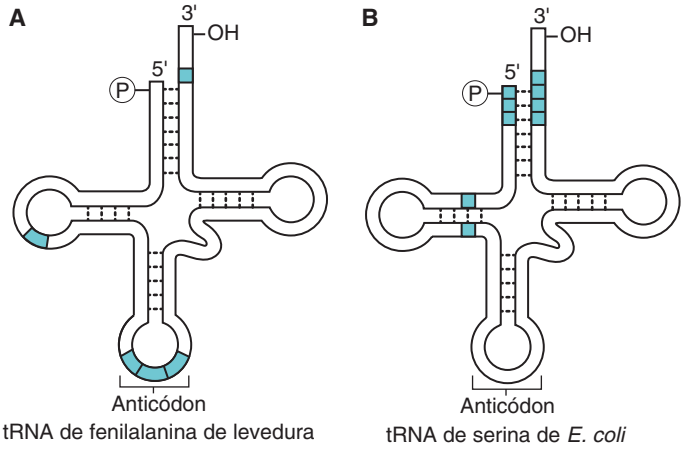


Figura 15.5 Formação de aminoacil-tRNA. O aminoácido é primeiro ativado pela reação com ATP. O aminoácido é, então, transferido do aminoacil-AMP para o tRNA.

R: Uma mutação *nonsense* no códon 17 poderia causar terminação prematura da tradução. Poderia resultar em um peptídeo não-funcional contendo somente 16 aminoácidos, produzindo uma β^0-talassemia se a mutação ocorreu em ambos os alelos. Uma grande deleção na região codificadora do gene poderia também produzir uma proteína truncada. Se **Anne Niemick** tem uma mutação *nonsense* ou uma grande deleção, ela poderia estar somente em um alelo. A mutação no outro alelo deve ser moderada, uma vez que produz alguma globina β normal. Sua hemoglobina é 7 g/dL, típica de talassemia intermediária (uma β^+-talassemia).

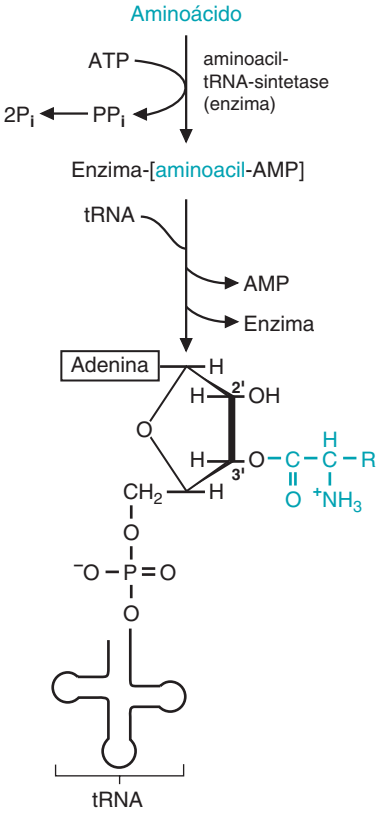


Figura 15.6 Alguns sítios de reconhecimento de aminoacil-tRNA no tRNA. Cada aminoacil-tRNA-sintetase é específica para um tRNA, o qual ela "reconhece" pela ligação às seqüências de nucleotídeos chamadas de sítios de reconhecimento, mostrados em azul. Em alguns casos, o anticódon é um sítio de reconhecimento, em outros, ele não é. Isso é verdadeiro tanto para os tRNAs humanos como também para aqueles mostrados aqui.

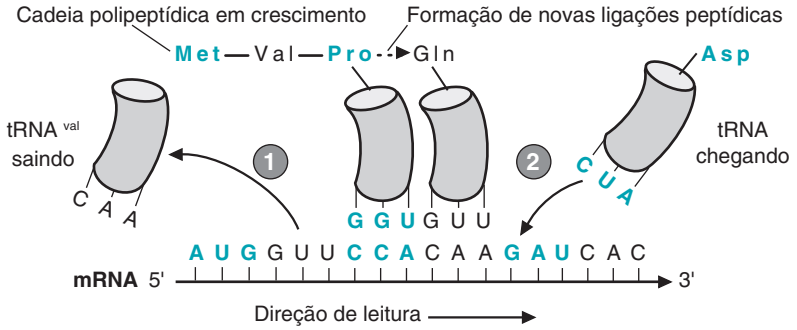


Figura 15.7 Visão geral do processo de tradução. 1. Uma vez que um tRNA doou seu aminoácido para a cadeia polipeptídica em crescimento, ele é liberado do mRNA. 2. Um novo aminoacil-tRNA se liga ao códon correto no mRNA para doar seu aminoácido à cadeia polipeptídica em crescimento.

tese do polipeptídeo ocorre por uma série de passos de alongamento que são repetidos quando cada aminoácido é adicionado à cadeia em crescimento (Figura 15.7). A terminação ocorre quando o mRNA contém um códon de terminação (*stop*) na fita, e a cadeia polipeptídica completa é liberada.

O fator de iniciação eucariótico 2 (eIF2) e também o fator de alongamento 1 (EF1) são tipos de proteínas G heterodiméricas (ver Capítulo 11). Eles mudam sua conformação de forma dramática e ativamente formam complexos quando ligam GTP, mas tornam-se inativas e dissociadas quando hidrolisam o GTP para GDP. O GTP pode, então, deslocar o GDP ligado para reativar o fator de iniciação eIF2 ou o fator de alongamento EF1.

A. Iniciação da Tradução

Em eucariotos, a iniciação da tradução envolve a formação de um complexo composto de metionil-tRNA$_i^{Met}$, mRNA e ribossomo (Figura 15.8). O metionil-tRNA$_i^{Met}$ (também conhecido como Met-tRNA$_i^{Met}$) inicialmente forma um complexo com a proteína fator de iniciação eucariótico 2 (eIF2), a qual liga GTP. Esse complexo, então, se liga à pequena subunidade ribossomal (40S). A capa na terminação 5' do mRNA liga um fator de iniciação conhecido como proteína de ligação de capa (CBP, do inglês *cap binding protein*). A CBP contém diversas subunidades, incluindo eIF4E. Diversos outros eIFs se ligam, e o mRNA, então, liga-se ao complexo ribossomal eIFs-Met-tRNA$_i^{Met}$-40S. Em uma reação necessitando de hidrólise do ATP (devido à atividade helicase de uma

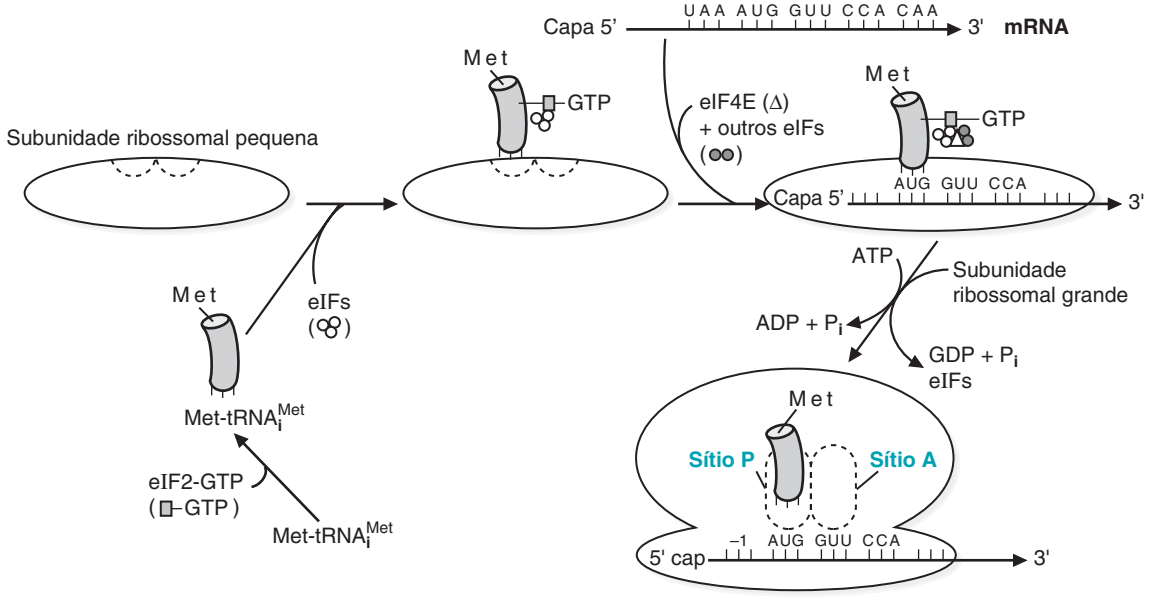


Figura 15.8 Iniciação da síntese protéica. Sítio P = sítio peptidil no ribossomo; sítio A = sítio aminoacil no ribossomo (os sítios A e P ou porções deles são indicados por linhas tracejadas); eIF = fator de iniciação eucariótico.

Tabela 15.3 Diferenças entre Eucariotos e Procariotos na Iniciação da Síntese Protéica

	Eucariotos	Procariotos
Ligação do mRNA a pequenas subunidades ribossomais	A capa na terminação 5' do mRNA liga os eIFs e a subunidade ribossomal 40S contendo $tRNA_i^{met}$. O mRNA é lido pelo códon de iniciação AUG.	Seqüência Shine-Dalgarno anterior à ligação do códon de iniciação se liga à seqüência complementar no rRNA 16S.
Primeiro aminoácido	Metionina	Formil-metionina
Fatores de iniciação	eIFs (12 ou mais)	IFs (3)
Ribossomos	80S (subunidades 40S e 60S)	70S (subunidades 30S e 50S)

subunidade eIF), esse complexo desenrola uma alça em forma de grampo no mRNA e lê o mRNA até localizar o códon de iniciação AUG (em geral o primeiro AUG). O GTP é hidrolisado, os fatores de iniciação são liberados, e a subunidade ribossomal grande (60S) se liga. O ribossomo está agora completo. Ele contém uma subunidade pequena e uma grande e tem dois sítios de ligação para tRNA, conhecidos como sítios P (peptidil) e A (aminoacil). Durante a iniciação, Met-$tRNA_i^{Met}$ se liga ao ribossomo e ao sítio P.

O processo de iniciação é diferente para procariotos e eucariotos (Tabela 15.3). Em bactéria, a iniciação metionil-tRNA é formilada, produzindo um formil-metionil-$tRNA_f^{Met}$ que participa na formação do complexo de iniciação (Figura 15.9). Somente três fatores de iniciação (IFs, do inglês *initiation factors*) são necessários para gerar esse complexo em procariotos, em comparação com uma dúzia ou mais necessária para eucariotos. Os ribossomos também diferem em tamanho. Os procariotos têm ribossomos 70S, compostos das subunidades 30S e 50S, e eucariotos têm ribossomos 80S, compostos das subunidades 40S e 60S. Diferentemente do mRNA eucariótico, o mRNA de bactérias não é capeado. A identificação da tríade de iniciação AUG em procariotos ocorre quando a seqüência no mRNA (conhecida como seqüência Shine-Dalgarno) se liga a uma seqüência complementar próxima à terminação 3' do rRNA 16S da subunidade pequena do ribossomo.

B. Alongamento da Cadeia Polipeptídica

Após o complexo de iniciação estar formado, a adição de cada aminoácido à cadeia polipeptídica em crescimento envolve a ligação de um aminoacil-tRNA ao sítio A no ribossomo, a formação de uma ligação peptídica e a translocação do peptidil-tRNA ao sítio P (Figura 15.10). O peptidil-tRNA contém a cadeia polipeptídica em crescimento.

1. LIGAÇÃO DO AMINOACIL-tRNA AO SÍTIO A

Quando Met-$tRNA_i$ (ou um peptidil-tRNA) está ligado ao sítio P, o códon mRNA no sítio A determina qual aminoacil-tRNA irá se ligar àquele sítio. Um aminoacil-tRNA se liga quando seu anticódon é antiparalelo e complementar ao códon mRNA. Em

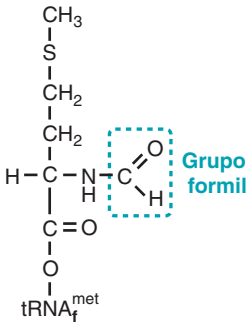


Figura 15.9 tRNA bacteriano contém formil-metionina. A metionina inicial não é formilada na síntese de proteínas de eucariotos.

A insulina, um hormônio anabólico, estimula a síntese protéica geral por ativação do fator de iniciação eIF4E. Normalmente, o eIF4E está ligado a uma proteína inibitória, proteína de ligação 4E (4E-BP). Quando a insulina se liga a seus receptores celulares de superfície, ela inicia uma seqüência de eventos resultando em fosforilação de 4E-BP. A 4E-BP fosforilada não se liga mais ao eIF4E, o qual agora está livre para participar da iniciação da síntese de proteína.

O eIF2 é um regulador do passo de iniciação na síntese de proteínas. Quando está fosforilado, está ativo, e a síntese de proteína não pode iniciar. Condições tais como jejum, choque térmico e infecção viral resultam na fosforilação do eIF2 por uma quinase específica.

A regulação da síntese de globina pelo heme em reticulócitos ilustra o papel do eIF2 na regulação da tradução. Os reticulócitos, que são os precursores das células sangüíneas vermelhas, sintetizam a molécula de hemoglobina transportadora de oxigênio da cadeia polipeptídica globina e o heme, um pigmento ligado ao ferro. Na ausência do heme, a taxa de iniciação da síntese de globina diminui. O heme atua por inibição da fosforilação do fator de iniciação eIF2. Portanto, o eIF2 é ativo na presença do heme, e a síntese da globina é iniciada.

Muitos antibióticos que são usados para combater infecções bacterianas em humanos tiram vantagens das diferenças entre os mecanismos para a síntese de proteínas em procariotos e eucariotos. Por exemplo, a estreptomicina se liga à subunidade ribossomal 30S de procariotos. Ela interfere com a iniciação da síntese protéica e causa erro de leitura do mRNA.

Embora as bactérias causadoras dessa infecção sejam sensíveis à estreptomicina, esse fármaco não foi usado para tratar **Neu Moania**, pois pode causar perda de audição permanente. Seu uso é, no entanto, restrito principalmente ao tratamento de tuberculose ou de outras infecções que não respondem adequadamente a outros antibióticos.

O antibiótico tetraciclina liga-se à subunidade ribossomal 30S de procariotos e inibe a ligação do aminoacil-tRNA ao sítio A do ribossomo. A bactéria causadora da infecção de **Neu Moania** mostrou ser sensível à tetraciclina.

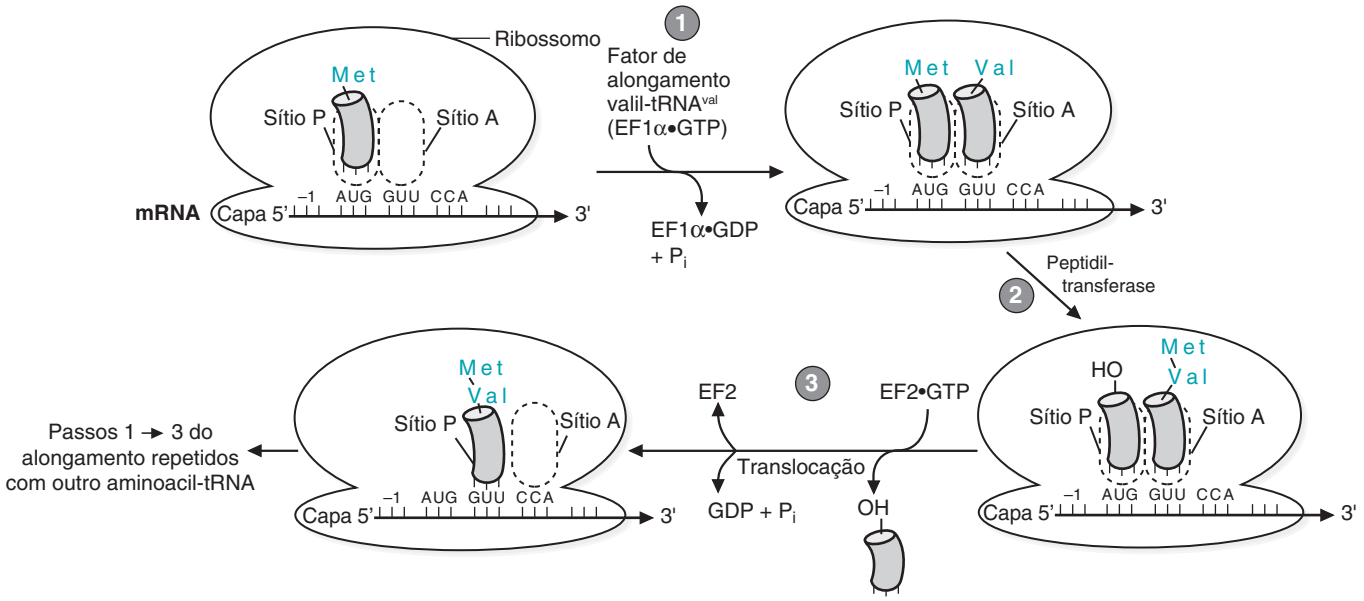


Figura 15.10 Alongamento de uma cadeia polipeptídica. 1. Ligação do valil-tRNA^{Val} ao sítio A. 2. Formação de uma ligação peptídica. 3. Translocação. Após o passo 3, o passo 1 é repetido usando o aminoacil-tRNA para o novo códon no sítio A. Os passos 2 e 3 seguem. Esses três passos são repetidos até a terminação ocorrer. (Em procariotos, um sítio de saída chamado de sítio E liga o tRNA após o deslocamento do sítio P.) EF = fator de alongamento.

eucariotos, a chegada do aminoacil-tRNA primeiro combina com o fator de alongamento (*elongation factor*) EF1α contendo GTP ligado antes da ligação ao complexo mRNA-ribossomo (EF1α é a subunidade α de ligação a GTP de uma proteína G hetero-trimérica, a qual é ativada por associação a outras proteínas quando contém GTP; ver Capítulo 11). Quando o complexo aminoacil-tRNA-EF1α-GTP se liga ao sítio A, o GTP é hidrolisado a GDP. Isso causa dissociação de EF1α-GDP do complexo aminoacil-tRNA, o que possibilita a continuação da síntese protéica (Figura 15.11).

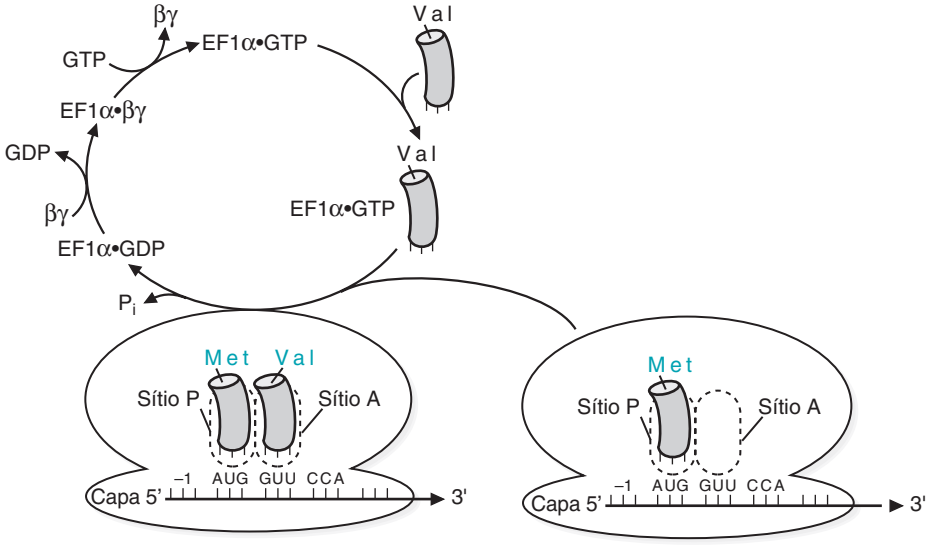


Figura 15.11 Reciclagem de EF1 em eucariotos. Note que EF1 é uma proteína G heterotrimérica. Sua subunidade α liga GTP e ativa o processo pelo qual um aminoacil-tRNA se liga ao sítio A do ribossomo. O GTP é hidrolisado, e o EF1α se liga às subunidades EF1βγ, liberando GDP. O GTP se liga à subunidade α, as subunidades βγ são liberadas, e EF1α GTP está pronto para um outro ciclo. Em procariotos, EF1α é EF-Tu, e a proteína correspondente a βγ é EF-Ts.

O EF1α-GDP livre se reassocia com as subunidades EF1βγ, e o GDP é liberado. Subseqüentemente, GTP se liga, e as subunidades βγ se dissociam. Então, o EF1α-GTP está pronto para ligar uma outra molécula aminoacil-tRNA.

O processo de alongamento da cadeia é muito similar em procariotos, exceto que o fator correspondente a EF1α é denominado EF-Tu, e os fatores de alongamento associados são chamados de EF-Ts em vez de EF1βγ.

2. FORMAÇÃO DE UMA LIGAÇÃO PEPTÍDICA

No primeiro ciclo de alongamento, o aminoácido do tRNA no sítio A forma uma ligação peptídica com a metionina do tRNA no sítio P. No ciclo subseqüente de alongamento, o aminoácido do tRNA no sítio A forma uma ligação peptídica com o peptídeo do tRNA no sítio P (ver Figura 15.10). A peptidiltransferase, que não é uma proteína, mas o rRNA da subunidade ribossomal grande, catalisa a formação da ligação peptídica. O tRNA no sítio A agora contém a cadeia polipeptídica em crescimento, e o tRNA no sítio P é descarregado (isto é, ele não contém mais um aminoácido ou peptídeo).

3. TRANSLOCAÇÃO

A translocação em eucariotos envolve uma outra proteína G, o fator de alongamento EF2 (EF-G em procariotos) que forma um complexo com GTP e se liga ao ribossomo, causando uma mudança conformacional que move o mRNA e suas bases pareadas dos tRNAs em relação ao ribossomo. O tRNA descarregado se move do sítio P e é liberado do ribossomo. O peptidil-tRNA se move para o sítio P, e o próximo códon do mRNA ocupa o sítio A. Durante a translocação, o GTP é hidrolisado a GDP, que é liberado do ribossomo junto com o fator de alongamento (ver Figura 15.10).

C. Terminação da Tradução

Os três passos de alongamento são repetidos até o códon de terminação (*stop*) se mover para o sítio A no ribossomo. Devido ao fato de normalmente não existirem nas células tRNA com anticódons que possam parear com códons de terminação, fatores de liberação se ligam ao ribossomo, causando hidrólise da ligação peptidiltransferase entre a cadeia peptídica e o tRNA. O polipeptídeo recentemente sintetizado é liberado do ribossomo, o qual dissocia-se em suas subunidades individuais, liberando o mRNA.



Atualmente, alguns pais não estão tendo seus filhos imunizados. A diminuição da incidência de doenças infecciosas nos Estados Unidos tem levado a complacência. Alguns pais que perderam o seguro de saúde não podem gastar para ter seus filhos vacinados. Recordando o horror da poliomielite nos verões dos anos de 1940 e 1950, deve-se entender que as imunizações são uma segurança que deveria estar disponível para todas as crianças.



A síntese de proteína requer uma considerável quantidade de energia. A formação de cada aminoacil-tRNA requer o equivalente a duas ligações fosfato de alta energia, pois o ATP é convertido a AMP e pirofosfato, o qual é clivado para formar dois fosfatos inorgânicos. Quando cada aminoácido é adicionado à cadeia polipeptídica em crescimento, dois GTP são hidrolisados, um no passo envolvendo EF1 e o outro no passo de translocação. Portanto, quatro ligações de alta energia são clivadas para cada aminoácido do polipeptídeo. Além disso, energia é necessária para a síntese de uma cadeia polipeptídica e para a síntese de precursores de nucleotídeos trifosfato mRNA, tRNA e rRNA envolvidos na tradução.



Os antibióticos macrolídeos (isto é, eritromicina, claritromicina) ligam-se à subunidade ribossomal 50S da bactéria e inibem a translocação. A claritromicina foi usada para tratar **Neu Moania**, pois já tinha sido usada sem problema. Ela tem menos efeitos colaterais sérios do que muitos outros antibióticos e é usada como um fármaco alternativo em pacientes como **Mr. Moania**, que são alérgicos à penicilina. Após uma semana de terapia, **Mr. Moania** se recuperou da infecção.



O cloranfenicol é um antibiótico que interfere na atividade da peptidiltransferase da subunidade ribossomal 50S da bactéria. Ele não foi usado para tratar **Neu Moania**, pois é muito tóxico para humanos, parcialmente devido ao seu efeito na síntese de proteína mitocondrial.



A difteria é uma doença altamente contagiosa causada por uma toxina secretada pela bactéria *Corynebacterium diphtheriae.* Embora a toxina seja uma proteína, ela não é produzida por um gene bacteriano, mas por um gene transportado para a célula bacteriana por um bacteriófago infectante.

A toxina da difteria é composta por duas subunidades protéicas. A subunidade B se liga a um receptor celular de superfície, facilitando a entrada da subunidade A na célula. Na célula, a subunidade A catalisa a reação na qual a porção ADP-ribose (ADPR) do NAD é transferida para EF2 (ADP-ribosilação). Nessa reação, a ADPR é covalentemente aderida a um resíduo histidina modificado após o término da tradução, conhecido como diftamida. A ADP-ribosilação de EF2 inibe a síntese protéica, levando à morte celular. As crianças, incluindo a filha de **Erna Nemdy**, normalmente são imunizadas contra essa doença com freqüência fatal nos primeiros anos.

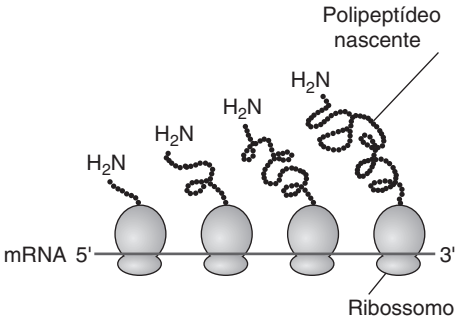


Figura 15.12 Um polissomo. O complexo de mRNA e múltiplos ribossomos, cada um dos quais está produzindo uma cadeia polipeptídica, é chamado polissomo.

VI. POLISSOMOS

Enquanto um ribossomo move-se ao longo do mRNA, produzindo uma cadeia polipeptídica, um segundo ribossomo pode se ligar à terminação 5' vaga do mRNA. Muitos ribossomos podem traduzir simultaneamente um único mRNA, formando um complexo conhecido como polissomo (Figura 15.12). Um único ribossomo cobre cerca de 80 nucleotídeos de mRNA. Portanto, os ribossomos são posicionados no mRNA em intervalos de aproximadamente 100 nucleotídeos. O crescimento da cadeia polipeptídica aderida ao ribossomo torna-se maior quando cada ribossomo move-se da terminação 5' em direção à terminação 3' do mRNA.

VII. PROCESSAMENTO DAS PROTEÍNAS

As cadeias de polipeptídeos nascentes (isto é, polipeptídeos que estão em processo de síntese) são processadas. Enquanto estão sendo produzidas, deslocam-se através de um túnel no ribossomo, o qual pode conter cerca de 30 resíduos de aminoácidos. Enquanto a polimerização da cadeia progride, os resíduos de aminoácidos da terminação N-terminal começam a emergir dessa região protegida no ribossomo e se dobrar e redobrar para chegar à conformação tridimensional do polipeptídeo. As proteínas unem-se ao polipeptídeo nascente e medeiam o processo de dobramento. Esses mediadores são chamados de chaperonas (ver Capítulo 7), pois previnem que interações impróprias aconteçam. A formação de ligações dissulfídicas entre resíduos cisteína é catalisada por dissulfeto-isomerases e pode também estar envolvida na produção de estruturas tridimensionais do polipeptídeo.

VIII. MODIFICAÇÕES PÓS-TRADUCIONAIS

Após as proteínas emergirem do ribossomo, elas podem sofrer modificações pós-traducionais. A metionina inicial é removida por proteases específicas; a metionina não é o aminoácido N-terminal de todas as proteínas. Subseqüentemente, outras clivagens específicas também podem ocorrer, convertendo proteínas a formas mais ativas (p. ex., a conversão de pró-insulina em insulina). Além disso, os aminoácidos residuais na cadeia polipeptídica podem ser enzimaticamente modificados para alterar a atividade ou a estabilidade das proteínas, direcioná-la para um compartimento subcelular ou prepará-la para a secreção da célula.

Os aminoácidos residuais são enzimaticamente modificados pela adição de vários tipos de grupos funcionais (Quadro 15.1). Por exemplo, o aminoácido N-terminal é algumas vezes acetilado, e grupos metila podem ser adicionados aos resíduos de lisina. Essas mudanças alteram a carga da proteína. A prolina e a lisina residuais podem ser modificadas por hidroxilação. No colágeno, hidroxilações levam à estabilização da proteína. As carboxilações são importantes, especialmente para a função das proteínas envolvidas na coagulação sangüínea. A formação de γ-carboxiglutamato leva essas proteínas a quelar Ca^{2+}, um passo na formação do coágulo. Ácidos graxos ou outros grupos hidrofóbicos (p. ex., grupos fenila) ancoram a proteína nas membranas. Um grupo ribose-ADP pode ser transferido do NAD^+ para certas proteínas. A adição e a remoção de grupos fosfato (os quais se ligam covalentemente a serina, treonina ou resíduos tirosina) servem para regular a atividade de muitas proteínas (p. ex., as enzimas de degradação de glicogênio e os reguladores da transcrição gênica). A glicosilação, a adição de carboidratos, é uma modificação comum que ocorre principalmente em proteínas que são destinadas a ser secretadas ou incorporadas a lisossomos ou membranas celulares.

Quadro 15.1 Modificações Pós-Traducionais das Proteínas

Acetilação
ADP-ribosilação
Carboxilação
Acilação de lipídeos
Glicosilação
Hidroxilação
Metilação
Fosforilação
Prenilação

IX. DIRECIONAMENTO DE PROTEÍNAS PARA LOCALIZAÇÕES SUBCELULARES E EXTRACELULARES

Muitas proteínas são sintetizadas em polissomos no citosol. Após serem liberadas dos ribossomos, permanecem no citosol, onde executam suas funções. Outras proteínas sintetizadas nos ribossomos citosólicos vão para as organelas, como mitocôndrias ou

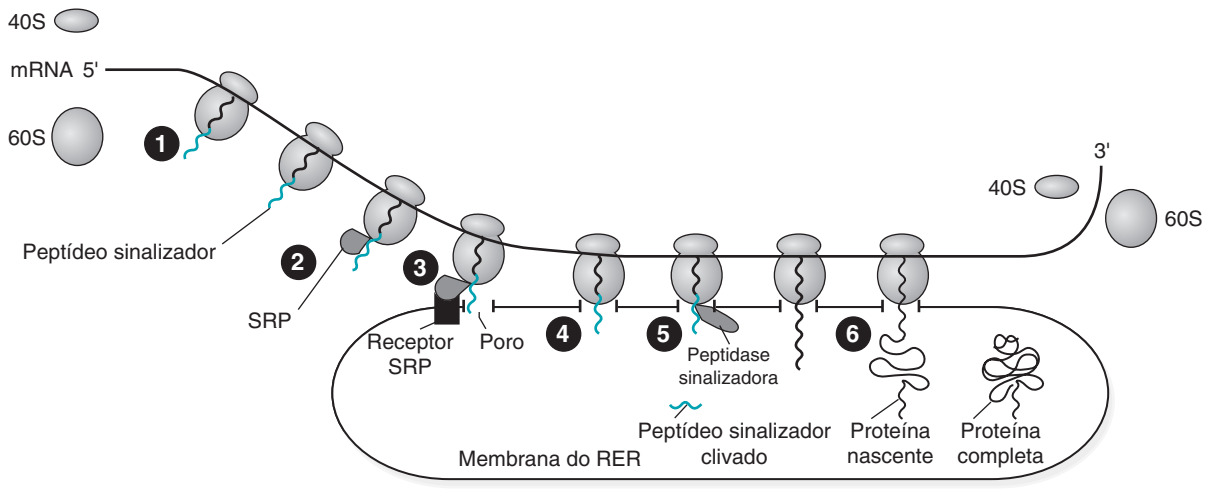


Figura 15.13 Síntese de proteinas no RER. 1. A tradução da proteína inicia no citosol. 2. Quando o peptídeo sinalizador emerge do ribossomo, uma partícula reconhecedora de sinal (SRP, do inglês *signal recognition particle*) se liga a ele e ao ribossomo e inibe a progressão da síntese da proteína. 3. A SRP se liga ao receptor SRP na membrana do RER (retículo endoplasmático rugoso), localizando o ribossomo no RER. 4. A SRP é liberada, e a síntese de proteína reinicia. 5. Quando o peptídeo sinalizador move-se através do poro para o RER, uma peptidase sinalizadora remove esse peptídeo. 6. A síntese da proteína nascente continua, e a proteína completa é liberada para o lúmen do RER.

núcleos. Essas proteínas contêm seqüências de aminoácidos chamadas de seqüências-alvo ou seqüências sinalizadoras que facilitam seu transporte para uma certa organela. Um outro grupo de proteínas é sintetizado nos ribossomos ligados ao RER (retículo endoplasmático rugoso). Essas proteínas são designadas para secreção ou para incorporação em várias organelas subcelulares (p. ex., lisossomos, retículo endoplasmático [RE], complexo de Golgi) ou membranas celulares, incluindo a membrana plasmática. As proteínas que entram no RER quando estão sendo sintetizadas têm peptídeos sinalizadores próximos ao seu N-terminal que não têm uma seqüência comum de aminoácidos. No entanto, elas podem conter diversos resíduos hidrofóbicos e têm 5 a 30 aminoácidos de comprimento (Figura 15.13). Uma partícula reconhecedora de sinal (SRP, do inglês *signal recognition particle*) se liga ao ribossomo e ao peptídeo sinalizador quando o polipeptídeo nascente emerge do túnel no ribossomo, e a tradução é interrompida. Quando a SRP subseqüentemente se liga a um receptor SRP (proteína ancouradora) no RER, a tradução termina, e o polipeptídeo começa a entrar no lúmen do RER. O peptídeo sinalizador é removido pela peptidase sinalizadora, e o restante da proteína recentemente sintetizada entra no lúmen do RER. Essas proteínas são transferidas em pequenas vesículas para o complexo de Golgi.

O complexo de Golgi serve para processar as proteínas que ele recebe do RER e selecioná-las para que sejam enviadas para seus destinos apropriados (Figura 15.14). O processamento, que pode ser iniciado no retículo endoplasmático, envolve glicosilação, a adição de grupos carboidrato, e modificação das cadeias de carboidratos existentes. A categorização de sinais permite a liberação das proteínas para suas localizações de destino. Por exemplo, a glicosilação de enzimas destinadas a tornarem-se enzimas lisossomais resulta na presença de um resíduo manose-6-fosfato em um oligossacarídeo aderido à enzima. Esse resíduo é reconhecido pela proteína receptora manose-6-fosfato, a qual incorpora a enzima a uma vesícula revestida por clatrina. A vesícula desloca-se para os endossomos e é eventualmente incorporada aos lisossomos. Outras proteínas contendo uma seqüência KDEL (lys-asp-glu-leu) em sua terminação carboxila são redirecionadas ao RE do Golgi. As proteínas com regiões hidrofóbicas podem estar inseridas em várias membranas. Algumas proteínas, cujos sinais ainda não foram determinados, penetram a vesícula secretória e vão para a membrana celular, onde são secretadas pelo processo de exocitose.



A doença da célula I (Mucolipidose II) é um distúrbio da proteína-alvo. As proteínas lisossomais não são liberadas apropriadamente do Golgi para os lisossomos, e as enzimas lisossomais finalmente são secretadas da célula. Isso ocorre devido a uma mutação na enzima N-acetilglicosamina fosfotransferase, que é o primeiro passo necessário para aderir o sinalizador-alvo lisossomal, manose-6-fosfato, às proteínas lisossomais. Portanto, as proteínas lisossomais não podem ser direcionadas aos lisossomos, e essas organelas tornam-se carregadas com materiais que não podem ser digeridos, em geral destruindo a função lisossomal. Isso leva a uma doença de estocagem lisossomal de conseqüências graves, com morte antes dos oito anos de idade.

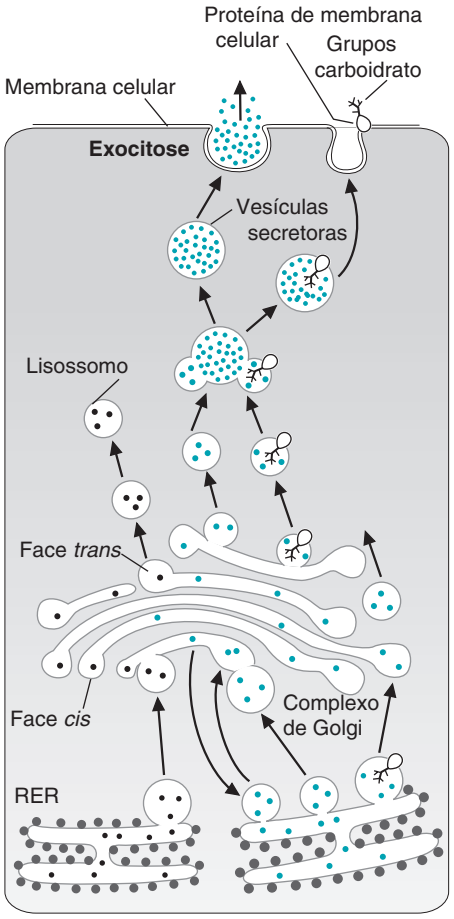


Figura 15.14 Destino das proteínas sintetizadas no RER. As proteínas sintetizadas nos ribossomos aderidas ao RE deslocam-se em vesículas para a face *cis* do complexo de Golgi. Após a fusão da membrana, as proteínas entram no complexo. Os fatores estruturais das proteínas determinam seu destino. Algumas permanecem no complexo de Golgi, outras retornam ao RER. Algumas brotam em vesículas da face *trans* do complexo. Essas vesículas podem se tornar lisossomos ou vesículas secretoras, dependendo do seu conteúdo. As proteínas secretoras são liberadas das células quando as vesículas secretoras fundem-se com a membrana celular (exocitose). As proteínas com regiões hidrofóbicas integradas na membrana de vesículas secretoras tornam-se proteínas da membrana celular. Ver Capítulo 10 para uma descrição de retículo endoplasmático, complexo de Golgi, lisossomos e membrana celular, e também para uma explicação do processo de exocitose.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Anne Niemick tem uma β-talassemia classificada clinicamente como β-talassemia intermediária. Ela produz uma quantidade intermediária de cadeias de globina β (sua hemoglobina é 7 g/dL; o normal é 12 a 16). Na β-talassemia, pouca ou nenhuma cadeia β da hemoglobina é produzida. A β-talassemia intermediária em geral é o resultado de duas mutações diferentes (uma que afeta levemente a taxa de síntese de globina β e uma que afeta gravemente sua taxa de síntese), ou, com menos freqüência, homozigosidade para uma mutação leve na taxa de síntese, ou uma combinação complexa de mutações. As mutações que causam as talassemias têm sido extensamente estudadas e estão resumidas na Tabela 15.4. Para cada uma dessas mutações, deve-se ser capaz de explicar se é mais provável que resulte em uma β^+ ou β^0-talassemia.

Jay Sakz. O laboratório de biologia molecular e genética relatou que as células sangüíneas brancas de Jay Sakz indicaram que ele tinha uma deficiência de hexosaminidase A causada por um defeito no gene codificando a subunidade α dessa enzima (variante B, doença Tay-Sachs). As hexosaminidases são enzimas lisossomais necessárias para a degradação normal de glicoesfingolipídeos, como gangliosídeos. Os glangliosídeos são encontrados em altas concentrações na glia neural, embora sejam produzidos em muitas áreas do sistema nervoso. Quando a atividade dessa enzima de degradação está ausente ou subnormal, os gangliosídeos parcialmente degradados se acumulam nos lisossomas em várias células do sistema nervoso central, causando um amplo espectro de distúrbios neurológicos conhecidos coletivamente como gangliosidoses.

Tabela 15.4 Alguns Exemplos de Mutações na β-Talassemia

Tipo de Mutação	Fenótipo	Origem
Nonsense		
Códon 17 (A→T)	β^0	Chinesa
Códon 39 (C→T)	β^0	Mediterrânea
Códon 121 (A→T)	β^0	Polonesa
Frameshift		
Códon 6 (-1 pb)	β^0	Mediterrânea
Códon 16 (-1 pb)	β^0	Asiática indiana
Códon 41/42 (-4 pb)	β^0	Asiática indiana, chinesa
Códon 71/72 (+ 1 pb)	β^0	Chinesa
Promotor		
Posição –88 (C→T)	β^+	Afro-americana
Posição –31 (A→G)	β^+	Japonesa
Posição –28 (A→C)	β^+	Curda
Sítio *Cap*		
Posição +1 (A→C)	β^+	Asiática indiana
Junção *Splice*		
Íntron 1, posição 1 (G→A)	β^0	Mediterrânea
Íntron 1, terminação 3′ (-25 pb)	β^0	Asiática indiana
Íntron 2, posição 1 (G→A)	β^0	Mediterrânea
Íntron 2, terminação 3′ (A→G)	β^0	Afro-americana
Íntron, interna		
Íntron 1, posição 5 (G→T)	β^+	Mediterrânea
Íntron 1, posição 6 (T→C)	β^+	Mediterrânea
Intron 2, posição 110 (G→A)	β^+	Mediterrânea
Íntron 2, posição 654 (C→T)	β^0	Chinesa
Íntron 2, posição 745 (C→G)	β^+	Mediterrânea
Éxon, interna		
Códon 24 (T→A)	β^+	Afro-americana
Códon 26 (G→A)	β^E	Sudeste asiático
Códon 27 (G→T)	$\beta^{Knossos}$	Mediterrânea
Clivagem RNA/poliadenilação		
AATAAA ‡ AACAAA	β^+	Afro-americana

Dados de Scriver CR, et al. The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Diseases, Vol III. New York: McGraw-Hill, 1995:3456–3457.

Quando a deficiência enzimática é grave, os sintomas aparecem dentro dos 3 a 5 meses de vida. Eventualmente, os sintomas incluem déficits de neurônios motores superiores e inferiores, dificuldades visuais que podem progredir para cegueira, convulsões e disfunção cognitiva crescente. No segundo ano de vida, o paciente pode regredir para um estado completamente vegetativo, com freqüência sucumbindo à broncopneumonia causada por aspiração ou inabilidade de tossir.

Erna Nemdy. Com a disponibilidade de toxóide diftérico como parte das práticas quase universais de imunização com DPT nos Estados Unidos, fatalidades decorrentes de infecção pelo bacilo gram-positivo *C. diphtheriae* são raras. A maioria das crianças, como no caso da filha de Erna Nemdy, Beverly, é imunizada. Em indivíduos não-imunizados, contudo, os sintomas são causados por uma exotoxina codificada por um fago que infecta as células bacterianas. As toxinas entram nas células humanas, inibindo a síntese protéica e, finalmente, causando morte celular. As complicações relacionadas a envolvimento de sistema cardíaco e nervoso são as maiores causas de morbidade e mortalidade. Os pacientes com um diagnóstico definitivo de difteria são tratados com antitoxina eqüina contra difteria.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Antibióticos que Inibem a Síntese Protéica. Os processos de tradução nos ribossomos bacterianos e nos ribossomos citoplasmáticos das células eucarióticas tem muitas similaridades, mas existem algumas diferenças sutis. Os antibióticos atuam nas etapas nas quais essas diferenças ocorrem, e antibióticos diferentes atuam em cada um dos principais passos da síntese protéica (Tabela 15.5). Portanto, esses compostos podem ser usados seletivamente para prevenir a síntese de proteína bacteriana e inibir a proliferação de bactérias, enquanto têm pouco ou nenhum efeito nas células humanas. No entanto, cuidados devem ser tomados no seu uso, pois alguns antibióticos afetam as mitocôndrias humanas, que têm um sistema de síntese de proteínas similar ao das bactérias. Um outro problema do uso desses fármacos é que a bactéria pode tornar-se resistente a sua ação. As mutações em genes codificadores de proteínas ou RNA de ribossomos bacterianos podem causar resistência. Tal resistência também ocorre quando as bactérias incorporam plasmídeos transportando genes para a inativação do antibiótico. Devido ao uso extensivo e freqüentemente indiscriminado de antibióticos, variantes de bactérias são rapidamente desenvolvidas e são resistentes a todos os antibióticos conhecidos.

Estreptomicina. A estreptomicina inibe a iniciação pela ligação a três proteínas e provavelmente ao rRNA 16S da subunidade ribossomal 30S da bactéria. Os complexos de iniciação anormais, conhecidos como monossomos de estreptomicina acumulam. A estreptomicina pode causar também erro de leitura do mRNA, resultando em terminação prematura da tradução ou na incorporação de aminoácidos incorretos na cadeia polipeptídica que tiver sido iniciada. O uso desse antibiótico é limitado, pois causa ototoxicidade, que pode resultar em perda da audição.

Tabela 15.5 Inibidores da Síntese Protéica em Procariotos

Antibiótico	Mecanismo de Ação
Estreptomicina	Liga-se à subunidade ribossomal 30S dos procariotos, prevenindo a formação do complexo de iniciação. Ela também causa erro de leitura do mRNA
Tetraciclina	Liga-se à subunidade ribossomal 30S e inibe a ligação do aminoacil-tRNA ao sítio A
Cloranfenicol	Liga-se à subunidade ribossomal 50S e inibe a peptidiltransferase
Eritromicina	Liga-se à subunidade ribossomal 50S e previne a translocação



Tetraciclina. A tetraciclina se liga à subunidade ribossomal 30S da bactéria e previne que um aminoacil-tRNA se ligue ao sítio A no ribossomo. Esse efeito do fármaco é reversível; no entanto, quando é removido, a bactéria reinicia a síntese protéica e cresce, resultando em uma retomada da infecção. Além disso, a tetraciclina não é bem-absorvida do intestino, e sua concentração pode tornar-se elevada no conteúdo intestinal, levando a mudanças na flora do intestino. O uso no tratamento de infecções humanas e adicionalmente na alimentação de animais para prevenir infecções tem resultado em exposição extensiva a tetraciclina. Como conseqüência, espécies resistentes de bactérias têm se desenvolvido.



Cloranfenicol. O cloranfenicol se liga à subunidade ribossomal 50S da bactéria e previne a ligação da porção de aminoácidos do aminoacil-tRNA, inibindo de forma efetiva a ação peptidiltransferase. Esse antibiótico é usado somente para certas infecções extremamente graves, como meningite e febre tifóide. O cloranfenicol facilmente entra na mitocôndria humana, onde inibe a síntese protéica. As células da medula óssea freqüentemente têm falhas no desenvolvimento em pacientes tratados com cloranfenicol, e o uso desse antibiótico tem sido associado a condições anormais do sangue fatais, incluindo a anemia aplásica.



Eritromicina. A eritromicina e outros antibióticos macrolídeos se ligam à subunidade ribossomal 50S da bactéria próximo ao sítio de ligação para o cloranfenicol. Eles previnem a etapa de translocação, o movimento do peptidil-tRNA do sítio "A" para o sítio "P" no ribossomo. Como os efeitos colaterais são menos graves e mais facilmente reversíveis do que aqueles de muitos outros antibióticos, os macrolídeos com freqüência são usados para tratar infecções em pessoas que são alérgicas à penicilina, um antibiótico que inibe a síntese da parede da célula bacteriana. No entanto, a resistência bacteriana à eritromicina está aumentando. Portanto, seu parente próximo, a claritromicina, é freqüentemente usado.

Leituras Sugeridas

Pestova TV, HeIlen CUT. Ribosome recruitment and scanning. TIBS 1999;24:85-87.

Lewin B. Genes VII. Protein synthesis. Translation: expressing genes as proteins. Oxford: Oxford University Press, 2000:139-166.

Tay-Sachs:

Gravel R, Clarke J, Kaback M, et al. The Gm2 gangliosidoses. In: Scriver C, Beaudet A. Sly W, Valle D (eds). The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th Ed. Vol III. New York: McGraw-Hill, 2001:3827-3876.

Talassemia:

Weatherall D, Clegg J, Higgs D, Wood W. The hemoglobinopathies. In: Scriver C. Beaudet A, Sly W, Valle D, eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th Ed. Vol III. New York: McGraw-Hill, 2001:4571-4636.

Antibióticos que inibem a síntese protéica:

Hardman JG, Limbird LE, et aI. Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics. New York: McGraw-Hill, 1996:1103-1153.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 15

1. Na leitura do código genético dos procariotos, qual dos seguintes processos atua antes dos outros?

   (A) Alinhamento do $tRNA_i$ com o mRNA
   (B) Terminação da transcrição
   (C) Movimento do ribossomo de um códon para o próximo
   (D) Recrutamento de fatores de terminação do sítio A
   (E) Exportação do mRNA do núcleo

2. O tRNA carregado com cisteína pode ser quimicamente tratado para que o aminoácido mude a sua identidade para alanina. Se algo desse tRNA carregado é adicionado a um meio

de síntese de proteína que contém TODOS os componentes normais necessários para a tradução, qual das seguintes afirmativas representa O RESULTADO MAIS PROVÁVEL após a adição de um mRNA que tem ambos os códons cys e ala na fita de leitura normal?

(A) A cisteína poderia ser adicionada cada vez que o códon alanina fosse traduzido.
(B) A alanina poderia ser adicionada cada vez que o códon cisteína fosse traduzido.
(C) A proteína poderia ter uma deficiência de resíduos cisteína.
(D) A proteína poderia ter uma deficiência de resíduos alanina.
(E) A proteína poderia ser inteiramente normal.

3. O código genético é denominado degenerado devido a qual das seguintes alternativas?

(A) Muitos códons têm pares de bases idênticos próximos um do outro.
(B) Algumas trincas são feitas de purinas ou pirimidinas repetidas.
(C) Muitos dos aminoácidos codificam mais de uma trinca.
(D) Existe uma mudança de posição na ligação entre a primeira base do anticódon e a terceira base do códon.
(E) Todas as trincas parecem ter ao menos um uracil.

4. Qual das seguintes alternativas é responsável por reter a proteína enzimática dissulfeto-isomerase no RE?

(A) Glicosilação
(B) A presença de uma seqüência KDEL no C-terminal
(C) Retenção do peptídeo sinalizador
(D) Fosforilação da Ser 22
(E) Adesão de um ácido graxo

5. Qual a razão para existirem 64 códons possíveis?

(A) Existem 64 aminoacil-tRNA-sintetases.
(B) Cada base é capaz de participar em pareamento vacilante.
(C) Todas as fitas de leitura possíveis podem ser usadas nesta via.
(D) Existem quatro bases possíveis para cada uma das três posições do códon.
(E) Com muitos códons, a síntese de proteína pode ser realizada mais rapidamente.

16 Regulação da Expressão Gênica



A bactéria procariótica *Escherichia coli* pode utilizar uma ampla variação de nutrientes diferentes para manter o crescimento. Ela consegue isso parcialmente ativando e desativando a expressão de genes necessários para a síntese de enzimas nas diferentes rotas metabólicas. Por exemplo, as enzimas codificadas pelo óperon *lac* permitem que a *E. coli* utilize lactose para energia, e a presença de lactose ativa a transcrição dos genes. Assim, o próprio nutriente está envolvido na regulação da expressão gênica.

Em contraste, as células dos humanos adultos estão expostas a um ambiente seguro e quase constante composto de sangue e líquido intersticial. Os hormônios mantêm esse ambiente quase constante, apesar das alterações na demanda e na disponibilidade de nutrientes, parcialmente pela regulação da transcrição gênica. O sistema imune protege as células contra organismos estranhos, parcialmente controlando a expressão de genes necessários para a resposta imune. Contudo, também ocorre alguma regulação da expressão gênica pelo nutriente. Por exemplo, o ferro controla a expressão de genes para seu armazenamento e as proteínas transportadoras em relação a seus mRNAs.

***A expressão gênica**, a produção de uma proteína ou produto de RNA a partir de um gene particular, é controlada por mecanismos complexos. Normalmente, apenas uma fração dos genes em uma célula é expressa a cada momento. A expressão gênica é regulada de forma diferente em procariotos e eucariotos.*

***Regulação da expressão gênica em procariotos**. Em **procariotos**, a expressão gênica é regulada principalmente pelo controle da **iniciação da transcrição gênica**. Os grupos de genes codificando proteínas com funções relacionadas são organizados em **óperons**, e cada óperon está sob o controle de um **único promotor** (ou região reguladora). As proteínas reguladoras chamadas de **repressores** ligam-se ao promotor e inibem a ligação da RNA-polimerase (**controle negativo**), enquanto as **proteínas ativadoras** facilitam a ligação da RNA-polimerase (**controle positiva**). Os repressores são controlados por nutrientes ou por seus metabólitos, classificados como **indutores** ou co-repressores. A regulação também pode ocorrer pela **atenuação da transcrição**.*

***Eucariotos: Regulação da expressão gênica em relação ao DNA**. Em eucariotos, a ativação de um gene necessita de alterações no estado da cromatina (**remodelamento de cromatina**) que são facilitadas pela **acetilação de histonas e metilação de bases**. Essas alterações no DNA determinam quais genes estão disponíveis para transcrição.*

***Regulação da transcrição gênica em eucariotos**. A transcrição de genes específicos é regulada por proteínas (chamadas de **fatores de transcrição específicos ou transativadores**) que se ligam a **seqüências reguladoras do gene** (chamadas de **elementos proximais ao promotor, ou reforçadores** [enhancers]) que ativam ou inibem a ligação do complexo basal de transcrição e da RNA-polimerase na TATA box. Esses fatores de transcrição específicos, os quais podem se ligar a seqüências de DNA um pouco distantes do promotor, interagem com co-ativadores ou co-repressores que se ligam a componentes do complexo basal de transcrição. É dito que fatores protéicos trabalham na posição "**trans**", e as seqüências de DNA às quais eles se ligam trabalham na posição "**cis**".*

***Outros sítios de regulação da expressão gênica em eucariotos**. A regulação também ocorre durante o **processamento** de RNA, durante o **transporte** do RNA do músculo para o citoplasma e em relação à **tradução** no citoplasma. A regulação pode ocorrer simultaneamente em múltiplos níveis para um único gene específico, e muitos fatores agem em conjunto para estimular ou inibir a expressão de um gene.*



SALA DE ESPERA



Arlyn Foma, um homem de 68 anos, queixou-se de cansaço, perda de apetite e febre de baixo grau. Uma biópsia de campo aberto de um linfonodo indicou a presença de linfoma não-Hodgkin do tipo folicular. Tomografia computadorizada e outros procedimentos não-invasivos mostraram um processo difuso com en-

volvimento da medula óssea. Ele estava recebendo poliquimioterapia com AV/CM (doxorrubicina [adriamicina], vincristina, ciclofosfamida e metotrexato). A doença não está respondendo bem a esse tratamento, e o linfoma folicular parece estar evoluindo para um processo mais agressivo. Como tem sido relatado que o interferon recombinante α-2b tem efeitos sinergísticos ou aditivos com esses agentes, ele foi adicionado ao protocolo. Embora a resistência ao metotrexato seja considerada, o fármaco é mantido como parte da abordagem terapêutica combinada.

Mannie Weitzels é um homem de 56 anos que se queixa de cefaléias, perda de peso relacionada com declínio de apetite e uma tolerância diminuída a exercício. Ele observa desconforto e sensação de plenitude no quadrante superior esquerdo do abdome. Ao exame físico, observa-se que ele está pálido e tem equimoses (hematomas) nos braços e nas pernas. O baço está marcadamente aumentado. Os exames de laboratório iniciais mostram uma hemoglobina de 10,4 g/dL (normal = 13,5 a 17,5 g/dL) e uma contagem de leucócitos (células sangüíneas brancas) de 86.000 células/mm^3 (normal = 4.500 a 11.000 células/mm^3). Os leucócitos em sua maioria são granulócitos (células sangüíneas brancas que se originam da linhagem mielóide), alguns dos quais têm uma aparência "imatura". A porcentagem de linfócitos no sangue periférico está diminuída. Uma aspiração de medula óssea e uma biópsia mostraram a presença de um cromossomo anormal (o cromossomo Filadélfia) em células em divisão da medula.

Ann O'Rexia, que tem anorexia nervosa, continuou com uma dieta quase livre de carne (ver Capítulos 1, 3, 9 e 11). Ela agora parece emagrecida e pálida. Sua hemoglobina é de 9,7 g/dL (normal = 12 a 16 g/dL), seu hematócrito (volume de células vermelhas) é de 31% (valores de referência para mulheres = 36 a 46%), e sua hemoglobina corpuscular média (a quantidade média de hemoglobina por células vermelhas) é de 21 pg/célula (valores de referência = 26 a 34 pg/célula). Esses valores indicam uma anemia que é microcítica (pequenas células vermelhas) e hipocrômica (descoradas, indicando uma quantidade reduzida por célula vermelha). Sua ferritina sérica (o armazenamento celular de ferro) também está subnormal. Seu nível plasmático de transferrina (a proteína de transporte de ferro no plasma) é maior do que o normal, mas sua porcentagem de saturação com ferro está abaixo do normal. Esse perfil laboratorial é consistente com alterações que ocorrem em um estado de deficiência de ferro.

Cada um dos fármacos utilizados por **Arlyn Foma** inibe a proliferação de células cancerosas de uma maneira diferente. A doxorrubicina (adriamicina) é uma molécula apolar grande sintetizada por fungos que se intercala entre as bases de DNA, inibindo a replicação e a transcrição e formando DNA com quebras em fita simples e dupla fita. A vincristina se liga à tubulina e inibe a formação do fuso mitótico, impedindo, assim, a divisão celular. A ciclofosfamida é um agente alquilante que lesa o DNA pela ligação covalente de um grupo alquil às bases do DNA. O metotrexato é um análogo da vitamina folato. Ele inibe as enzimas que necessitam de folato nas rotas para a síntese de timina e purinas, privando, assim, as células de precursores para a síntese de DNA.

I. EXPRESSÃO GÊNICA É REGULADA PARA ADAPTAÇÃO E DIFERENCIAÇÃO

Embora a maioria das células contenha grupos de genes idênticos, em algum dado momento apenas um pequeno número dos genes totais em cada célula é expresso (isto é, produz uma proteína ou produto de RNA). Os genes remanescentes são inativos. Os organismos ganham diversas vantagens pela regulação de seus genes. Por exemplo, as células procarióticas e eucarióticas se adaptam a alterações em seu ambiente ativando e desativando a expressão gênica. Como os processos de transcrição de RNA e síntese de proteínas consomem uma quantidade considerável de energia, as células conservam substrato energético sintetizando proteínas apenas quando são necessárias.

Além da regulação da expressão gênica para se adaptar às alterações ambientais, os organismos eucarióticos alteram a expressão de seus genes durante o desenvolvimento. Quando um ovo fertilizado se torna um organismo multicelular, proteínas de diferentes tipos são sintetizadas em quantidades variadas. Em humanos, à medida que a criança avança para a adolescência e, então, para a idade adulta, alterações físicas e fisiológicas resultam de variações na expressão gênica e, portanto, da síntese de proteínas. Mesmo após um organismo atingir o estado adulto, a regulação da expressão de genes permite que certas células sofram diferenciação para assumirem novas funções.

A *E. coli* é um anaeróbio facultativo, o que significa que ela pode crescer na presença ou na ausência de oxigênio. A mudança para rotas necessitando de oxigênio para o metabolismo de substrato energético está sob controle do gene *arc* (*aerobic respiration control gene*). Quando o *arc* é ativado, a transcrição é aumentada em 1.000 vezes ou mais para enzimas nas rotas que finalmente transferem elétrons para oxigênio (p. ex., as proteínas da cadeia respiratória, o ciclo do TCA e a oxidação de ácidos graxos). Na ausência de oxigênio (isto é, anaeróbico, sem ar), essas proteínas não são sintetizadas, uma característica poupadora de energia útil para o crescimento de bactérias no cólon muito anaeróbico. A maioria das células humanas, em contraste, expressa níveis constantes (constitutivos) de enzimas respiratórias e morrem sem oxigênio.

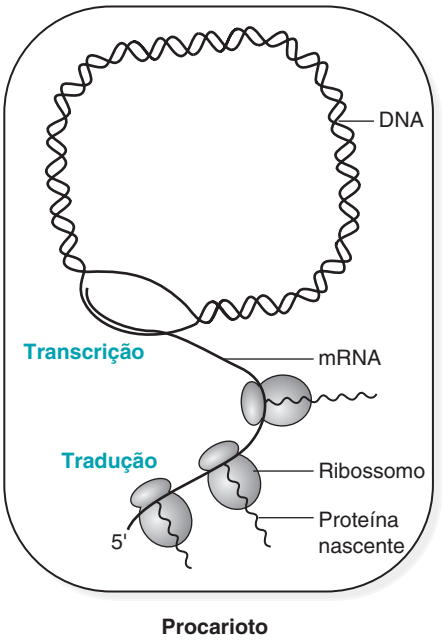


Figura 16.1 Célula de *E. coli*. Em procariotos, o DNA não é separado do resto dos conteúdos celulares por um envelope nuclear; portanto, ocorre transcrição e tradução simultâneas nas bactérias. Uma vez que um pequeno pedaço de mRNA é sintetizado, os ribossomos se ligam ao mRNA, e a tradução começa.

II. REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA EM PROCARIOTOS

Os procariotos são organismos unicelulares e, portanto, necessitam de mecanismos reguladores menos complexos do que os eucariotos multicelulares (Figura 16.1). O procarioto mais extensivamente estudado é a bactéria *Escherichia coli*, um organismo que prolifera no cólon humano, em geral desfrutando de uma relação simbiótica com seu hospedeiro. Com base no tamanho de seu genoma (4×10^6 pares de base), *E. coli* deveria ser capaz de fazer vários milhares de proteínas. Contudo, sob condições de crescimento normais, ela sintetiza apenas cerca de 600 a 800 proteínas diferentes. Obviamente, muitos genes são inativos, e apenas são expressos os genes que produzem as proteínas necessárias para o crescimento naquele ambiente em particular.

Todas as células de *E. coli* da mesma cepa são morfologicamente similares e contêm um cromossomo circular idêntico (ver Figura 16.1). Como em outros procariotos, o DNA não forma complexo com as histonas, nenhum envelope nuclear separa os genes de seus conteúdos no citoplasma, e os transcritos gênicos não contêm íntrons. De fato, quando o mRNA está sendo sintetizado, os ribossomos se ligam e começam a produzir proteínas, de tal modo que a transcrição e a tradução ocorrem simultaneamente. Os mRNAs na *E. coli* têm meias-vidas muito curtas e são degradados dentro de poucos minutos, de tal modo que um mRNA deve ser constantemente produzido a partir da transcrição para manter a síntese das proteínas. Assim, a regulação da transcrição, principalmente em termos de iniciação, é suficiente para regular o nível de proteínas dentro da célula.

A. Óperons

Os genes codificando proteínas são chamados de genes estruturais. No genoma bacteriano, os genes estruturais para as proteínas envolvidas na realização de uma função relacionada (como enzimas de uma rota de biossíntese) com freqüência são agrupados seqüencialmente em unidades chamadas de óperons (Figura 16.2). Os genes em um óperon são expressos coordenadamente; isto é, eles estão todos "ativados" ou "desativados". Quando um óperon é expresso, todos os seus genes são transcritos. Um único mRNA policistrônico é produzido, e ele codifica todas as proteínas do óperon. Esse mRNA policistrônico contêm múltiplos grupos de códons de iniciação e de terminação que permitem que um número diferente de proteínas seja produzido a partir desse transcrito único em termos de tradução. A transcrição de genes em um óperon é regulada por seu promotor, o qual está localizado no óperon na extremidade 5', a montante (*upstream*) dos genes estruturais.

B. Regulação da Ligação da RNA-Polimerase por Repressores

Em bactérias, a principal forma de regulação da transcrição gênica é por meio de repressores, os quais são proteínas reguladoras que impedem a ligação da RNA-polimerase ao promotor e, assim, agem na iniciação da transcrição (Figura 16.3). Em

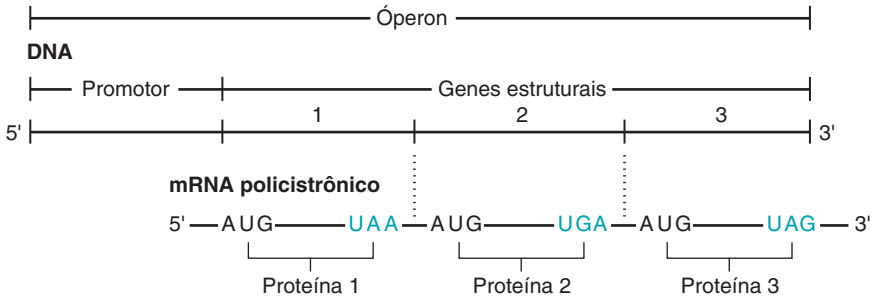


Figura 16.2 Um óperon. Os genes estruturais de um óperon são transcritos como um longo mRNA policistrônico. Durante a tradução, diferentes códons de iniciação (AUG) e de terminação (mostrados em azul) levam à produção de diversas proteínas distintas a partir desse único mRNA.

geral, os mecanismos reguladores como os repressores, que funcionam por meio da inibição da transcrição gênica, são referidos como controle negativo, e os mecanismos que funcionam por meio da estimulação da transcrição gênica são chamados de controle positivo.

O repressor é codificado por um gene regulador (ver Figura 16.3). Embora esse gene seja considerado parte do óperon, ele não está sempre localizado próximo ao restante do óperon. Seu produto, a proteína repressora, difunde-se para o promotor e se liga à região do óperon chamada de operador. O operador está localizado dentro do promotor ou próximo a sua extremidade 3', logo acima do ponto de início da transcrição. Quando um repressor está ligado ao operador, o óperon não é transcrito, pois o repressor bloqueia a ligação da RNA-polimerase ao promotor. Dois mecanismos reguladores funcionam por meio de repressores controladores: indução (um indutor inativa o repressor) e repressão (um co-repressor é necessário para ativar o repressor).

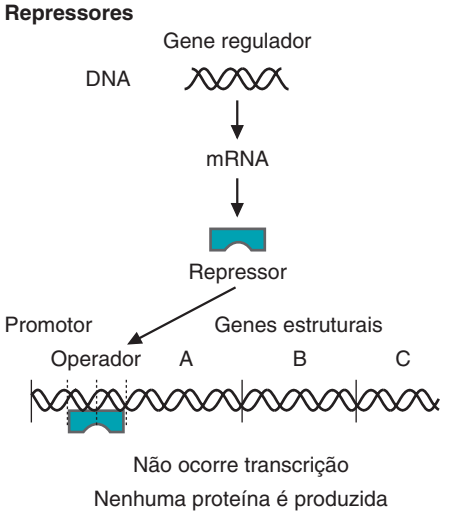


Figura 16.3 Regulação de óperons por repressores. Quando a proteína repressora está ligada ao operador, a RNA-polimerase não pode se ligar, e, portanto, a transcrição não ocorre.

1. INDUTORES

A indução envolve uma pequena molécula, conhecida como indutor, a qual estimula a expressão do óperon se ligando ao repressor e alterando sua conformação de tal modo que ele não pode mais se ligar ao operador (Figura 16.4). O indutor é um nutriente ou um metabólito do nutriente. Na presença do indutor, a RNA-polimerase pode, portanto, ligar-se ao promotor e transcrever o óperon. A chave para esse mecanismo é que, na ausência do indutor, o repressor está ativo, a transcrição está reprimida, e os genes do óperon não são expressos.

Considere, por exemplo, a indução do óperon *lac* da *E. coli* para lactose (Figura 16.5). As enzimas do metabolismo da glicose (glicólise) são produzidas de forma constitutiva, isto é, elas são constantemente formadas. Se o açúcar do leite, a lactose, está disponível, as células se adaptam para produzir as três enzimas adicionais que são necessárias para o metabolismo da lactose, as quais são codificadas pelo óperon *lac*. Um metabólito da lactose (alolactose) serve como indutor, ligando-se ao repressor e inativando-o. Como o repressor inativo não é mais capaz de se ligar ao operador, a RNA-polimerase pode se ligar ao promotor e transcrever os genes estruturais do óperon *lac*, produzindo um mRNA policistrônico que codifica as três proteínas adicionais. Contudo, a presença de glicose pode impedir a ativação do óperon *lac* (ver "Estimulação da ligação da RNA-polimerase", a seguir).

2. CO-REPRESSORES

Em um modelo regulador chamado de repressão, o repressor está inativo até que uma pequena molécula, chamada de co-repressor (um nutriente ou seu metabólito), liga-se ao repressor, ativando-o (Figura 16.6). O complexo repressor-co-repressor inibe, então, o operador, impedindo a ligação da RNA-polimerase e a transcrição gênica. Considere, por exemplo, o óperon *trp*, o qual codifica as cinco enzimas necessárias para a síntese do aminoácido triptofano. Quando a triptofano está disponível, as células de *E. coli* economizam energia não formando mais essas enzimas. O triptofano é um co-repressor que se liga ao repressor inativo, levando-o a mudar de conformação e a se ligar ao operador, inibindo, assim, a transcrição do óperon. Portanto, no modelo de repressão, o repressor está inativo sem um co-repressor; em um modelo de indução, o repressor está ativo a menos que um indutor esteja presente.

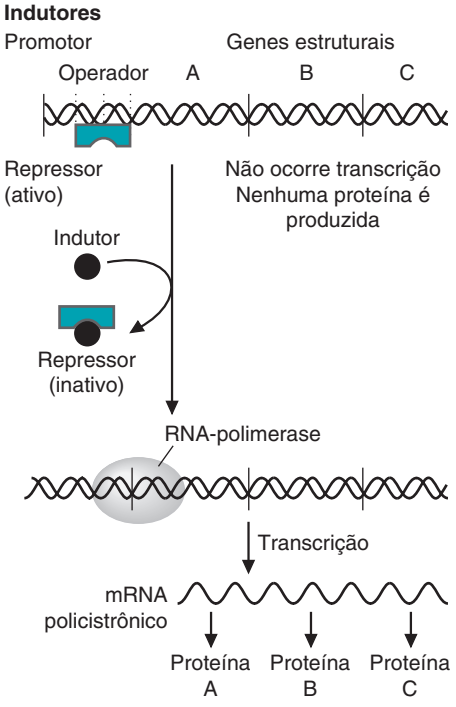


Figura 16.4 Um óperon induzível. Na ausência de um indutor, o repressor se liga ao operador, impedindo a ligação da RNA-polimerase. Quando o indutor está presente, ele se liga ao repressor, inativando-o. O repressor inativo não pode mais se ligar ao operador. Portanto, a RNA-polimerase pode se ligar à região promotora e transcrever os genes estruturais.

Se uma das enzimas do óperon *lac* induzidas pela lactose é a lactose-permease (a qual aumenta a entrada de lactose nas células), como a lactose entra inicialmente nas células para induzir essas enzimas? Uma pequena quantidade de permease existe mesmo na ausência de lactose, e umas poucas moléculas de lactose entram nas células e são metabolizadas a alolactose, a qual inicia o processo de indução do óperon. Quando a permease aumenta, mais lactose pode ser transportada para dentro da célula.

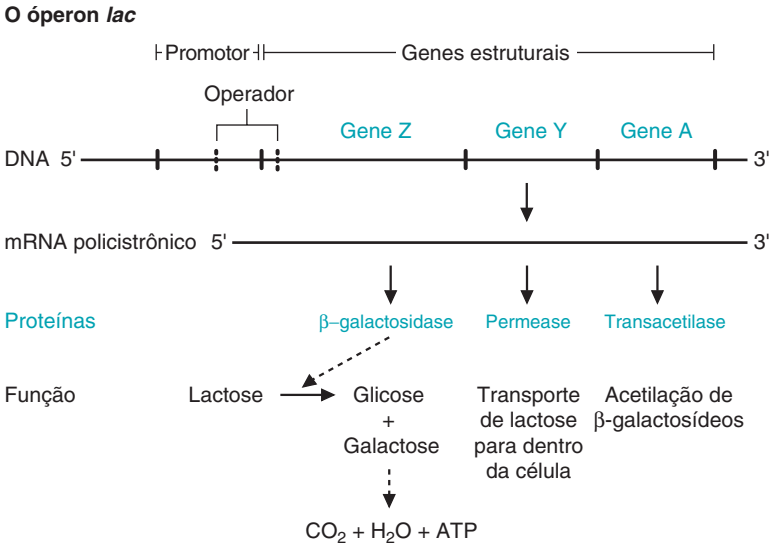


Figura 16.5 Os produtos protéicos do óperon *lac*. A lactose é um dissacarídeo que é hidrolisado a glicose e a galactose por β-galactosidase (o gene Z). Tanto a glicose quanto a galactose podem ser oxidadas pela célula para energia. A permease (gene Y) permite que a célula capte glicose mais rapidamente. O gene A produz uma transacetilase que acetila β-galactosídeos. A função dessa acetilação não é clara. O promotor se liga à RNA-polimerase, e o operador se liga a uma proteína repressora. A lactose é convertida a alolactose, um indutor que se liga à proteína repressora e impede que ela se ligue ao operador. A transcrição do óperon *lac* também necessita de proteínas ativadoras que são inativas quando os níveis de glicose estão altos.

C. Estimulação da Ligação da RNA-Polimerase

Além de regular a transcrição por meio de repressores que inibem a ligação da RNA-polimerase a promotores (controle negativo), as bactérias regulam a transcrição por meio da ativação de proteínas que se ligam ao promotor e estimulam a ligação da RNA-polimerase (controle positivo). A transcrição do óperon *lac*, por exemplo, pode ser induzida por alolactose apenas se a glicose está ausente. A presença ou ausência de glicose é comunicada ao promotor por uma proteína reguladora chamada de proteína receptora (CRP) de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) (Figura 16.7). Essa

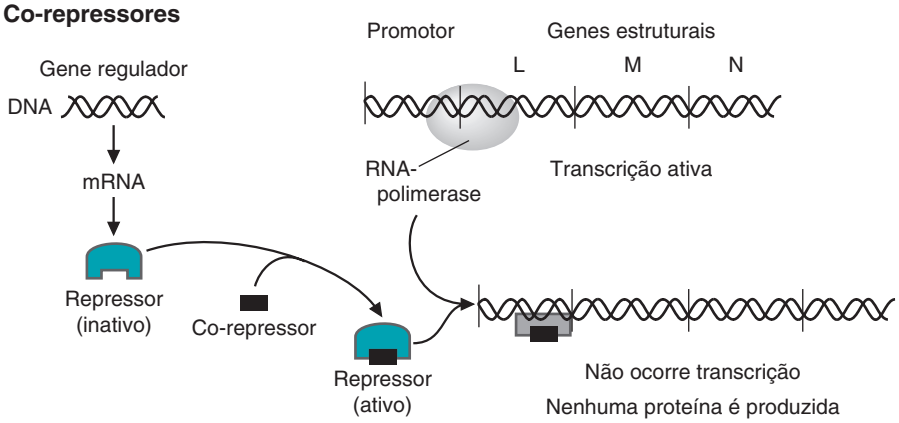


Figura 16.6 Um óperon que pode sofrer repressão. O repressor está inativo até que uma pequena molécula, o co-repressor, ligue-se a ele. O complexo repressor-co-repressor se liga ao operador e impede a transcrição.

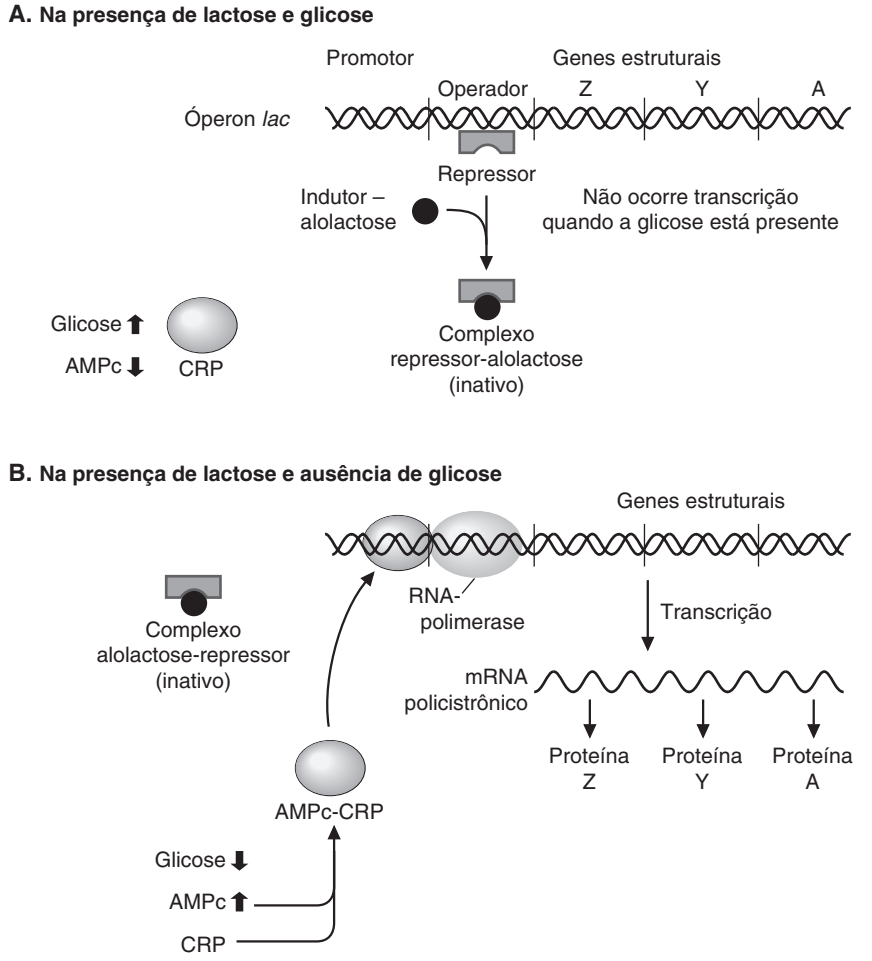


Figura 16.7 Repressão por catabólito de proteínas estimuladoras. O óperon *lac* é utilizado como um exemplo. **A.** O indutor alolactose (um metabólito da lactose) inativa o repressor. Contudo, devido à ausência do co-ativador necessário, AMPc-CRP, não ocorre transcrição a menos que a glicose esteja ausente. **B.** Na ausência de glicose, os níveis de AMPc se elevam. O AMPc forma um complexo com uma proteína receptora de AMPc (CRP). A ligação do complexo AMPc-CRP a uma região reguladora do óperon permite a ligação da RNA-polimerase ao promotor. Agora o óperon é transcrito, e as proteínas são produzidas.

proteína reguladora é também chamada de proteína ativadora de catabólito (do inglês *catabolite activator protein*, CAP). Uma diminuição nos níveis de glicose aumenta os níveis intracelulares do segundo mensageiro AMPc por um mecanismo que não é bem compreendido. O AMPc se liga à CRP, e o complexo AMPc-CRP se liga a uma região reguladora do óperon, estimulando a ligação da RNA-polimerase ao promotor e a transcrição. Quando a glicose está presente, os níveis de AMPc diminuem, a CRP assume uma conformação inativa que não se liga ao óperon, e a transcrição é inibida. Assim, as enzimas codificadas pelo óperon *lac* não são produzidas se as células têm um suprimento adequado de glicose, mesmo se a lactose estiver presente em altos níveis.

A regulação da expressão gênica por nutriente pode ocorrer pelo próprio nutriente, ou por um metabólito do nutriente sintetizado dentro da célula. Algumas vezes, o nutriente e o seu metabólito estão agrupados no mesmo termo "catabólito", como em "repressão por catabólito".

D. Regulação da Ligação da RNA-Polimerase por Fatores Sigma

A *E. coli* tem apenas uma RNA-polimerase. Os fatores sigma se ligam a essa RNA-polimerase, estimulando sua ligação a certos grupos de promotores, ativando, assim, simultaneamente a transcrição de vários óperons. O fator sigma padrão na *E. coli* é

σ^{70}, uma proteína com um peso molecular de 70.000 dáltons (ver Capítulo 14). Outros fatores sigma também existem. Por exemplo, σ^{32} auxilia a RNA-polimerase a reconhecer promotores para diferentes óperons que codificam as proteínas de choque térmico (*heat shock proteins*). Assim, a transcrição aumentada de genes para as proteínas de choque térmico, o que impede a desnaturação de proteínas em altas temperaturas, ocorre em resposta a temperaturas elevadas.

E. Atenuação da Transcrição

Alguns óperons são regulados por um processo que interrompe (atenua) a transcrição após ela ter sido iniciada (Figura 16.8). Por exemplo, os níveis altos de triptofano atenuam a transcrição do óperon *lac* da *E. coli*, bem como reprime sua transcrição. À medida que o mRNA está sendo transcrito a partir do óperon *trp*, os ribossomos se ligam e rapidamente começam a traduzir o transcrito. Próximo da extremidade 5' do transcrito, há um número de códons para triptofano. Inicialmente, níveis altos de triptofano na célula resultam em níveis altos de trp-$tRNA^{trp}$ e tradução rápida do transcrito. Contudo, a tradução rápida produz uma alça em grampo no mRNA que serve como sinal de término para a RNA-polimerase, e a transcrição termina. Inversamente, quando os níveis de triptofano estão baixos, os níveis de trp-$tRNA^{trp}$ estão baixos, e os ribossomos param em códons para triptofano. Uma alça em grampo diferente se forma no mRNA que não interrompe a transcrição, e o mRNA completo é transcrito.

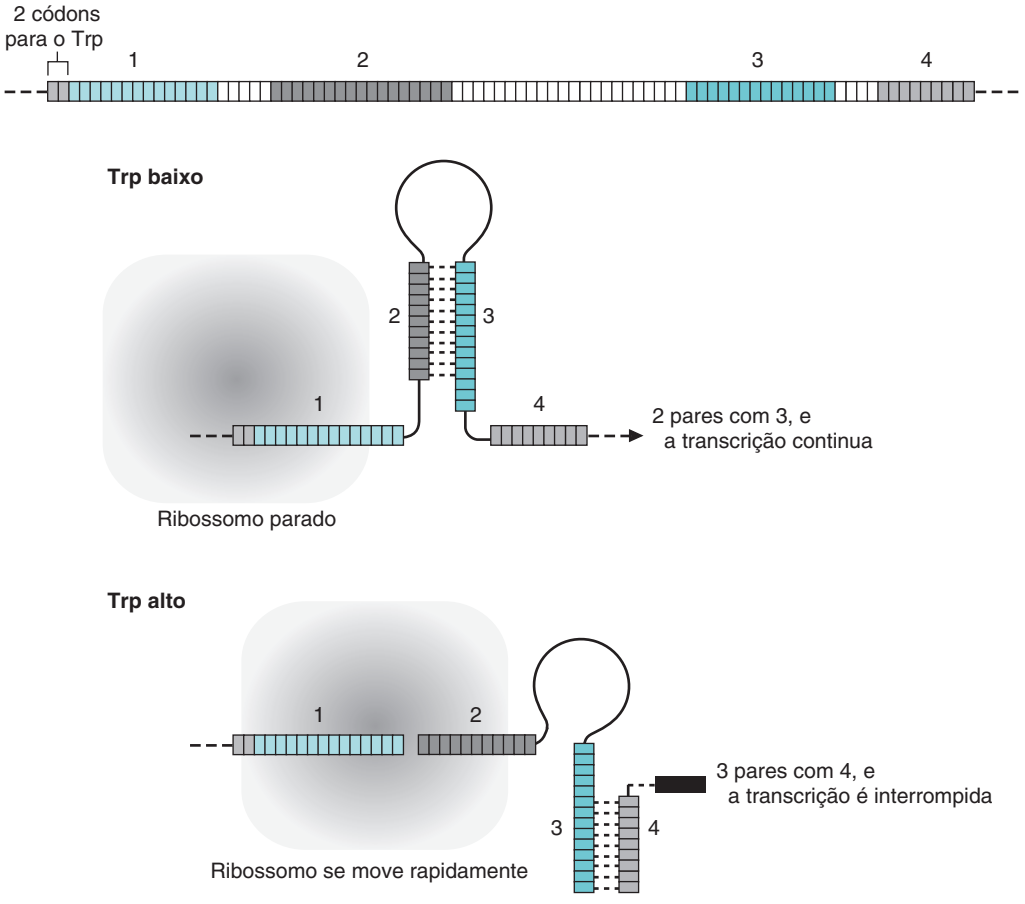


Figura 16.8 Atenuação do óperon *trp*. As seqüências 2, 3 e 4 no transcrito de mRNA podem formar pares de base (2 com 3 ou 3 com 4) que produzem alças em grampo. Quando os níveis de triptofano estão baixos, o ribossomo pára nos códons para o trp adjacentes na seqüência 1, a alça 2-3 se forma, e a transcrição continua. Quando os níveis de triptofano estão altos, a tradução é rápida, e o ribossomo bloqueia a formação da alça 2-3. Sob essas condições, a alça 3-4 se forma, e termina a transcrição.

Os óperons triptofano, histidina, leucina, fenilalanina e treonina são regulados por atenuação. Os repressores e os ativadores também agem sobre os promotores de alguns desses óperons, permitindo que os níveis desses aminoácidos sejam regulados de forma muito cuidadosa e rápida.

III. REGULAÇÃO DA SÍNTESE DE PROTEÍNAS EM EUCARIOTOS

Os eucariotos multicelulares são muito mais complexos do que os procariotos de uma única célula. À medida que o embrião humano se desenvolve em um organismo multicelular, grupos diferentes de genes são ativados, e grupos diferentes de proteínas são produzidos, resultando em diferenciação em tipos celulares morfologicamente distintos capazes de realizar funções diferentes. Mesmo além da idade reprodutiva, certas células dentro do organismo continuam a se diferenciar, tal como aquelas que produzem anticorpos em resposta a uma infecção, renovar a população de células sangüíneas vermelhas e substituir células digestivas que tenham sido descamadas para o lúmen intestinal. Todas essas alterações fisiológicas são ditadas por alterações complexas na expressão gênica.

A. Regulação da Expressão Gênica Eucariótica em Múltiplos Níveis

As diferenças entre as células eucarióticas e procarióticas resultam em mecanismos diferentes para a regulação da expressão gênica. O DNA eucariótico é organizado em nucleossomos de cromatina, e os genes devem estar em uma estrutura ativa para serem expressos em uma célula. Além disso, os óperons não estão presentes em eucariotos, e os genes codificando proteínas que funcionam juntas em geral estão localizados em cromossomos diferentes. Assim, cada gene necessita de seu próprio promotor. Além disso, os processos de transcrição e tradução são separados em eucariotos por compartimentalização intracelular (núcleo e citosol, ou retículo endoplasmático [RE]) e por tempo (o hnRNA de eucarioto deve ser processado e translocado para fora do núcleo antes de ser traduzido). Assim, a regulação da transcrição gênica eucariótica ocorre em múltiplos níveis:

- O DNA e o cromossomo, incluindo remodelamento cromossômico e rearranjo gênico.
- Transcrição, primariamente por meio de fatores de transcrição (TFs, do inglês *transcription factors*) afetando a ligação da RNA-polimerase.
- Processamento de transcritos.
- Iniciação da tradução e estabilidade do mRNA.

Uma vez que um gene é ativado pelo remodelamento da cromatina, o principal mecanismo de regulação da expressão afeta a iniciação da transcrição no promotor.

B. Regulação da Disponibilidade da Transcrição de Genes

Quando um espermatozóide e um óvulo haplóides se combinam para formar uma célula diplóide, o número de genes nas células humanas permanece aproximadamente o mesmo. À medida que as células se diferenciam, os genes são disponibilizados para a transcrição. Um núcleo típico contém cromatina que está condensada (heterocromatina) e cromatina que está difusa (eucromatina) (Figura 16.9) (ver Capítulo 12). Os genes na heterocromatina estão inativos, enquanto aqueles na eucromatina produzem mRNA. As alterações a longo prazo na atividade de genes ocorrem durante o desenvolvimento à medida que a cromatina passa de um estado difuso para condensado ou vice-versa.

O genoma celular é empacotado junto com histonas nos nucleossomos, e a iniciação da transcrição é impedida se a região promotora é parte de um nucleossomo. Assim, a ativação de um gene para a transcrição necessita de alterações no estado da cromatina, chamadas de remodelamento da cromatina. A disponibilidade de genes para a transcrição



As cadeias de globina da hemoglobina fornecem um exemplo de proteínas funcionalmente relacionadas que estão em cromossomos diferentes. O gene para a cadeia globina α está no cromossomo 16, enquanto o gene para a cadeia globina β está no cromossomo 11. Como conseqüência dessa separação espacial, cada gene deve ter seu próprio promotor. Essa situação é diferente daquela da bactéria, na qual os genes codificando as proteínas que funcionam juntas com freqüência são arranjados seqüencialmente em óperons controlados por um único promotor.

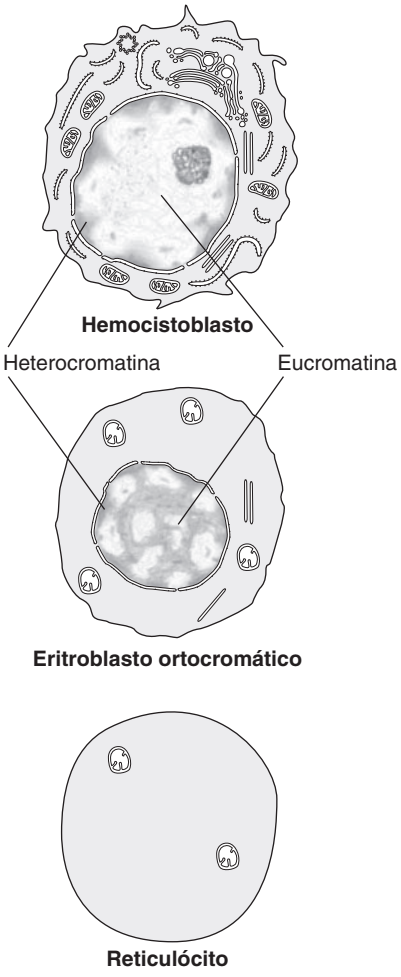


Figura 16.9 Inativação de genes durante o desenvolvimento de células sangüíneas vermelhas. A cromatina difusa (eucromatina) está ativa na síntese de RNA. A cromatina condensada (heterocromatina) está inativa. À medida que os precursores de células sangüíneas vermelhas amadurecem, sua cromatina se torna mais condensada. Finalmente, o núcleo é expelido.

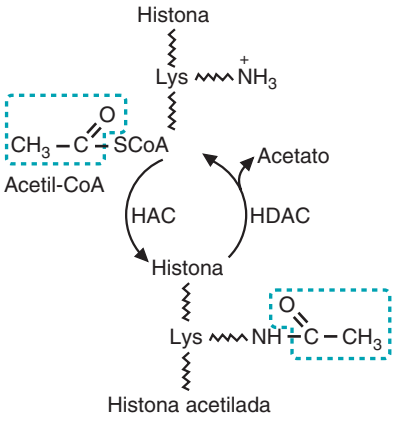


Figura 16.10 Acetilação de histona. Abreviações: HAC, histona-acetilase; HDAC, histona-desacetilase.

também pode ser afetada em certas células, ou sob certas circunstâncias, por rearranjos, amplificação ou deleção de genes. Por exemplo, durante o amadurecimento de leucócitos, os genes são rearranjados para produzir uma variedade de anticorpos diferentes.

1. REMODELAMENTO DA CROMATINA

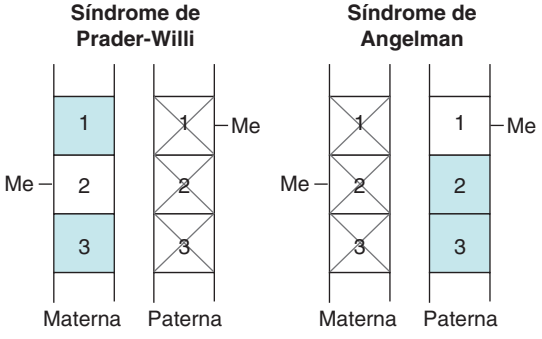
O remodelamento da cromatina em geral se refere ao deslocamento do nucleossomo de seqüências de DNA específicas de tal modo que a transcrição dos genes naquela seqüência pode ser iniciada. Isso ocorre por meio de dois mecanismos diferentes. O primeiro mecanismo é por um complexo de remodelamento da cromatina dirigido por trifosfato de adenosina (ATP), o qual utiliza energia da hidrólise de ATP para desenrolar certas seções de DNA do centro do nucleossomo. O segundo mecanismo é por modificação covalente da cauda de histona por meio de acetilação (Figura 16.10). As histona-acetiltransferases (HAT) transferem um grupo acetila da acetil-CoA para os resíduos de lisina na cauda (as extremidades aminoterminais das histonas H2A, H2B, H3 e H4). Essa reação remove uma carga positiva do grupo ε-amino da lisina, reduzindo, assim, as interações eletrostáticas entre as histonas e o DNA negativamente carregado, tornando o DNA mais fácil de se desenrolar das histonas. Os grupos acetila podem ser removidos por histona-desacetilases (HDAC). Cada histona tem diversos resíduos de lisina que podem ser acetilados, e, por meio de uma mistura complexa de sítios acetilados e não-acetilados, diferentes segmentos de DNA podem ser liberados do nucleossomo. Vários fatores de transcrição e co-ativadores também contêm atividade de histona-acetilase, a qual facilita a ligação desses fatores ao DNA e a ativação simultânea do gene e a iniciação de sua transcrição.

2. METILAÇÃO DO DNA

Os resíduos de citosina no DNA podem ser metilados para produzir 5-metilcitosina. As citosinas metiladas estão localizadas nas seqüências ricas em GC (chamadas de ilhas GC), as quais com freqüência estão próximas ou na região promotora de um gene. Em certas situações, os genes que estão metilados são transcritos menos rapidamente do que aqueles que não estão metilados. Por exemplo, os genes da globina são mais extensivamente metilados em células não-eritróides (células que não são parte das linhagens eritróides, ou células sangüíneas vermelhas) do que nas células nas quais esses genes estão expressos (como os eritroblastos e os eritrócitos). A metilação é um mecanismo de regulação da expressão gênica durante a diferenciação, particularmente no desenvolvimento fetal.



A metilação foi relacionada com *imprinting* (marcação sexual) genômico, um processo que ocorre durante a formação do óvulo e do espermatozóide que bloqueia a expressão do gene no ovo fertilizado. Os machos metilam um grupo de genes diferente do das fêmeas. Essa metilação diferencial dependente de sexo foi mais extensivamente estudada em dois distúrbios humanos, síndrome de Prader-Willi e síndrome de Angelman. Ambas as síndromes, as quais têm sintomas muito diferentes, resultam de deleções da mesma região do cromossomo 15 (uma microdeleção de menos de 5 megabases de tamanho). Se a deleção é herdada do pai, a síndrome de Prader-Willi é vista na criança; se a deleção é herdada da mãe, a síndrome de Angelman é observada. Uma doença ocorre quando um gene que está em uma região deletada de um cromossomo está metilado no outro cromossomo. Por exemplo, se os genes 1, 2 e 3 estão deletados no cromossomo paterno na síndrome de Prader-Willi, e o gene 2 está metilado no cromossomo materno, apenas os genes 1 e 3 estarão expressos. Se na síndrome de Angelman os genes 1, 2 e 3 estão deletados no cromossomo materno, e o gene 1 está metilado no cromossomo paterno, apenas os genes 2 e 3 serão expressos.



3. REARRANJOS GÊNICOS

Os segmentos de DNA podem se mover de uma localização para outra no genoma, associando-se uns com os outros de várias maneiras, de tal modo que diferentes proteínas são produzidas (Figura 16.11). O exemplo de rearranjo de gene mais minuciosamente estudado ocorre em células que produzem anticorpos. Os anticorpos contêm duas cadeias leves e duas cadeias pesadas, cada uma das quais contém uma região variável e uma região constante (ver Capítulo 7, Seção V.B, Figura 7.19). As células chamadas de células B produzem anticorpos. Nos precursores de células B, centenas de seqüências V_H, aproximadamente 20 seqüências D_H e cerca de 6 seqüências J_H estão localizadas em agrupamentos dentro de uma região longa do cromossomo. Durante a produção de células B imaturas, uma série de eventos recombinantes ocorre ligando uma seqüência V_H, uma D_H e uma J_H em um único éxon. Isso agora codifica a região variável da cadeia pesada do anticorpo. Dado o grande número de células B imaturas que são produzidas, ocorrem praticamente todas as possibilidades de recombinação, de tal modo que todas as combinações VDJ estão representadas dentro dessa população de células. Mais tarde no desenvolvimento, durante a diferenciação de células B maduras, os eventos de recombinação unem uma seqüência VDJ a um dos nove elementos da cadeia pesada. Quando o sistema imune encontra um antígeno, a célula B imatura que pode se ligar ao antígeno (devido à sua maneira única de formar o éxon VDJ) é estimulada a proliferar (expansão clonal) e a produzir anticorpos contra o antígeno.

Embora os rearranjos de seqüências curtas de DNA sejam difíceis de detectar, os microscopistas observaram grandes rearranjos durante muitos anos. Tais rearranjos, conhecidos como translocações, podem ser observados ao microscópio em cromossomos durante a metáfase.

Mannie Weitzels tem uma dessas translocações, conhecida como cromossomo Filadélfia, pois foi observada pela primeira vez nessa cidade. O cromossomo Filadélfia é produzido por uma troca balanceada entre os cromossomos 9 e 22.

4. AMPLIFICAÇÃO GÊNICA

A amplificação gênica não é a maneira fisiológica usual de regulação da expressão gênica em células normais, mas ocorre em resposta a certos estímulos se a célula pode obter uma vantagem de crescimento pela produção de grandes quantidades de uma proteína. Na amplificação gênica, certas regiões de um cromossomo sofrem ciclos repetidos de replicação de DNA. O DNA recém-sintetizado é excisado e forma pequenos cromossomos instáveis chamados de "duplos mínimos". Os "duplos mínimos" se integram a outros cromossomos através do genoma, amplificando, assim, o gene no processo. Normalmente, a amplificação gênica ocorre por meio de erros durante a replicação de DNA e a divisão celular, e, se as condições do ambiente estão corretas, as células contendo genes amplificados podem ter uma vantagem de crescimento sobre aquelas sem amplificação.

Arlyn Foma foi tratado com uma combinação de fármacos que inclui metotrexato, um fármaco que inibe a proliferação celular por inibição da diidrofolato-redutase. A diidrofolato-redutase reduz o diidrofolato a tetraidrofolato, um co-fator necessário para a síntese de nucleotídeos timina e purina. Como Arlyn Foma não respondeu bem, foi considerada a possibilidade de ele ter se tornado resistente ao metotrexato. Algumas vezes, as células cancerosas que se dividem rapidamente tratadas com metotrexato amplificam o gene para a diidrofolato-redutase, produzindo centenas de cópias no genoma. Essas células produzem grandes quantidades de diidrofolato-redutase, e doses normais de metotrexato não são mais adequadas. A amplificação gênica é um dos mecanismos pelos quais os pacientes se tornam resistentes a um fármaco.

Na síndrome do X frágil, uma seqüência GCC está amplificada no lado 5′ de um gene (FMR-1) associado a essa doença. Esse gene está localizado no cromossomo X. Nessa doença, com ausência de ácido fólico (o qual diminui a produção de nucleotídeo e, portanto, a replicação de DNA), o cromossomo X desenvolve quebras de fita simples ou dupla fita em seu DNA. Esses foram chamados de sítios frágeis. Foi determinado subseqüentemente que o gene FMR-1 estava localizado em um desses sítios. Uma pessoa normal tem cerca de 30 cópias da trinca GCC, mas, em indivíduos afetados, milhares de cópias podem estar presentes. Essa síndrome, a qual é uma forma comum de retardo mental hereditário, afeta 1 em 1.250 homens e 1 em 2.000 mulheres.

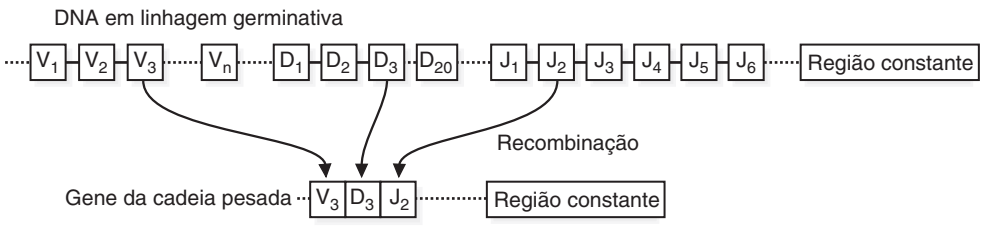


Figura 16.11 Rearranjo de DNA. O gene da cadeia pesada a partir do qual os linfócitos geram imunoglobulinas é produzido pela combinação de segmentos específicos a partir de um grande número de seqüências potenciais no DNA de células precursoras. As regiões variáveis e constantes das imunoglobulinas (anticorpos) são descritas no Capítulo 7.

5. DELEÇÕES GÊNICAS

Com poucas exceções, a deleção de material gênico não é uma maneira normal de controlar a transcrição, embora as deleções resultem em doença. As deleções gênicas podem ocorrer por meio de erros na replicação do DNA e na divisão celular e em geral são apenas percebidas se resultam em uma doença. Por exemplo, vários tipos de câncer resultam da perda de uma cópia boa de um gene supressor de tumor, deixando a célula com a cópia mutada do gene (ver Capítulo 18).

C. Regulação do Nível de Transcrição

A transcrição de genes ativos é regulada por controle da montagem do complexo de transcrição basal contendo RNA-polimerase e sua ligação à TATA *box* do promotor (ver Capítulo 14). O complexo de transcrição basal contém a proteína de ligação da TATA (TBP, do inglês *TATA binding protein*, um componente do TFIID) e outras proteínas chamadas de fatores de transcrição geral (basal) (como TFIIA, etc.) que formam um complexo com a RNA-polimerase II. Os fatores de transcrição adicionais que são ubíquos a todos os promotores se ligam com vários sítios posteriores à região promotora. Eles aumentam a freqüência da transcrição e são necessários para um promotor funcionar em um nível adequado. Os genes que são regulados apenas por esses elementos de consenso na região promotora são ditos serem expressos de forma constitutiva.

A região de controle de um gene também contém as seqüências reguladoras de DNA que são específicas para o gene e podem aumentar sua transcrição 1.000 vezes ou mais (Figura 16.12). Os fatores de transcrição de gene específicos (também chamados de transativadores ou ativadores) se ligam a essas seqüências reguladoras e interagem com uma proteína mediadora, como um co-ativador. Pela formação de uma alça no DNA, os co-ativadores interagem com o complexo de transcrição basal e podem ativar sua montagem no sítio de iniciação do promotor. Essas seqüências reguladoras de DNA podem estar distantes do promotor e podem estar antes ou depois do sítio de iniciação.

1. PROTEÍNAS REGULADORAS DE GENES ESPECÍFICOS

As proteínas reguladoras que se ligam diretamente a seqüências de DNA são chamadas com muita freqüência de fatores de transcrição ou fatores de transcrição de genes específicos (se é necessário distingui-los dos fatores de transcrição do complexo de transcrição basal). Eles também são chamados de ativadores (ou transativadores), indutores, repressores ou receptores nucleares. Além de seu domínio de ligação de DNA, essas proteínas em geral têm um domínio que se liga a proteínas mediadoras (co-ativadores, co-repressores ou fatores associados à proteína de ligação de TATA, TAF). Os co-ativadores, os co-repressores e as outras proteínas mediadoras não se ligam diretamente ao DNA, mas geralmente se ligam a componentes do complexo de transcrição basal e medeiam sua montagem no promotor. Eles podem ser específicos para um dado fator de transcrição ou geral e se ligam a diferentes fatores de transcrição de genes específicos. Certos co-ativadores têm atividade de histona-acetilase, e certos co-repressores têm atividade de desacetilase. Quando as interações apropriadas entre os transativadores, os co-ativadores e o complexo de transcrição basal ocorrem, a velocidade de transcrição do gene é aumentada (indução).

Algumas proteínas de ligação de DNA reguladoras inibem (reprimem) a transcrição e podem ser chamadas de repressores. A repressão pode ocorrer de diversas maneiras. Um repressor ligado à sua seqüência específica de DNA pode inibir a ligação de um ativador à sua seqüência reguladora. Alternativamente, o repressor pode se ligar a um co-repressor que inibe a ligação de um co-ativator ao complexo de transcrição basal. O repressor pode se ligar diretamente a um componente do complexo de transcrição basal. Alguns receptores de hormônios esteróides que são fatores de transcrição se ligam a co-ativadores ou co-repressores, dependendo se o receptor contém hormônio ligado. Além disso, um fator de transcrição pode induzir a transcrição quando ligado à seqüência reguladora de um gene e pode reprimir a transcrição quando ligado à seqüência reguladora de outro gene.



A terminologia utilizada para descrever os componentes da regulação específica de genes varia um pouco, dependendo do sistema. Por exemplo, na terminologia original, as seqüências reguladoras de DNA, chamadas de reforçadores, ligam-se a transativadores, os quais ligam co-ativadores. Similarmente, os silenciadores se ligam a co-repressores. Os hormônios se ligam a receptores hormonais, os quais se ligam a elementos responsivos a hormônio no DNA. Embora esses termos ainda sejam utilizados, com freqüência são substituídos por termos mais gerais, como "seqüências reguladoras de DNA" e "fatores de transcrição específicos", em reconhecimento ao fato de que muitos fatores de transcrição ativam um gene enquanto inibem outro ou que um fator de transcrição específico pode ser modificado de repressor para ativador por fosforilação.



A atividade de histona-acetilase foi associada a vários fatores de transcrição e co-ativadores. As proteínas ACTR (ativador do receptor da tireóide e do ácido retinóico, do inglês *activator of the thyroid and retinoic acid receptor*) e SRC-1 (co-ativador do receptor de esteróide, do inglês *steroid receptor co-activator*) estão envolvidas na ativação da transcrição por vários receptores nucleares ligados a ligantes, e ambas contêm atividade de histona-acetilase. O TAF250, um componente do TFIID, também contém atividade de histona-acetilase, como o co-ativador p300/CBP (proteína de ligação CREB), o qual interage com o fator de transcrição CREB.

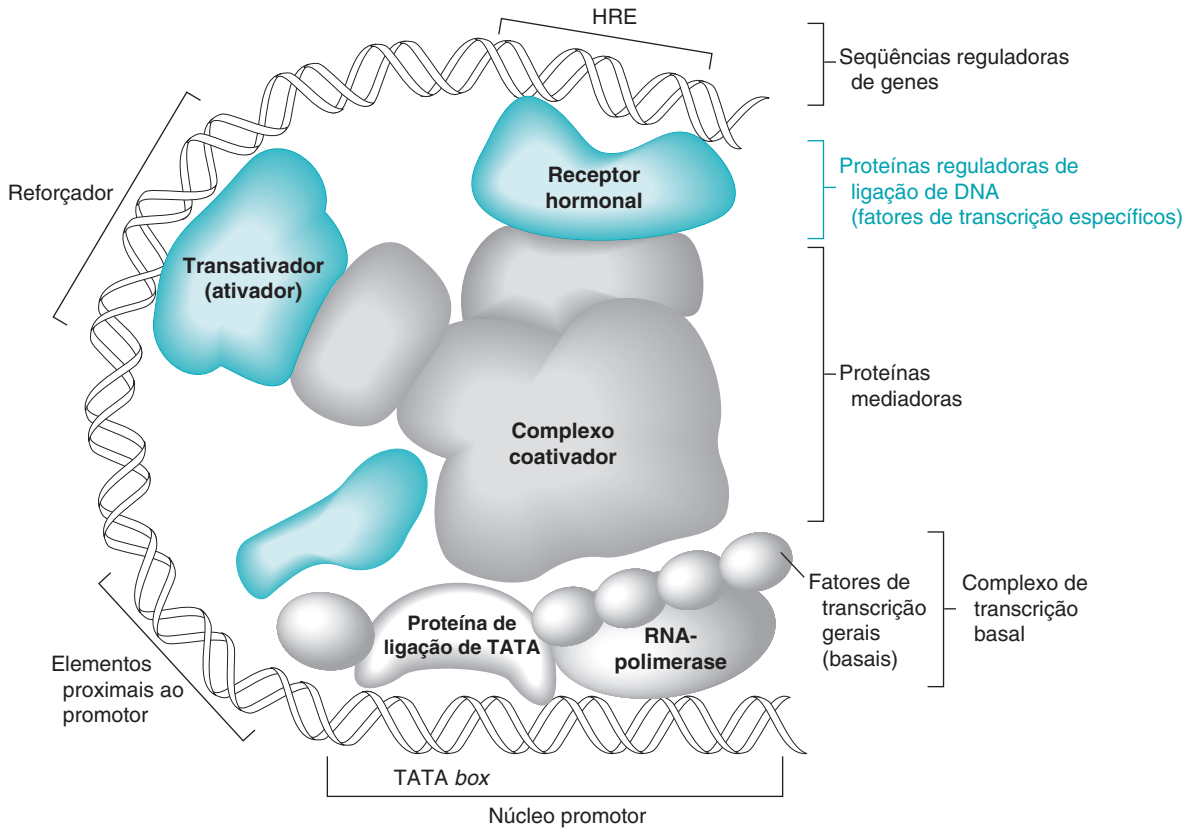


Figura 16.12 A região de controle reguladora de genes consiste na região promotora e em seqüências reguladoras de genes adicionais, incluindo reforçadores e elementos responsivos a hormônios (mostrados em azul). As proteínas reguladoras de genes que se ligam diretamente ao DNA (proteínas reguladoras de ligação de DNA) em geral são chamadas de fatores de transcrição específicos ou transativadores; podem ser ativadores ou repressores da transcrição de genes específicos. Os fatores de transcrição de genes específicos se ligam a proteínas mediadoras (coativadores ou correpressores) que interagem com os fatores de transcrição geral do complexo de transcrição basal. O complexo de transcrição basal contém RNA-polimerase e fatores de transcrição geral associados (fatores TFII) e se liga a TATA *box* do promotor, iniciando a transcrição gênica.

2. FATORES DE TRANSCRIÇÃO QUE SÃO RECEPTORES DE HORMÔNIO ESTERÓIDE/HORMÔNIO TIREÓIDEO

Nos humanos, os hormônios esteróides e outros hormônios lipofílicos ativam ou inibem a transcrição de genes específicos por meio da ligação a receptores nucleares que são fatores de transcrição de genes específicos (Figura 16. 13A). Os receptores nucleares se ligam a seqüências de DNA reguladoras chamadas de elementos responsivos a hormônios e induzem ou reprimem a transcrição de genes-alvo. O receptor contém um domínio de ligação de hormônio (ligante), um domínio de ligação de DNA e um domínio de dimerização, que permite que duas moléculas de receptores se liguem uma com a outra, formando homodímeros ou heterodímeros característicos. Um domínio de transativação se liga a proteínas coativadoras que interagem com o complexo de transição basal. Os receptores também contêm um domínio sinalizador de localização nuclear que os direciona para o núcleo em vários momentos após eles terem sido sintetizados.

Diversos membros da família de receptores de hormônio esteróide/hormônio tireóideo funcionam de maneiras diferentes. O receptor de glicocorticóide, ao qual se liga o hormônio esteróide cortisol, localiza-se principalmente no citosol ligado a proteínas de choque térmico. Quando o cortisol se liga, o receptor se dissocia das proteínas de choque térmico, expondo o sinal de localização nuclear (ver Figura 16.13B). Os receptores formam homodímeros que são translocados para o núcleo, onde se ligam a elementos responsivos a hormônios (elementos responsivos a glicocorticóide, GRE [do inglês, *glucocorticoid response elements*]) na região de controle do DNA de certos genes. Os domínios de transativação dos dímeros de receptores se ligam a proteínas mediadoras, ativando, assim, a transcrição de genes específicos e inibindo a transcrição de outros.

Em uma condição conhecida como feminilização testicular, os pacientes produzem androgênios (os esteróides sexuais masculinos), mas as células-alvo falham em responder a esses hormônios esteróides, pois elas não têm receptores de fatores de transcrição intracelulares apropriados. Portanto, a transcrição dos genes responsáveis pela masculinização não é ativada. Um paciente com essa condição tem um cariótipo XY (masculino) (par de cromossomos), mas se parece com uma mulher. A genitália externa não se desenvolve, mas os testículos estão presentes, em geral na região inguinal.

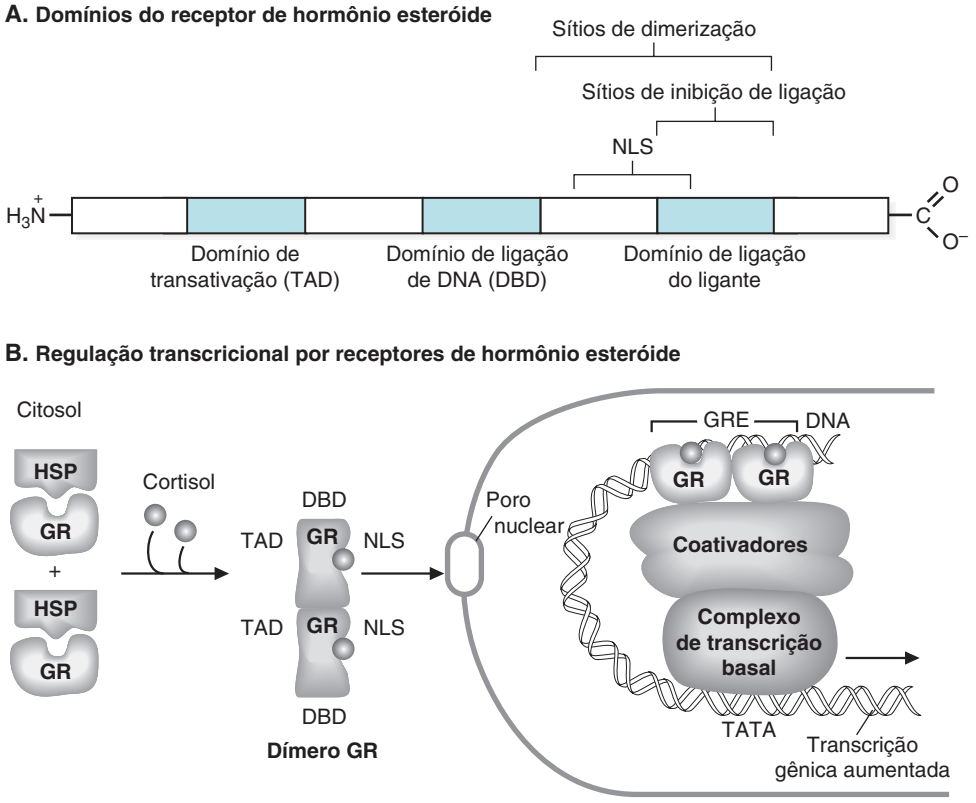


Figura 16.13 Receptores de hormônio esteróide. **A.** Domínios do receptor de hormônio esteróide. O domínio de transaminação (TAD) se liga a coativadores; o domínio de ligação de DNA (DBD) se liga a elemento responsivo de hormônio no DNA; o domínio de ligação de ligante (LBD) se liga a hormônio; NLS é o sinal de localização nuclear; os sítios de dimerização são porções da proteína envolvida na formação de um dímero. O sítio de ligação do inibidor se liga a proteínas de choque térmico e mascara o sinal de localização nuclear. **B.** Regulação transcricional por receptores de hormônio esteróide. Abreviações adicionais: HSP, proteínas de choque térmico; GRE, elemento responsivo a glicocorticóide; GIZ, receptor glicocorticóide.

Outros membros da família de hormônio esteróide/hormônio tireóideo são também fatores de transativação de genes específicos, mas em geral formam heterodímeros que se ligam de forma constitutiva a uma seqüência reguladora de DNA na ausência de seus ligantes hormonais e reprimem a transcrição gênica (Figura 16.14). Por exemplo, o receptor de hormônio tireóideo forma um heterodímero com o receptor retinóide X (RXR, do inglês, *retinoid X receptor*) que se liga a elementos responsivos a hormônio e co-repressores (incluindo um com atividade de desacetilase), inibindo, assim, a expressão de certos genes. Quando o hormônio tireóideo se liga, o dímero de receptor altera sua conformação, e o domínio de transativação se liga a coativadores, iniciando, assim, a transcrição dos genes.

O receptor RXR, o qual se liga ao ácido retinóico 9-cis retinóide, pode formar heterodímeros com pelo menos oito outros receptores nucleares. Cada heterodímero tem uma especificidade de ligação ao DNA diferente. Isso permite que o RXR participe na regulação de uma ampla variedade de genes e regule a expressão gênica diferentemente, dependendo da disponibilidade de outros receptores ativos.

3. ESTRUTURA DE PROTEÍNAS DE LIGAÇÃO DE DNA

Diversos motivos estruturais exclusivos têm sido caracterizados para fatores de transcrição específicos. Cada uma dessas proteínas tem um sítio de reconhecimento distinto (domínio de ligação de DNA) que se liga a bases de uma seqüência específica de nucleotídeo no DNA. Quatro dos motivos estruturais mais bem caracterizados são dedos de zinco, proteínas b-zip (incluindo fechos de leucina), hélice-volta-hélice e hélice-alça-hélice.

Para regular a transcrição gênica, dois receptores de estrógeno se combinam para formar um dímero que se liga a um palíndromo na região promotora de certos genes (ver Figuras 16.12 e 16.13). Um palíndromo é uma seqüência de bases que é idêntica na fita paralela quando lida na direção oposta. Por exemplo, a seqüência de pares de base ATCGCGAT forma a seqüência TAGCGCTA, a qual, quando lida na direção oposta, é ATCGCGAG. Cada receptor de estrógeno tem aproximadamente 73 aminoácidos de comprimento e contém dois dedos de zinco. Cada zinco está quelado com duas cisteínas em uma hélice α e duas cisteínas em uma região de folhas β. A posição da seqüência de reconhecimento de nucleotídeo em uma hélice α mantém a seqüência em uma conformação relativamente rígida quando ela se encaixa no sulco maior do DNA. O dedo de zinco que fica mais próximo da extremidade carboxil está envolvido na dimerização com o segundo receptor de estrógeno, invertendo, assim, a seqüência de reconhecimento de nucleotídeos para corresponder à outra metade do palíndromo. A necessidade de dímero-palíndromo aumenta bastante a especificidade de ligação, e, conseqüentemente, apenas certos genes são afetados.

Os motivos de dedos de zinco (comumente encontrados em domínios de ligação de DNA dos receptores de hormônio esteróide) contêm um zinco ligado quelado em quatro posições com histidina ou cisteína em uma seqüência de cerca de 20 aminoácidos (Figura 16.15). O resultado é um domínio relativamente pequeno, estreito, autonomamente dobrado. O zinco é necessário para manter a estrutura desse domínio. Os fatores de transcrição eucarióticos em geral têm 2 a 6 motivos de dedos de zinco que funcionam de forma independente. Pelo menos um dos dedos de zinco forma uma hélice α contendo um sinal de reconhecimento de nucleotídeo, uma seqüência de aminoácidos que especificamente se encaixa no sulco maior de DNA (Figura 16.16A).

Os fechos de leucina também funcionam como dímeros para regular a transcrição gênica (ver Figura 16.16B). O motivo de fecho de leucina é uma hélice α de 30 a 40 resíduos de aminoácidos que contém uma leucina a cada sete aminoácidos, posicionados de tal maneira que se alinham no mesmo lado da hélice. Duas hélices se dimerizam de tal modo que as leucinas de uma hélice se alinham com a outra hélice por meio de inte-

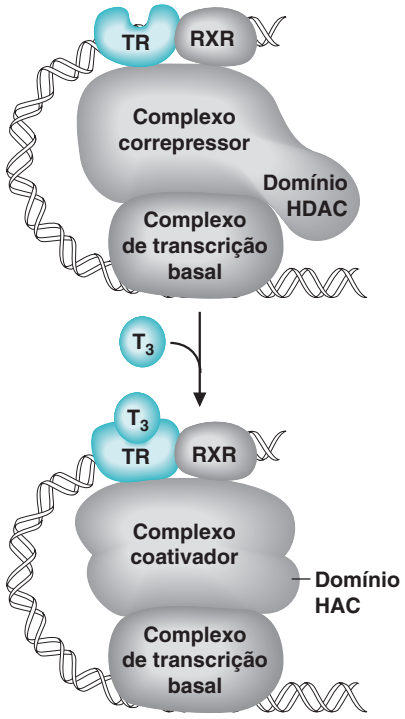


Figura 16.14 Atividade do dímero de receptor de hormônio tireóideo-receptor retinóide (TR-RXR) na presença e na ausência de hormônio tireóideo (T_3). HAC, histona acetilase; HDAC, histona-desacetilase.

Uma ampla variedade de fatores de transcrição contém motivos de dedo de zinco, incluindo os receptores de hormônio esteróide, como o receptor de estrógeno e glicocorticóide. Outros fatores de transcrição que contêm motivos de dedo de zinco incluem Sp1 e o fator de transcrição da polimerase III TFIIIA (parte do complexo de transcrição basal), o qual tem nove motivos de dedo de zinco.

Os fatores de transcrição de fecho de leucina funcionam como homodímeros ou heterodímeros. Por exemplo, AP1 é um heterodímero cujas subunidades são codificadas pelos genes *fos* e *jun*.

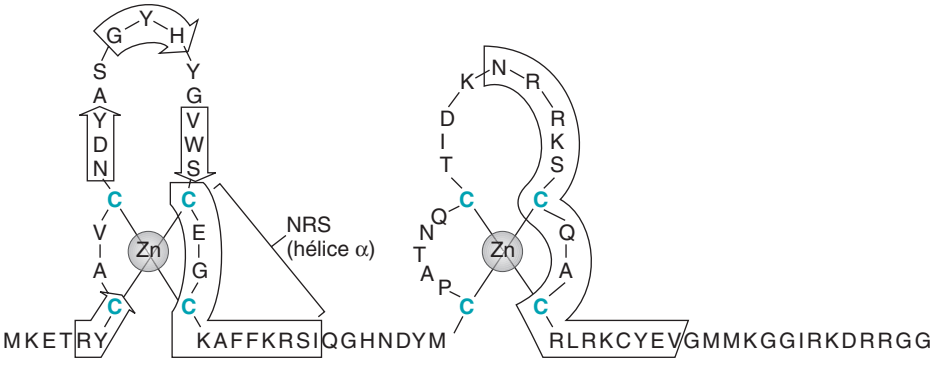


Figura 16.15 Dedos de zinco do receptor de estrógeno. Em cada um dos dois dedos de zinco, um íon zinco está coordenado com quatro resíduos de cisteína, mostrado em azul. A região marcada com uma hélice α com NRS forma uma hélice α que contém um sinal de reconhecimento de nucleotídeo (NRS). Esse sinal consiste em uma seqüência de resíduos de aminoácidos que se liga a uma seqüência específica no sulco maior do DNA. As regiões dentro das setas participam de hélices rígidas.

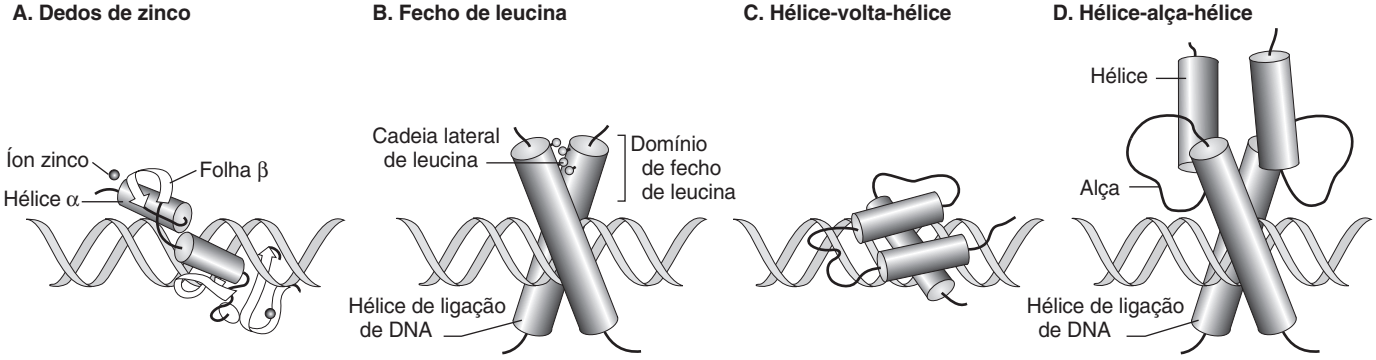


Figura 16.16 Interação de proteínas de ligação de DNA com DNA. (A) Os motivos de dedo de zinco consistem em uma hélice α e uma folha β na qual 4 resíduos de cisteína e/ou histidina se ligam de forma coordenada a um íon zinco. O sinal de reconhecimento de nucleotídeo (contido dentro da hélice α) de pelo menos um dedo de zinco se liga a uma seqüência específica de bases no sulco maior do DNA. (B) Os motivos de fecho de leucina formam duas cadeias polipeptídicas distintas. Cada polipeptídeo contém uma região de hélice na qual resíduos de leucina estão expostos em um lado. Essas leucinas formam interações hidrofóbicas umas com as outras, causando dimerização. O remanescente das hélices interage com o DNA. (C) As regiões hélice-volta-hélice contêm três (ou algumas vezes quatro) regiões de hélice, uma das quais se liga ao DNA, enquanto as outras se localizam no topo e estabilizam a interação. (D) As regiões hélice-alça-hélice contêm regiões de hélice que se ligam ao DNA como fechos de leucina. Contudo, seus domínios de dimerização consistem em duas hélices, cada uma das quais está conectada à sua hélice de ligação de DNA por uma alça.

O motivo hélice-volta-hélice é encontrado em proteínas de homeodomínios (proteínas que têm um papel crucial na regulação da expressão gênica durante o desenvolvimento).

Muitos dos fatores de transcrição contendo o motivo hélice-alça-hélice estão envolvidos em diferenciação celular (como miogenina no músculo esquelético, neurogenina na neurogênese e SCL/tal-1 na hematopoiese, o desenvolvimento de células sangüíneas).

rações para formar uma estrutura espiralada torcida. As porções do dímero adjacentes ao fecho "fixam" o DNA por resíduos de aminoácidos básicos (arginina e lisina) que se ligam aos grupamentos fosfato negativamente carregados. Essa porção de ligação de DNA da molécula também contém um sinal de reconhecimento de nucleotídeo.

No motivo hélice-volta-hélice, uma hélice se encaixa no sulco maior do DNA, fazendo a maioria dos contatos de ligação do DNA (ver Figura 16.16C). Ele é ligado a um segmento contendo duas hélices adicionais que se localizam através da hélice de ligação de DNA em ângulos certos. Assim, uma estrutura muito estável é obtida sem dimerização.

Os fatores de transcrição hélice-alça-hélice são um quarto tipo estrutural de proteína de ligação de DNA (ver Figura 16.16D). Eles também funcionam como dímeros que se encaixam em torno do DNA e o fixam de uma maneira geometricamente similar a proteínas-fecho de leucina. A região de dimerização consiste em uma porção da hélice de fixação de DNA e uma alça com a outra hélice. Como os fechos de leucina, os fatores hélice-alça-hélice podem funcionar como hetero ou homodímeros. Esses fatores também contêm regiões de aminoácidos básicos próximo à extremidade amino e também são chamados de proteínas básicas hélice-alça-hélice (bHLH, do inglês *basic helix-loop-helix*).

4. REGULAÇÃO DE FATORES DE TRANSCRIÇÃO

A atividade de fatores de transcrição de genes específicos é regulada de diversas maneiras diferentes. Como os fatores de transcrição necessitam interagir com uma variedade de coativadores para estimular a transcrição, a disponibilidade de coativadores ou outras proteínas mediadoras é crucial para a função de fator de transcrição. Se uma célula ativa ou inibe sua síntese de coativadores, a velocidade da transcrição também pode estar aumentada ou diminuída. A atividade de fator de transcrição pode ser modulada por alterações na quantidade de fator de transcrição sintetizado (ver Seção III. C. 5, "Reguladores múltiplos de promotores"), pela ligação de um ligante estimulador ou inibitório (como ligação de hormônios esteróides a receptores de hormônio esteróide) e pela estimulação da entrada no núcleo (ilustrado pelo receptor de glicocorticóide). A habilidade de um fator de transcrição de influenciar a transcrição de um gene é também aumentada ou antagonizada pela presença de outros fatores de transcrição. Por exemplo, o receptor do hormônio tireóideo é criticamente dependente da concentração do receptor retinóide para fornecer um par para o dímero. Outro exemplo é fornecido pelo gene da fosfoenolpiruvato (PEP) carboxilase, o qual é induzido ou reprimido por

uma variedade de fatores de transcrição ativados por hormônios (ver III. C. 5). Com freqüência, a atividade de fator de transcrição é regulada por meio de fosforilação.

Fatores de crescimento, citoquinas, hormônios polipeptídeos e várias outras moléculas sinalizadoras regulam a transcrição gênica por meio de fosforilação de fatores de transcrição específicos por quinases de receptores.

Por exemplo, proteínas STAT são fatores de transcrição fosforilados por receptores JAK-STAT, e proteínas SMAD são fatores de transcrição fosforilados por receptores serina-treonina-quinase, como o receptor do fator de crescimento de transformação β (TGF-β, do inglês *transforming growth factor*-β) (ver Capítulo 11).

As quinases de proteínas não-receptoras, como a proteína-quinase A, também regulam os fatores de transcrição por meio de fosforilação. Muitos hormônios produzem o segundo mensageiro AMPc, o qual ativa a proteína-quinase A. A proteína-quinase A ativada entra no núcleo e fosforila o fator de transcrição CREB (proteína de ligação de elementos responsivos a AMPc, do inglês c*AMP response element binding protein*). A CREB está ligada de forma constitutiva ao elemento responsivo a DNA CRE (elemento responsivo a AMPc, do inglês c*AMP response element*) e é ativada por fosforilação. Outras rotas sinalizadoras de hormônios, como a rota da MAP-quinase, também fosforilam a CREB (bem como muitos outros fatores de transcrição).

5. REGULADORES MÚLTIPLOS DE PROMOTORES

O mesmo indutor de fator de transcrição pode ativar a transcrição de muitos genes diferentes se cada um dos genes contém um elemento responsivo comum. Além disso, um único indutor pode ativar grupos de genes de uma maneira ordenadamente programada (Figura 16.17). O indutor inicialmente ativa um grupo de genes. Um dos

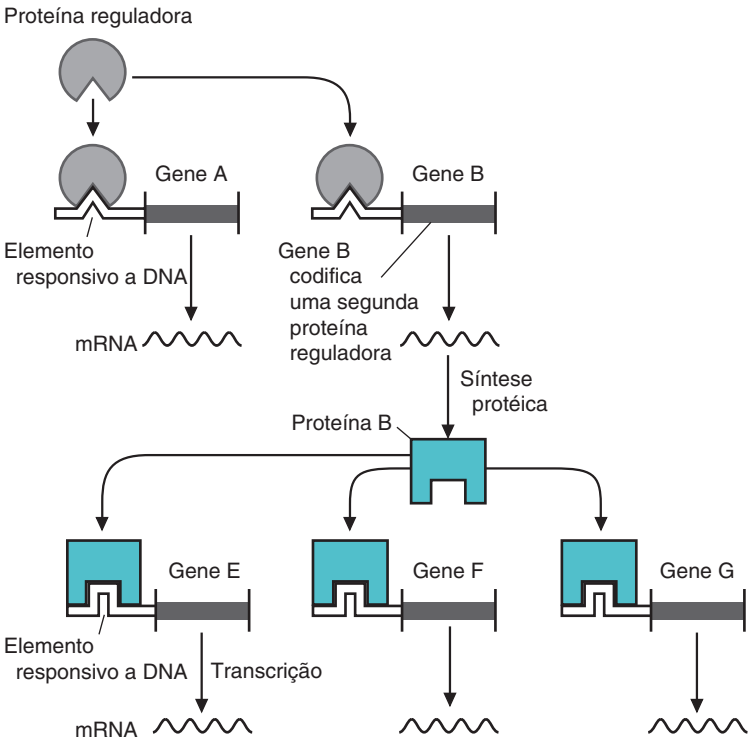


Figura 16.17 Ativação de grupos de genes por um único indutor. Cada gene em um grupo tem um elemento regulador comum. No exemplo mostrado, a primeira proteína reguladora estimula a transcrição dos genes A e B, os quais têm uma seqüência reguladora de DNA comum em suas regiões-controle. O produto protéico do gene B é um ativador transcricional, que por sua vez estimula a transcrição dos genes E, F e G, os quais da mesma forma contêm elementos responsivos comuns.

Os interferons, citoquinas produzidas por células que foram infectadas por vírus, ligam-se à família de receptores da superfície celular JAK-STAT. Quando um interferon se liga, JAK (uma tirosina-quinase associada a receptor) fosforila fatores de transcrição STAT ligados a receptores (ver Capítulo 11). As proteínas STAT fosforiladas são liberadas, dimerizam, entram no núcleo e se ligam a seqüências específicas de gene. As combinações diferentes de proteínas STAT fosforiladas se ligam a seqüências diferentes e ativam a transcrição de grupos diferentes de genes. Um dos genes ativados pelo interferon produz o oligonucleotídeo 2′-5′-oligo(A), que é um ativador de uma ribonuclease. Essa RNase degrada mRNA, inibindo, assim, a síntese de proteínas virais necessárias para a sua replicação.

Além de efeitos antivirais, os interferons têm efeitos antitumor. Os mecanismos dos efeitos antitumor não são bem compreendidos, mas é provável que estejam relacionados à estimulação da expressão de gene específico por proteínas STAT. O interferon α, produzido por tecnologia de DNA recombinante, tem sido utilizado para tratar pacientes, como **Arlyn Foma**, que têm certos tipos de linfomas nodulares, e pacientes, como **Mannie Weitzels**, que têm leucemia mielóide crônica.

Um exemplo de cascata transcricional de ativação gênica é observado durante a diferenciação de adipócitos (célula adiposa). As células semelhantes a fibroblastos podem ser induzidas para formar adipócitos pela adição de dexametasona (um hormônio esteróide) e insulina às células. Esses fatores induzem a expressão transitória de dois fatores de transcrição similares chamados de C/EPBβ e C/EPBγ. Os nomes são de proteína de ligação de reforçador CCAAT, e β e γ são duas formas desses fatores que reconhecem a seqüência CCAAT no DNA. Os fatores de transcrição C/EPB induzem, então, a síntese de outro fator de transcrição, chamado de receptor ativado de proliferação de peroxissomo γ (PPARγ), o qual forma heterodímeros com RXR para regular a expressão de mais dois fatores de transcrição, C/EPB α e STAT5. A combinação de PPARγ, STAT5 e C/EPBα, então, leva à expressão de genes específicos de adipócitos.

A enzima PEP-carboxiquinase (PEPCK) é necessária para o fígado produzir glicose a partir de aminoácidos e lactato. **Ann O'Rexia**, que tinha um distúrbio de alimentação, necessita manter um certo nível de glicose sangüínea para manter seu cérebro funcionando normalmente. Quando os níveis de glicose sangüínea caem, cortisol (um glicocorticóide) e glucagon (um hormônio polipeptídico) são liberados. No fígado, o glucagon aumenta os níveis intracelulares de AMPc, resultando na ativação de proteína-quinase A e fosforilação subseqüente de CREB. A CREB fosforilada se liga ao seu elemento responsivo no DNA, como faz o receptor de cortisol. Ambos os fatores de transcrição aumentam a transcrição do gene da PEPCK (ver Figura 16.17). A insulina, que é liberada quando os níveis de glicose sangüínea se elevam após uma refeição, pode inibir a expressão desse gene.

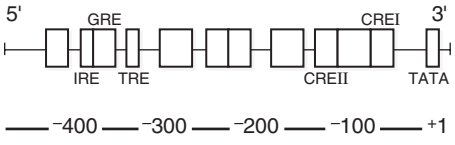


Figura 16.18 Uma visão simplificada da região reguladora do gene da PEPCK. As caixas representam vários elementos responsivos na região da extremidade 5′ do gene. Nem todos os elementos estão marcados. As proteínas reguladoras se ligam a esses elementos do DNA e estimulam ou inibem a transcrição do gene. Esse gene codifica a enzima fosfoenolpiruvato-carboxiquinase (PEPCK), que catalisa uma reação da gliconeogênese (a rota para a produção de glicose) no fígado. A síntese da enzima é estimulada por glucagon (por um processo mediado por AMPc), por glicocorticóides e por hormônio tireóideo. A síntese de PEPCK é inibida por insulina. CRE = elemento responsivo a AMPc; TRE = elemento responsivo a hormônio tireóideo; GRE = elemento responsivo a glicocorticóide; IRE = elemento responsivo a insulina.

produtos protéicos desse grupo pode, então, agir como um fator de transcrição específico para outro grupo de genes. Se esse processo é repetido, o resultado total é que um indutor pode desencadear uma série de eventos que resultam na ativação de muitos grupos diferentes de genes.

Um gene individual contém muitos elementos responsivos e reforçadores diferentes, e os genes que codificam produtos protéicos contêm combinações diferentes de elementos responsivos e reforçadores. Assim, cada gene não têm uma proteína única, exclusiva, que regula sua transcrição, mas sim, à medida que proteínas diferentes são estimuladas a se ligarem a seus elementos responsivos e reforçadores específicos em um dado gene, elas agem em cooperação para regular a expressão do gene (Figura 16.18). De maneira geral, um número relativamente pequeno de elementos responsivos e reforçadores e um número relativamente pequeno de proteínas reguladoras produzem uma ampla variedade de respostas de genes diferentes.

D. Processamento Pós-Transcricional de RNA

Após a transcrição do gene (ou seja, pós-transcrição), a regulação pode ocorrer durante o processamento do transcrito do RNA (hnRNA) em mRNA maduro. O uso de sítios de *splice* alternativos ou sítios para adição de cauda poli(A) (sítios de poliadenilação) pode resultar na produção de mRNAs diferentes a partir de um único hnRNA e, conseqüentemente, na produção de proteínas diferentes a partir de um único gene.

1. SÍTIOS DE *SPLICING* ALTERNATIVOS E DE POLIADENILAÇÃO

O processamento do transcrito primário envolve a adição de uma capa na extremidade 5', a remoção de íntrons e a poliadenilação (a adição de uma cauda poli[A] na extremidade 3') para produzir o mRNA maduro (ver Capítulo 14). Em certas situações, o uso de sítios de clivagem e união (*splicing*) alternativos e de poliadenilação faz com que diferentes proteínas sejam produzidas a partir do mesmo gene (Figura 16.19). Por exemplo, os genes que codificam para os anticorpos são regulados por alterações nos sítios de *splicing* e de poliadenilação, além de sofrerem rearranjo de genes (Figura 16.20). Em um estágio inicial de maturação, os pré-linfócitos B produzem anticorpos IgM que são ligados à membrana celular. Mais tarde, uma proteína mais curta (IgD) que não se liga à membrana celular é produzida, sendo secretada pela célula.

2. EDIÇÃO DE RNA

Em algumas situações, o RNA é "editado" após a transcrição. Embora a seqüência do gene e o transcrito primário (hnRNA) sejam iguais, as bases são alteradas ou os nucleotídeos são adicionados ou deletados após o transcrito ser sintetizado, de tal maneira que o mRNA difere em tecidos diferentes (Figura 16.21).

E. Regulação do Nível de Tradução e a Estabilidade do mRNA

1. INICIAÇÃO DA TRADUÇÃO

Em eucariotos, a regulação da transcrição gênica no nível da tradução em geral envolve a iniciação de síntese de proteínas por eIFs (fatores de iniciação de eucariotos, do inglês *eukaryotic initiation factors*), os quais são regulados por meio de mecanismos envolvendo fosforilação (ver Capítulo 15, Seção V.B). Por exemplo, o heme regula a tradução de mRNA para globina em reticulócitos pelo controle da fosforilação de eIF2 (Figura 16.22). Em reticulócitos (precursores de células sangüíneas vermelhas), a globina é produzida quando os níveis de heme na célula estão muito altos, mas não quando estão muito baixos. Como os reticulócitos não têm núcleo, a síntese de globina deve ser regulada no nível da tradução mais do que da transcrição. O heme age impedindo a fosforilação de eIF2 por uma quinase específica (heme-quinase) que está inativa quando o heme está ligado. Assim, quando os níveis de heme estão altos, o eIF2 não é fos-

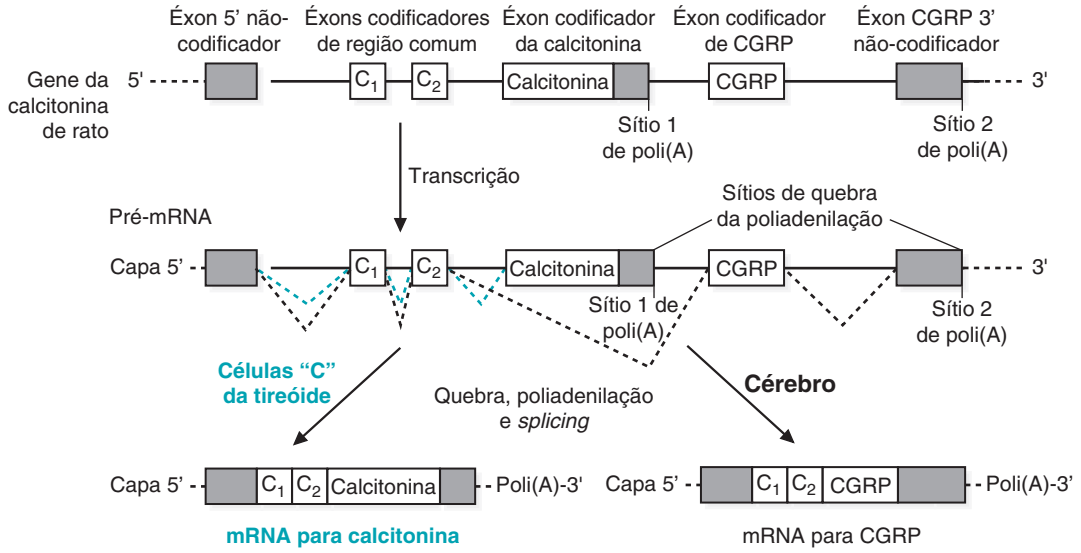


Figura 16.19 Clivagem e união (s*plicing*) alternativa do gene da calcitonina produzem um mRNA para calcitonina nas células da tireóide e um mRNA para CGRP em neurônios. Nas células da tireóide, o pré-mRNA do gene da calcitonina é processado para formar um mRNA que codifica para calcitonina. A quebra ocorre no sítio 1 de poli(A), e o *splicing* ocorre ao longo das linhas tracejadas azuis. No cérebro, o pré-mRNA desse gene sofre *splicing* alternativo e poliadenilação para produzir a proteína relacionada ao gene da calcitonina (*calcitonin gene-related protein*, CGRP). A quebra ocorre no sítio 2 de poli(A), e o *splicing* ocorre ao longo das linhas tracejadas pretas. A CGRP está envolvida no sentido da gustação.

forilado e está ativo, resultando na síntese de globina. Similarmente, em outras células, condições como fome, choque térmico ou infecções virais podem resultar em ativação de uma quinase específica que fosforila o eIF2 em uma forma inativa. Outro exemplo é fornecido pela insulina, a qual estimula a síntese geral de proteínas pela ativação de um inibidor de eIF4E, chamado de 4E-BP. Quando 4E-BP está fosforilado, dissocia-se, deixando eIF4E na forma ativa.

Um mecanismo diferente para a regulação da tradução é ilustrado pela regulação da síntese de ferritina pelo ferro (Figura 16.23). A ferritina, a proteína envolvida no armazenamento de ferro dentro das células, é sintetizada quando os níveis de ferro se elevam. O mRNA para a ferritina tem um elemento responsivo ao ferro (IRE, do inglês *iron response element*), consistindo em uma alça em grampo próxima à sua extremidade 5', a qual pode ligar uma proteína reguladora chamada de proteína de ligação de elemento responsivo ao ferro (IRE-BP, do inglês *iron response element binding protein*). Quando a IRE-BP não contém ferro ligado, ela se liga ao IRE e impede a iniciação da tradução. Quando os níveis de ferro se elevam, e a IRE-BP se liga ao ferro, ela se altera para uma conformação que não pode mais se ligar ao IRE no mRNA da ferritina. Portanto, o mRNA é traduzido, e a ferritina é produzida.

F. Transporte e Estabilidade do mRNA

A estabilidade de um mRNA também tem um papel na regulação da expressão gênica, pois os mRNA com meias-vidas longas podem produzir uma quantidade de proteína maior do que aqueles com meias-vidas mais curtas. O mRNA de eucarioto é relativamente estável (com meias-vidas medidas em horas a dias), embora possa ser degradado por nucleases no núcleo ou no citoplasma antes de ser traduzido. Para impedir a degradação durante o transporte do núcleo para o citoplasma, o mRNA é ligado a proteínas que auxiliam a impedir sua degradação. As seqüências na extremidade 3' do mRNA parecem estar envolvidas na determinação da meia-vida e das proteínas de ligação que impedem a degradação. Uma delas é a cauda poli(A), que protege o mRNA do ataque de nucleases. Quando o mRNA envelhece, sua cauda poli(A) se torna mais curta.



Além de estimular a degradação de mRNA, o interferon também faz com que o eIF2 se torne fosforilado e inativo. Esse é um segundo mecanismo pelo qual o interferon impede a síntese de proteínas virais.

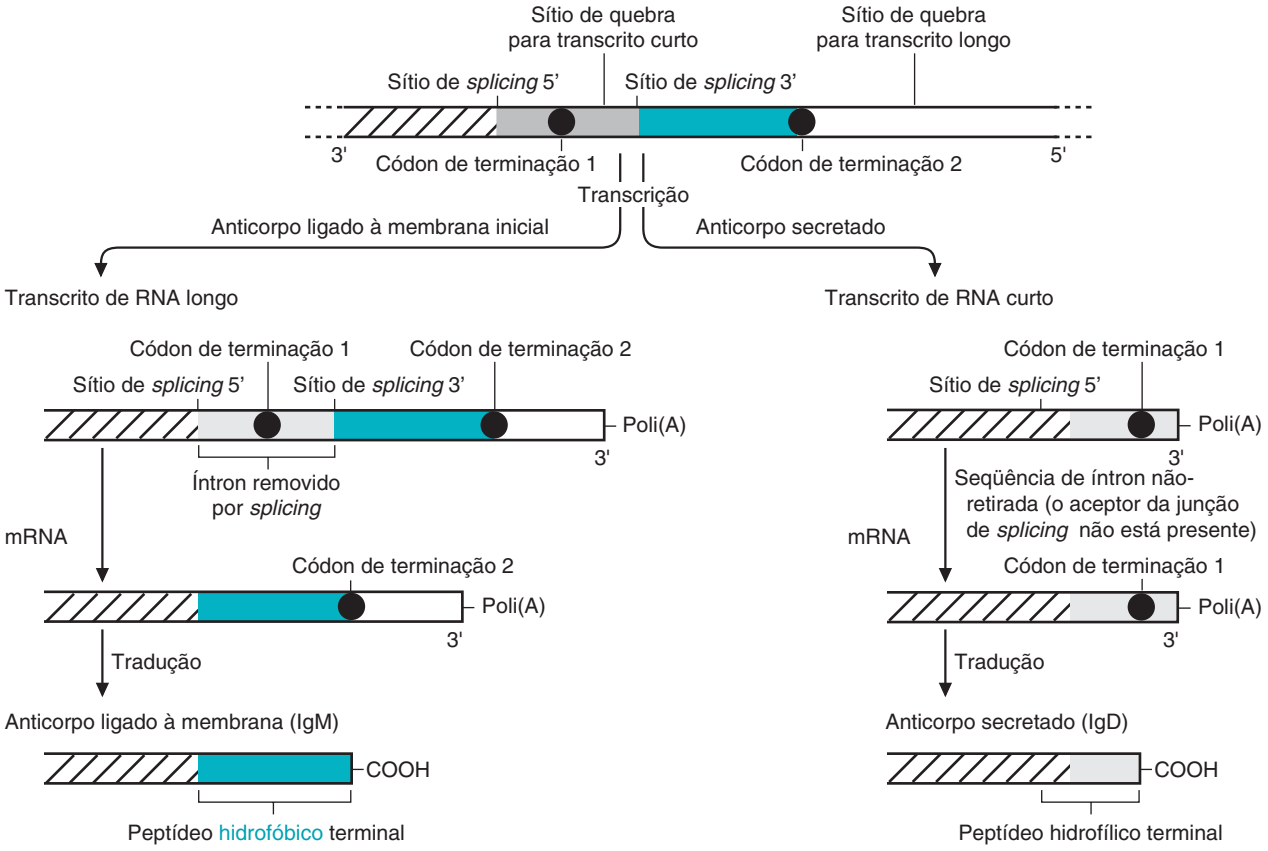


Figura 16.20 Produção de um anticorpo ligado à membrana (IgM) e um anticorpo secretado menor (IgD) a partir do mesmo gene. Inicialmente, os linfócitos produzem um transcrito longo que é quebrado e poliadenilado após o segundo códon de terminação. O íntron que contém o primeiro códon é removido por *splicing* entre os sítios 5′ e 3′. Portanto, a tradução termina no segundo códon de terminação, e a proteína contém um éxon hidrofóbico em sua extremidade C-terminal que se fixa na membrana celular. Após a estimulação por antígeno, as células produzem um transcrito mais curto utilizando um sítio de quebra e poliadenilação diferente. Esse transcrito não tem o sítio de *splicing* 3′ para o íntron; assim, o íntron não é removido. Nesse caso, a tradução termina no primeiro códon de terminação. O anticorpo IgD não contém a região hidrofóbica em sua extremidade C-terminal; assim, ele é secretado da célula.

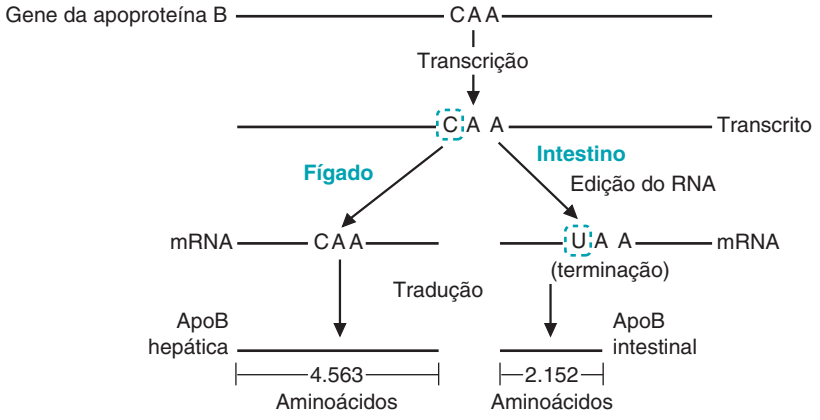


Figura 16.21 Edição de RNA. No fígado, o gene da apoproteína B (ApoB) produz uma proteína que contém 4.563 aminoácidos. Nas células intestinais, o mesmo gene produz uma proteína que contém apenas 2.152 aminoácidos. A conversão de uma C em uma U (por meio de desaminação) no RNA transcrito produz um códon de terminação no mRNA. Assim, a proteína produzida no intestino (B-48) tem apenas 48% do comprimento da proteína produzida no fígado (B-100).

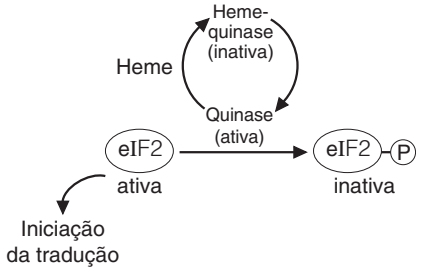


Figura 16.22 Heme impede a inativação de eIF2. Quando o eIF2 está fosforilado pela heme-quinase, ele está inativo, e a síntese de proteína não pode ser iniciada. O heme inativa a heme-quinase, impedindo, assim, a fosforilação de eIF2 e ativando a tradução do mRNA da globina.

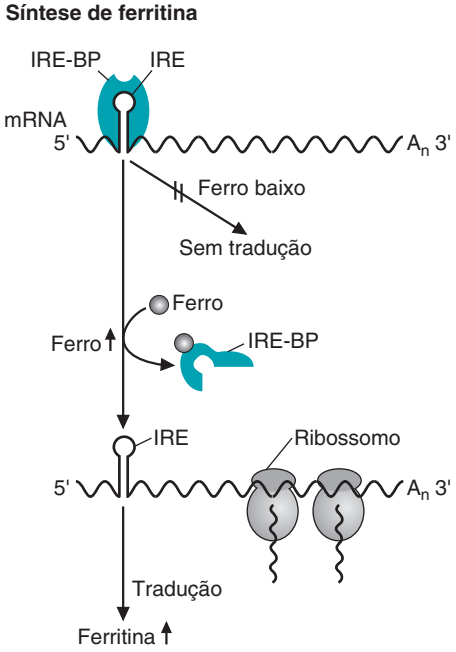


Figura 16.23 Regulação na tradução da síntese de ferritina. O mRNA para ferritina tem um IRE. Quando a IRE-BP não contém ferro ligado, ela se liga ao IRE, impedindo a tradução. Quando a IRE-BP se liga ao ferro, ela se dissocia, e o mRNA é traduzido.

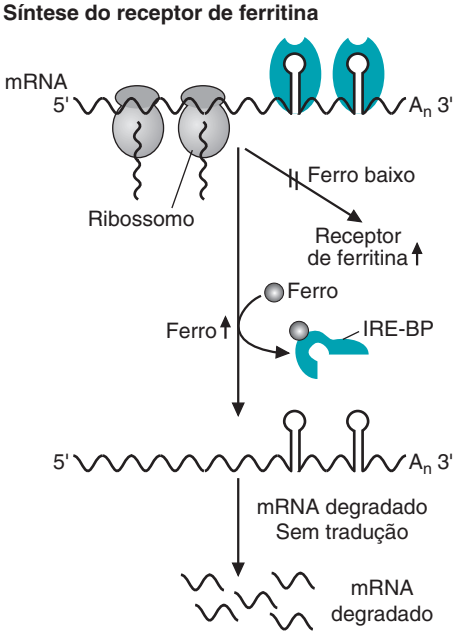


Figura 16.24 Regulação da degradação do mRNA para o receptor de transferrina. A degradação do mRNA é impedida pela ligação de IRE-BP aos IRE, os quais são alças em grampo localizadas na extremidade 3' do mRNA do receptor de transferrina. Quando os níveis de ferro estão altos, a IRE-BP se liga ao ferro e não está ligada ao mRNA. O mRNA é rapidamente degradado, impedindo a síntese do receptor de transferrina.

Um exemplo do papel da degradação do mRNA no controle da tradução é fornecido pelo mRNA do receptor de transferrina (Figura 16.24). Esse receptor é uma proteína localizada nas membranas celulares que permite que a célula capte transferrina, a proteína que transporta ferro no sangue. A velocidade de síntese do receptor de transferrina aumenta quando os níveis intracelulares de ferro estão baixos, capacitando as células para captar mais ferro. A síntese do receptor de transferrina, como o receptor de ferritina, é regulada pela ligação da IRE-BP a IRE. Contudo, no caso do mRNA do receptor de transferrina, os IRE são alças em grampo localizadas na extremidade 3' do mRNA, e não na extremidade 5', onde a tradução é iniciada. Quando a IRE-BP não contém ferro ligado, ela tem uma alta afinidade pelas alças em grampo de IRE. Conseqüentemente, a IRE-BP impede a degradação do mRNA quando os níveis de ferros estão baixos, permitindo, assim, a síntese de mais receptor de transferrina, de tal modo que a célula pode captar mais ferro. Inversamente, quando os níveis de ferro estão elevados, a IRE-BP se liga e tem uma baixa afinidade pela alça em grampo de IRE do mRNA. Sem a IRE-BP ligada à sua extremidade 3', o mRNA é rapidamente degradado, e o receptor de transferrina não é sintetizado. (Nota: quando a IRE-BP está ligada na alça em grampo do IRE na extremidade 3' do mRNA, a IRE-BP impede a degradação do mRNA.)

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Arlyn Foma. Os linfomas foliculares são o grupo mais comum de linfomas não-Hodgkin (25 a 40% dos casos). Os pacientes com um curso mais agressivo, como visto em **Arlyn Foma**, morrem dentro de 3 a 5 anos após o diagnóstico se não forem tratados. Em pacientes pré-tratados com poliquimioterapia (nesse caso, AV/CM), foi relatada uma taxa de resposta de 50% quando o interferon α é associado a esse regime. Além disso, uma sobrevivência mais longa livre de doença foi relatada quando se utiliza essa abordagem.



As células-tronco multipotentes na medula óssea normalmente se diferenciam e amadurecem de uma maneira altamente seletiva e regulada, tornando-se células sangüíneas vermelhas, células sangüíneas brancas ou plaquetas. As citocinas estimulam a diferenciação de células-tronco nas linhagens linfóide e mielóide. A linhagem linfóide dá origem aos linfócitos B e T, os quais são células sangüíneas brancas que produzem anticorpos para a resposta imune. A linhagem mielóide origina os três tipos de células progenitoras: eritróide, granulocítica-monocítica e megacariocítica. As células progenitoras eritróides se diferenciam em células sangüíneas vermelhas (eritrócitos), e as outras progenitoras mielóides originam as células sangüíneas brancas não-linfóides e as plaquetas. Vários problemas médicos podem afetar esse processo. Em **Mannie Weitzels**, que tem leucemia mielóide crônica (LMC), uma única linhagem de células mielóides primitivas produz células leucêmicas que proliferam anormalmente, causando um grande aumento no número de células sangüíneas brancas na circulação. Em **Anne Niemick**, que tem uma deficiência de células sangüíneas vermelhas causada por sua β^{+}-talassemia (ver Capítulo 15), a diferenciação das células precursoras em células sangüíneas vermelhas maduras é estimulada para compensar a anemia.



Mannie Weitzels. Mannie Weitzels tem LMC (leucemia mielóide crônica), um distúrbio hematológico no qual as células leucêmicas proliferantes parecem se originar de uma única linhagem de células mielóides primitivas. Embora classificada como um distúrbio mieloproliferativo, a LMC é distinguida pela presença de anormalidade citogenética específica das células em divisão da medula óssea, conhecida como cromossomo Filadélfia, encontrada em mais de 90% dos casos. Na maioria dos casos, a causa de LMC é desconhecida, mas a doença ocorre com uma incidência de aproximadamente 1,5 por 100.000 habitantes das sociedades ocidentais.



Ann O'Rexia. As reservas de ferro de Ann O'Rexia estão depletadas. Normalmente, cerca de 16 a 18% do ferro corporal total está contido na ferritina, a qual contém uma proteína esférica (apoferritina) que é capaz de armazenar mais de 4.000 átomos de ferro em seu centro. Quando existe uma deficiência de ferro, os níveis de ferritina sérico e tecidual diminuem. Inversamente, os níveis de transferrina (a proteína sangüínea que transporta ferro) e os níveis do receptor de transferrina (o receptor da superfície celular para a transferrina) aumentam.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



Regulação da transcrição por ferro. A habilidade de uma célula de adquirir e armazenar ferro é um processo cuidadosamente controlado. O ferro obtido a partir da dieta é absorvido no intestino e liberado na circulação, onde é ligado à transferrina, a proteína de transporte de ferro no plasma. Quando a célula necessita de ferro, o complexo plasmático ferro-transferrina se liga ao receptor de transferrina na membrana celular e é internalizado na célula. Uma vez que o ferro é liberado da transferrina, ele se liga, então, à ferritina, que é a proteína de armazenamento celular de ferro. A ferritina tem a capacidade de armazenar até 4.000 moléculas de ferro por molécula de ferritina. Os controles transcricional e de tradução funcionam para manter os níveis intracelulares de ferro (ver Figuras 16.23 e 16.24). Quando os níveis de ferro estão baixos, a proteína de ligação de elemento responsivo ao ferro (IRE-BP) se liga a estruturas em alça específicas nos mRNAs da ferritina e do receptor da transferrina. Esse evento de ligação estabiliza o mRNA do receptor de transferrina de tal maneira que ele pode ser traduzido, e o número de receptores de transferrina na membrana celular aumenta. Conseqüentemente, as células captam mais ferro, mesmo quando os níveis de transferrina plasmática/ferro estão baixos. A ligação de IRE-BP ao mRNA da ferritina, contudo, bloqueia a tradução do mRNA. Com níveis baixos de ferro intracelular, há pouco ferro para armazenar e menos necessidade de ferritina intracelular. Dessa forma, a IRE-BP pode estabilizar um mRNA e bloquear a tradução de um mRNA diferente.

O que acontece quando os níveis de ferro se elevam? O ferro irá se ligar à IRE-BP, diminuindo, assim, a afinidade por mRNA. Quando a IRE-BP se dissocia do mRNA do receptor de transferrina, o mRNA se torna desestabilizado e é degradado, levando a uma diminuição na síntese de receptor. Inversamente, a dissociação da



Ann O'Rexia tem uma anemia hipocrômica, o que significa que suas células sangüíneas vermelhas são pálidas, pois contêm níveis baixos de hemoglobina. Devido a sua deficiência de ferro, ela não está produzindo quantidades adequadas de heme. Conseqüentemente, o eIF2 é fosforilado em seus reticulócitos e não pode ativar a iniciação da tradução da globina.

IRE-BP do mRNA para a ferritina permitirá que o mRNA seja traduzido, aumentando, assim, os níveis intracelulares de ferritina e a capacidade das células de armazenamento de ferro.

Por que uma deficiência de ferro resulta em anemia? Quando um indivíduo tem deficiência de ferro, os reticulócitos não têm ferro suficiente para produzir heme, o grupo prostético necessário para a hemoglobina. Quando os níveis de heme estão baixos, o fator de iniciação de eucariotos eIF2 (ver Figura 16.22) está fosforilado e inativo. Dessa forma, o mRNA para a globina não pode ser traduzido devido à falta de heme. Isso resulta em células sangüíneas vermelhas com níveis inadequados de hemoglobina para a distribuição de oxigênio e em anemia.

Leituras Sugeridas

Regulação da expressão gênica em células procarióticas e eucarióticas:

Lewin B. Genes VII. Oxford: Oxford University Press, 2000:273-318, 649-684.

Talassemias:

Watson J, Gilman M, Witkowski J, Zoller M. Recombinant DNA. Scientific American Books. New York: WH Freeman, 1992:540-544.

Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR, Wood WG. The hemoglobinopathies. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:4571-4636.

Leucemias e Linfomas:

Goldman L, Bennet JC. Cecil Textbook of Medicine. 21st Ed. Philadelphia: WB Saunders, 2000:945-977.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 16

1. Qual das seguintes opções explica por que diversas proteínas podem ser sintetizadas a partir de um mRNA procarioto específico?

   (A) Qualquer das três estruturas de leitura pode ser utilizada.
   (B) Há redundância na escolha das interações códon/tRNA.
   (C) O gene contém várias seqüências operadoras a partir das quais inicia a tradução.
   (D) Eventos de *splicing* alternativo são comumente encontrados.
   (E) Muitos RNAs estão organizados em uma série de cístrons consecutivos de tradução.

2. Na *E. coli*, sob condições de lactose e glicose altas, qual das seguintes situações poderia levar à ativação máxima da transcrição do óperon *lac*?

   (A) Uma mutação no gene lac I (o qual codifica o repressor).
   (B) Uma mutação no sítio de ligação de CRP levando a uma ligação aumentada.
   (C) Uma mutação na seqüência do operador.
   (D) Uma mutação levando a níveis aumentados de AMPc.
   (E) Uma mutação levando a uma ligação mais baixa do repressor.

3. Uma mutação no gene I (repressor) da cepa "não-induzível" de *E. coli* resultou em um incapacidade de sintetizar qualquer das proteínas do óperon *lac*. Qual das seguintes opções fornece uma explicação racional?

   (A) O repressor perdeu sua afinidade pelo indutor.
   (B) O repressor perdeu sua afinidade pelo operador.
   (C) Um fator de ação trans não pode mais se ligar ao promotor.
   (D) A proteína CAP não é mais produzida.
   (E) A inibição por retroalimentação de lactose se torna constitutiva.

4. Qual das seguintes seqüências de DNA de dupla fita mostra simetria dupla perfeita (a mesma seqüência de bases em ambas as fitas)?

   (A) GAACTGCTAGTCGC
   (B) GGCATCGCGATGCC

(C) TAATCGGAACCAAT
(D) GCAGATTTTAGACG
(E) TGACCGGTGACCGG

5. Qual das seguintes opções descreve um tema comum na estrutura das proteínas de ligação de DNA?

(A) A presença de uma hélice específica que se localiza através do sulco maior do DNA.
(B) A habilidade de reconhecer moléculas de RNA com a mesma seqüência
(C) A habilidade de formar múltiplas pontes de hidrogênio entre o esqueleto de peptídeo protéico e o esqueleto de fosfodiéster do DNA.
(D) A presença de zinco.
(E) A habilidade de formar dímeros com ligações dissulfeto.

17 Uso de Técnicas de DNA Recombinante em Medicina

O desenvolvimento rápido de técnicas no campo da biologia molecular está revolucionando a prática da medicina. Os usos potenciais dessas técnicas para o diagnóstico e o tratamento de doenças são vastos.

***Aplicações clínicas**. Os **polimorfismos**, as diferenças herdadas na seqüência de bases de DNA, são abundantes na população humana, e muitas alterações na seqüência de DNA são associadas a doenças. Os testes para as variações nas seqüências de bases do DNA são mais sensíveis do que muitas outras técnicas (como ensaios enzimáticos) e permitem o reconhecimento de doenças em estágios mais precoces e, portanto, potencialmente mais tratáveis. Esses testes podem identificar carreadores de doenças herdadas de tal modo que podem receber aconselhamento apropriado. Como as variações genéticas são tão distintas, **a impressão digital de DNA** (**DNA fingerprinting**, análise de diferenças na seqüência do DNA) pode ser utilizada para determinar as relações familiares ou auxiliar na identificação de criminosos.*

*As técnicas de biologia molecular são utilizadas na **prevenção** e no **tratamento** de doenças Por exemplo, as técnicas de DNA recombinante fornecem insulina para o tratamento de diabetes, fator VIII para o tratamento de hemofilia e vacinas para a prevenção de hepatite. Embora o tratamento de doenças por terapia gênica esteja em fase experimental, as possibilidades são limitadas apenas pela imaginação humana e, é claro, por considerações éticas.*

***Técnicas**. Para identificar variações genéticas normais e patológicas, o DNA deve ser isolado a partir da fonte apropriada, e quantidades adequadas devem estar disponíveis para estudo. As técnicas para **isolamento** e **amplificação** de genes e estudo e **manipulação** de seqüências de DNA envolvem o uso de **enzimas de restrição**, **vetores de clonagem**, **reação em cadeia da polimerase** (**PCR**), **eletroforese em gel, transferência para membrana de nitrocelulose** e preparação de **sondas marcadas que hibridizam** para as seqüências-alvo de DNA apropriadas. A **terapia gênica** envolve o isolamento e a inserção de genes normais em células doentes de tal modo que os genes normais sejam expressos, permitindo que as células doentes retornem ao estado normal. Os estudantes devem ter pelo menos uma compreensão geral das técnicas de DNA recombinante para apreciar seu uso corrente e o potencial que elas têm para o futuro.*



SALA DE ESPERA



Erna Nemdy, uma estudante do terceiro ano de medicina, começou a trabalhar no banco de sangue do hospital duas noites por semana (ver Capítulo 15 para apresentação de Erna Nemdy e sua filha, Beverly). Como ela deverá manipular produtos sangüíneos humanos, deverá fazer uma série de vacinas para hepatite B. Ela tem certo receio dessas vacinas e indaga sobre a eficácia e a segurança das que estão em uso atualmente.



A fibrose cística é uma doença causada por uma deficiência hereditária na proteína CFTR (regulador da condutância transmembrana da fibrose cística, do inglês *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*), que é um canal de cloreto (ver Capítulo 10, Figura 10.11). Na ausência de secreção de cloreto, muco seco bloqueia o ducto pancreático, resultando em secreção diminuída de enzimas digestivas para o lúmen intestinal. A resultante má absorção de gordura e de outros nutrientes diminui o crescimento e pode levar a graus variáveis de obstrução do intestino delgado. O fígado e a vesícula biliar podem ser afetados de forma semelhante. Eventualmente, a atrofia dos órgãos ou ductos pode ocorrer. O muco seco também bloqueia as vias aéreas, diminuindo marcadamente a troca de ar e predispondo o paciente a acúmulo de secreções, diminuição das defesas imunes e aumento de infecções secundárias. Os defeitos no canal de cloreto CFTR também afetam a composição do suor, aumentando seu conteúdo de sódio e cloreto, fornecendo, assim, uma ferramenta diagnóstica.



Sissy Fibrosa é uma menina de cor branca, com três anos, com diagnóstico de fibrose cística. A velocidade de seu crescimento tem estado abaixo do percentil 30 no último ano. Desde seu nascimento, ela tem episódios espontâneos reversíveis e pouco graves de obstrução do intestino delgado. Esses episódios estão sobrepostos a sintomas gastrintestinais, como distensão abdominal, fezes brilhantes e malcheirosas duas a três vezes ao dia, que sugerem um grau de mal-absorção de gordura da dieta. Ela teve surtos recorrentes de bronquite bacteriana nos últimos 10 meses, causados por *Pseudomonas aeruginosa*. Um teste quantitativo do suor foi inequivocamente positivo (foram encontrados excessos de sódio e cloreto em seu suor em duas ocasiões). Com base nesses achados, o pediatra informou aos pais de Sissy que ela provavelmente tinha fibrose cística (CF). Uma amostra de seu sangue foi enviada para um teste de DNA no laboratório para confirmar o diagnóstico e determinar especificamente qual das muitas possíveis mutações genéticas conhecidas como causa de CF estava presente em suas células.



Carrie Sichel, a irmã de 19 anos de Will Sichel, está pensando em se casar. Seu crescimento e desenvolvimento foram normais, e ela não tem sintomas de anemia falciforme. Como a irmã mais nova, Amanda, foi examinada e apresentou o traço falciforme, e devido às crises repetidas de Will, Carrie que saber se ela também tem o traço falciforme (ver Capítulos 6 e 7 para revisar a história de Will Sichel). Uma eletroforese da hemoglobina foi realizada e mostrou que a composição de sua hemoglobina é 58% HbA, 39% HbS, 1% HbF e 2% HbA2, um padrão consistente com a presença do traço falciforme. O hematologista com quem ela consultou na clínica em sua primeira visita está estudando as mutações genéticas do traço falciforme e pediu a Carrie permissão para retirar amostra adicional de sangue para uma análise mais sofisticada do distúrbio genético que a leva a produzir HbS. Carrie informou ao noivo que ela tem o traço falciforme e que quer adiar o casamento até que ele seja testado.



Victoria Tim (Vicky Tim) era uma mulher de 21 anos que foi vítima de estupro e assassinato. Ela saiu de casa e foi de carro até a loja de conveniência local. Como não retornou após uma hora, seu pai foi até a loja de conveniência procurar por Vicky. Ele encontrou o carro ainda estacionado em frente à loja e chamou a polícia. Eles examinaram a área ao redor da loja e encontraram o corpo de Vicky Tim em uma área arborizada atrás do prédio. Ela tinha sofrido ataque sexual e sido estrangulada. Os técnicos médicos do laboratório da polícia coletaram uma amostra de sêmen do líquido vaginal e levaram amostras do sangue seco sob as unhas da vítima. As testemunhas identificaram três homens que falaram com Vicky Tim enquanto ela estava na loja. Amostras de DNA foram obtidas desses três suspeitos para determinar se algum deles havia cometido o crime.



A tosse de **Ivy Sharer** melhorou levemente com um esquema de múltiplos fármacos para tuberculose pulmonar, mas ela continua tendo suores noturnos. Ela está tolerando bem a terapia para AIDS, mas se queixa de fraqueza e fadiga. O homem com quem ela compartilhou as agulhas "sujas" para injetar as drogas acompanhou Ivy até a clínica e solicitou que fosse testado para a presença de HIV.

I. TÉCNICAS DE DNA RECOMBINANTE

As técnicas para unir seqüências de DNA em novas combinações (DNA recombinante) foram originalmente desenvolvidas como ferramentas de pesquisa para explorar e manipular genes, mas agora são utilizadas para identificar genes defeituosos associados a doenças e para corrigir defeitos genéticos. Mesmo uma pesquisa superficial da literatura atual demonstra que essas técnicas logo substituirão muitos dos procedimentos atuais de testes clínicos. Pelo menos uma apreciação básica das técnicas de DNA recombinante é necessária para compreender as rotas nas quais as variações genéticas entre indivíduos são determinadas e como essas diferenças podem ser utilizadas para diagnosticar doenças. As primeiras etapas na determinação de variações individuais em genes envolvem o isolamento dos genes (ou fragmentos de DNA) que contêm seqüências variáveis e a obtenção de quantidades adequadas para estudo.

A. Estratégias para a Obtenção de Fragmentos de DNA e Cópias de Genes

1. FRAGMENTOS DE RESTRIÇÃO

As enzimas chamadas de endonucleases de restrição permitem que os biólogos moleculares quebrem segmentos de DNA do genoma de vários tipos celulares ou fragmentem DNA obtido de outras fontes. Uma enzima de restrição é uma endonuclease que especificamente identifica uma seqüência curta de DNA, em geral 4 a 6 pares de base (pb) de comprimento, e quebra uma ligação fosfodiéster em ambas as fitas de DNA dentro dessa seqüência (Figura 17.1). Uma característica-chave das enzimas de restrição é sua especificidade. Uma enzima de restrição quebra sempre na mesma seqüência de DNA e quebra apenas nessa seqüência específica. A maioria das seqüências de DNA tem a mesma seqüência-base quando lida da direção 5' para 3'. Os cortes feitos por essas enzimas em geral são "abertos" (isto é, os produtos têm fitas simples nas extremidades, com uma fita sobrepondo a outra). Contudo, algumas vezes são "fechados" (os produtos têm duplas fitas nas extremidades, sem sobreposição). Centenas de enzimas de restrição com diferentes especificidades têm sido isoladas (Tabela 17.1).

Os fragmentos de restrição de DNA podem ser utilizados para identificar variações na seqüência de bases em um gene. Contudo, eles também podem ser utilizados para sintetizar DNA recombinante (também chamado de DNA quimérico), o qual é composto de moléculas de DNA de diferentes fontes que tenham sido recombinadas *in vitro* (fora do organismo, p. ex., em um tubo de ensaio). As extremidades abertas de dois fragmentos de DNA não-relacionados podem ser unidas se tiverem extremidades abertas que são complementares. As extremidades abertas são obtidas pelo corte de DNAs

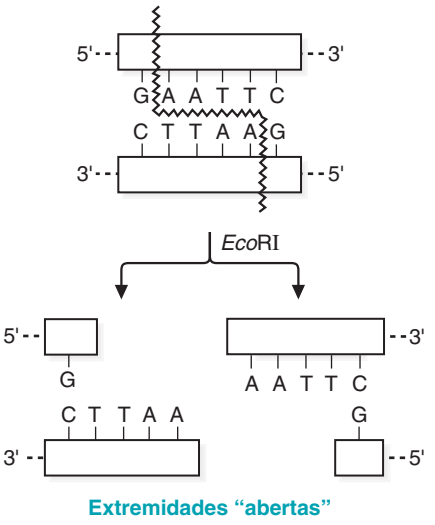


Figura 17.1 Ação das enzimas de restrição. Observe que a seqüência de DNA mostrada é um palíndromo; cada fita do DNA, quando lida da direção 5' para 3', tem a mesma seqüência. Clivagem dessa seqüência pela *Eco*RI produz terminações de fitas simples (ou "abertas") ou caudas. Não é mostrado um exemplo de uma enzima que produz extremidade fechada (ver Tabela 17.1).

Na anemia falciforme, a mutação pontual que converte um resíduo de glutamato em um resíduo de valina (G**A**G em G**T**G) ocorre em um sítio que está quebrado pela enzima de restrição *MstII* (seqüência de reconhecimento CCTNAGG, na qual N pode ser qualquer base) dentro do gene normal da globina β. A mutação falciforme leva o gene da globina β a perder esse sítio de restrição da *MstII*. Portanto, como **Will Sichel** é homozigoto para o gene falciforme, nenhum dos dois alelos desse gene da globina β será quebrado nesse sítio.

Tabela 17.1 Seqüências Quebradas por Enzimas de Restrição Selecionadas*

Enzimas de Restrição	Fonte	Sítio de Corte
*Alu*I	*Arthrobacter luteus*	5′ - A G↓C T - 3′ 3′ - T C↑G A - 5′
*Bam*HI	*Bacillus amyloliquefaciens H*	5′ - G↓G A T C C - 3′ 3′ - C C T A G↑G - 5′
*Eco*RI	*Escherichia coli* RY13	5′ - G↓A A T T C - 3′ 3′ - C T T A A↑G - 5′
*Hae*III	*Haemophilus aegyptius*	5′ - G G↓C C - 3′ 3′ - C C↑G G - 5′
*Hind*III	*Haemophilus influenzae* R_d	5′ - A↓A G C T T - 3′ 3′ - T T C G A↑A - 5′
*Msp*I	*Moraxella species*	5′ - C↓C G G - 3′ 3′ - G G C↑C - 5′
*Mst*II	*Microcoleus*	5′ - C C↓T N A G G - 3′ 3′ - G G A N T↑C C - 5′
*Not*I	*Nocardia otitidis*	5′ - G C↓G G C C G C - 3′ 3′ - C G C C G G↑C G - 5′
*Pst*I	*Providencia stuartii* 164	5′ - C T G C A↓G - 3′ 3′ - G↑A C G T C - 5′
*Sma*I	*Serratia marcescens* S_b	5′ - C C C↓G G G - 3′ 3′ - G G G↑C C C - 5′

*Enzimas de restrição são nomeadas a partir da bactéria da qual elas foram isoladas (p. ex., *Eco*RI é da *Escherichia coli*).

Qual das seqüências seguintes é a seqüência de reconhecimento para uma enzima de restrição mais provável?

(A) (5′) GTCCTG (3′)
CAGGAC

(B) (5′) TACGAT (3′)
ATGCTA

(C) (5′) CTGAG (3′)
GACTC

(D) (5′) ATCCTA (3′)
TAGGAT

As endonucleases de restrição foram descobertas em bactérias nas décadas de 1960 e 1970. Essas enzimas foram especificadas porque as bactérias utilizam-nas para "restringir" o crescimento de vírus (bacteriófago) que infectam as células bacterianas. Elas cortam o DNA do fago em pedaços pequenos, de tal modo que o fago não pode se reproduzir nas células bacterianas. Contudo, elas não cortam o DNA bacteriano, pois suas bases são metiladas nos sítios de restrição por DNA-metilases. As enzimas de restrição também restringem a captação de DNA do ambiente e a combinação com espécies não-homólogas.

R: A resposta é C. C segue uma seqüência palindrômica, na qual N pode ser qualquer base. Nenhuma das outras seqüências pode ser um palíndromo. Embora a maioria das enzimas de restrição reconheça um palíndromo "perfeito", no qual a seqüência de bases em cada fita é a mesma, outras podem ter bases interpostas entre as regiões de identidade, como nessa questão. Observe também a especificidade da enzima *Mst*II na Tabela 17.1.

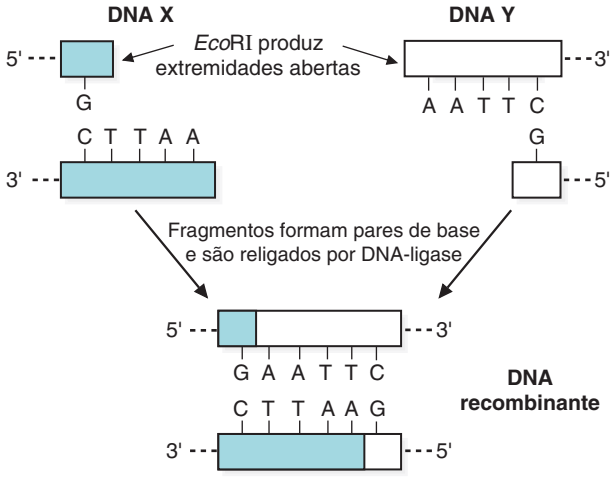


Figura 17.2 Produção de moléculas de DNA recombinante por enzimas de restrição e DNA-ligase. Os tracejados nas extremidades 5′ e 3′ indicam que essa seqüência é parte de uma molécula de DNA mais longa.

não-relacionados pela mesma enzima de restrição (Figura 17.2). Após as extremidades abertas dos fragmentos formarem pares de bases uma com a outra, os fragmentos podem ser unidos de forma covalente pela ação da DNA-ligase.

2. DNA PRODUZIDO PELA TRANSCRIPTASE REVERSA

Se o mRNA transcrito a partir de um gene é isolado, esse mRNA pode ser utilizado como molde pela enzima transcriptase reversa, a qual produz uma cópia de DNA (cDNA) a partir do RNA. Em contraste com fragmentos de DNA cortados do genoma por enzimas de restrição, o DNA produzido por transcriptase reversa não contém íntrons devido ao fato de o mRNA, o qual não tem íntrons, ser utilizado como molde.

3. SÍNTESE QUÍMICA DE DNA

Máquinas automáticas podem sintetizar oligonucleotídeos (pequenas moléculas de DNA de fita simples) com até 100 nucleotídeos de comprimento. Essas máquinas podem ser programadas para produzir oligonucleotídeos com uma seqüência de bases específica. Embora o gene inteiro ainda não possa ser sintetizado em uma peça, os oligonucleotídeos podem ser preparados para formar pares de base com segmentos de genes. Esses oligonucleotídeos podem ser utilizados no processo de identificação e amplificação de genes.

B. Técnicas para Identificação de Seqüências de DNA

1. SONDAS

Uma sonda é um polinucleotídeo de fita simples de DNA ou RNA que é utilizado para identificar uma seqüência complementar de uma molécula de DNA ou RNA de fita simples mais longa (Figura 17.3). A formação de pares de bases em fitas complementares é chamada de anelamento (*annealing*) ou hibridização. As sondas podem ser compostas de cDNA (DNA complementar produzido a partir de mRNA por transcriptase reversa), fragmentos de DNA genômico (cortado por enzimas de restrição a partir do genoma), oligonucleotídeos sintetizados quimicamente ou, ocasionalmente, RNA.

Para identificar a seqüência-alvo, a sonda deve ser marcada (ver Figura 17.3). Se a sonda é marcada com um radioisótopo como o ^{32}P, ela pode ser detectada por autoradiografia. Um auto-radiograma é produzido cobrindo-se o material contendo a sonda com um filme de raio X. Os elétrons (partículas β) emitidos pela desintegração dos átomos radioativos expõem o filme na região diretamente sobre a sonda. Diversas técnicas podem ser utilizadas para marcar essas sondas. Nem todas as sondas são radioativas.

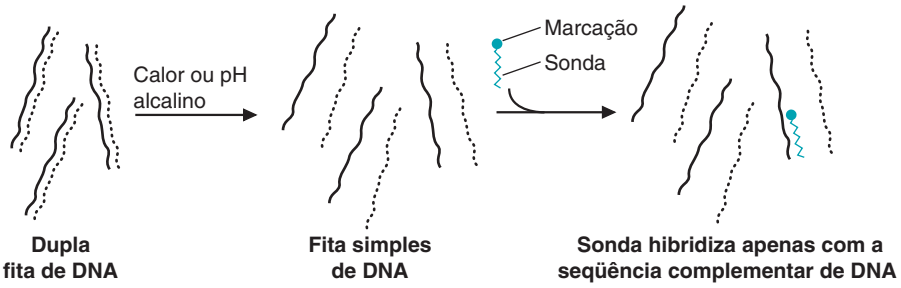


Figura 17.3 Uso de sondas para identificar seqüências de DNA. As sondas podem ser DNA ou RNA.

Algumas são produtos químicos (compostos que se ligam de forma covalente ao DNA) que podem ser identificados, por exemplo, por fluorescência.

2. ELETROFORESE EM GEL

A eletroforese em gel é uma técnica que utiliza um campo elétrico para separar moléculas com base no tamanho. Como o DNA contém grupos fosfato carregados negativamente, ele migrará em um campo elétrico em direção ao eletrodo positivo (Figura 17.4). As moléculas mais curtas migram mais rapidamente através dos poros de um gel do que as moléculas mais longas; assim, a separação é fundamentada no comprimento. Os géis compostos de poliacrilamida, os quais podem separar moléculas de DNA que diferem no comprimento por apenas um nucleotídeo, são utilizados para determinar a seqüência de bases de DNA. Os géis de agarose são utilizados para separar fragmentos de DNA mais longos que têm diferenças de tamanho maiores.

As bandas de DNA em um gel podem ser visualizadas por meio de várias técnicas. A coloração com corantes como brometo de etídeo permite a visualização direta das bandas de DNA sob luz ultravioleta. As seqüências específicas em geral são detectadas por meio de uma sonda marcada.

3. DETECÇÃO DE SEQÜÊNCIAS ESPECÍFICAS DE DNA

Para detectar seqüências específicas, o DNA em geral é transferido para um suporte sólido, como uma folha de papel de nitrocelulose. Por exemplo, se bactérias estão cres-

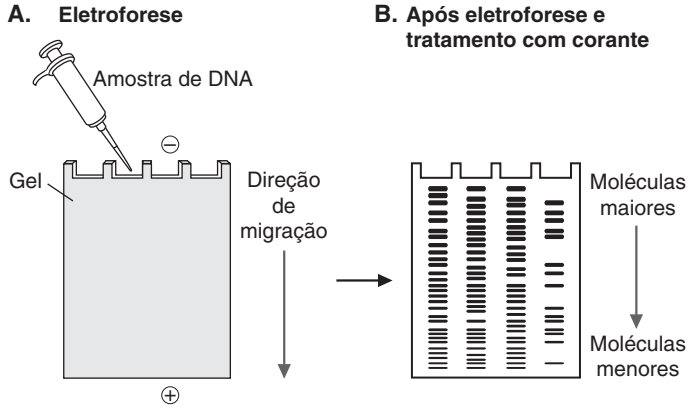


Figura 17.4 Eletroforese de DNA em gel. **A.** As amostras de DNA são colocadas em depressões ("poços") em uma extremidade do gel, e um campo elétrico é aplicado. O DNA migra em direção ao eletrodo positivo com uma velocidade que depende do tamanho das moléculas de DNA. As moléculas menores migram mais rapidamente do que as moléculas maiores. **B.** O gel é removido do aparato. As bandas não são visíveis até que sejam realizadas técnicas para visualizá-las (ver Figura 17.6).

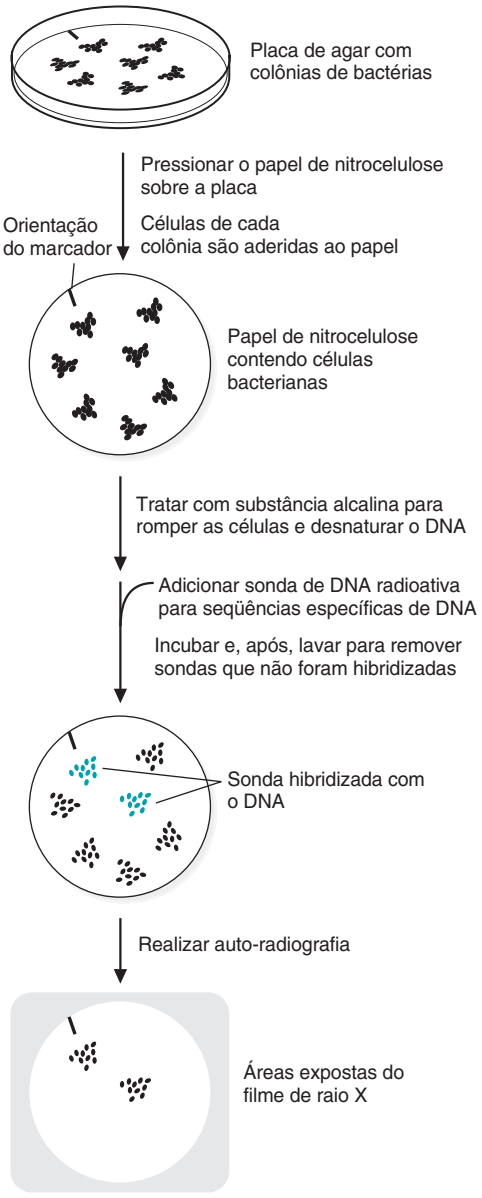


Figura 17.5 Identificação de colônias bacterianas contendo seqüências específicas de DNA. O auto-radiograma pode ser utilizado para identificar colônias de bactérias na placa de agar original que contém a seqüência de DNA original desejada. Observe que um marcador de orientação é colocado na nitrocelulose e na placa de agar, de tal modo que o auto-radiograma pode ser apropriadamente alinhado com a placa original de bactérias.

Western blots são um dos testes para o vírus da AIDS. As proteínas virais no sangue são detectadas por anticorpos. Os testes realizados no amigo de **Ivy Sharer** mostraram que ele era HIV-positivo. Diferentemente de Ivy, contudo, ele ainda não tinha desenvolvido os sintomas da AIDS.

cendo em uma placa de agar, as células de cada colônia ficarão aderidas a uma folha de nitrocelulose pressionada contra o agar, e uma réplica exata das colônias de bactérias pode ser transferida para o papel de nitrocelulose (Figura 17.5). Uma técnica similar é utilizada para transferir bandas de DNA de géis de eletroforese para folhas de nitrocelulose. Após as colônias de bactérias ou bandas de DNA serem transferidas para papel de nitrocelulose, o papel é tratado com uma solução alcalina. As soluções alcalinas desnaturam o DNA (isto é, separam as duas fitas de cada dupla hélice). O DNA de fita simples é, então, hibridizado com uma sonda, e as regiões transferidas para a nitrocelulose contendo DNA com os pares de base são identificadas.

E. M. Southern desenvolveu a técnica, a qual tem o seu nome, para a identificação de seqüências de DNA em géis. *Southern* é produzida quando o DNA em uma nitrocelulose de um gel de eletroforese é hibridizado com uma sonda de DNA. Os biólogos moleculares decidiram continuar com esse tema geográfico quando denominaram duas técnicas adicionais. Eletroforeses *Northern* são produzidas quando o RNA de uma nitrocelulose é hibridizado com uma sonda de DNA. Uma técnica levemente diferente, mas relacionada, conhecida como eletroforese *Western*, envolve a separação de proteínas por eletroforese em gel e a identificação delas com anticorpos marcados para proteínas específicas (Figura 17.6).

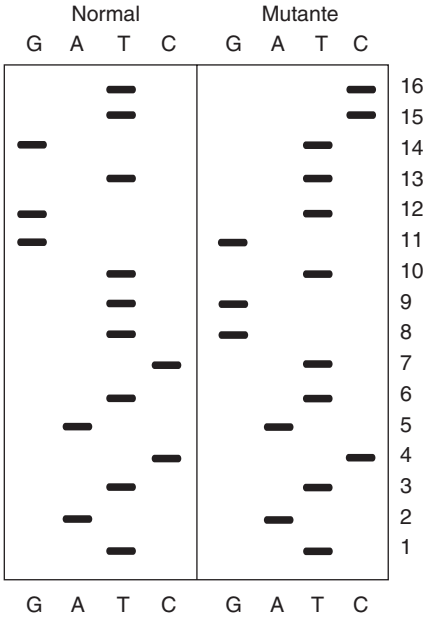
4. SEQÜENCIAMENTO DE DNA

O procedimento mais comum para determinar a seqüência de nucleotídeo em uma fita de DNA foi desenvolvido por Frederick Sanger e envolve o uso de didesoxinucleotídeos. Os didesoxinucleotídeos não têm um grupo hidroxila 3' (além de não terem o grupo hidroxila 2' normalmente ausente em desoxinucleotídeos de DNA). Assim, uma vez que são incorporados em uma cadeia em crescimento, o próximo nucleotídeo não pode ser adicionado, e a polimerização é interrompida. Nesse procedimento, apenas um dos quatro didesoxinucleotídeos (ddATP, ddTTP, ddGTP ou ddCTP) é adicionado a um tubo contendo os quatro desoxinucleotídeos normais, DNA-polimerase, um iniciador e a fita-molde para o DNA que está sendo seqüenciado (Figura 17.7). Quando a DNA-polimerase catalisa a adição seqüencial de bases complementares à extremidade 3', o didesoxinucleotídeo compete com seu nucleotídeo normal correspondente pela inserção. Quando o didesoxinucleotídeo é incorporado, a polimerização posterior da fita não pode ocorrer, e a síntese é interrompida. Algumas das cadeias terminarão em cada uma das localizações na fita-molde que é complementar ao didesoxinucleotídeo. Considere, por exemplo, uma fita polipeptídica em crescimento, na qual adenina (A) deveria ser adicionada nas posições 10, 15 e 17. A competição entre ddATP e dATP por cada posição resulta em algumas cadeias terminando nas posições 10, algumas na 15, e algumas na 17. Assim, fitas de DNA de comprimentos variáveis são produzidas a partir de um molde. As fitas mais curtas são mais próximas à extremidade 5' do DNA em crescimento devido ao fato de a fita crescer da direção 5' para 3'.

Quatro reações separadas são realizadas, cada uma com apenas um dos nucleotídeos presentes (ddATP, ddTTP, ddGTP, ddCTP) mais uma mistura completa de nucleotídeos normais (ver Figura 17.7B). Em cada tubo, algumas fitas são terminadas quando a base complementar para o didesoxinucleotídeo é encontrada. Se essas fitas são submetidas a eletroforese em gel, a seqüência 5'→3' da fita de DNA complementar ao molde pode ser determinada pela "leitura" de baixo para cima no gel, isto é, pela observação das colunas (A, G, C ou T), nas quais as bandas aparecem, iniciando na base do gel e movendo-se seqüencialmente para o topo.

Ivy Sharer está sendo tratada com didanosina. Esse fármaco é um nucleosídeo púrico composto da base hipoxantina ligada à didesoxirribose. Nas células, a didanosina está fosforilada para formar um nucleotídeo que é adicionado a fitas de DNA em crescimento. Como os didesoxinucleotídeos não têm os grupos hidroxila 2' e 3', a síntese de DNA é interrompida. A transcriptase reversa tem uma afinidade maior pelos didesoxinucleotídeos do que a DNA-polimerase celular, de tal modo que o uso desse fármaco afetará a transcriptase reversa em uma extensão muito maior do que a enzima celular.

Q: Em estudos iniciais de fibrose cística, o seqüenciamento de DNA foi utilizado para determinar o tipo de defeito em pacientes. Células bucais foram obtidas de lavado de membranas mucosas da boca, o DNA isolado dessas células foi amplificado por PCR, e o seqüenciamento do gene CF foi realizado. Um gel de seqüenciamento para a região na qual o gene difere do gene mutante é mostrado a seguir.



Qual é a diferença entre a seqüência do gene CF normal e do mutante mostrado no gel, e qual o efeito dessa diferença sobre as proteínas produzidas a partir desse gene?

C. Técnicas para Amplificação de Seqüências de DNA

Para estudar os genes ou as outras seqüências de DNA, quantidades adequadas de material devem ser obtidas. Com freqüência, é difícil isolar quantidades significantes de DNA a partir da fonte original. Por exemplo, um indivíduo em geral não pode ceder a quantidade de DNA necessária para o teste clínico. Portanto, a quantidade disponível de DNA tem de ser amplificada.

1. CLONAGEM DE DNA

A primeira técnica desenvolvida para a amplificação da quantidade de DNA é conhecida como clonagem (Figura 17.8). O DNA a ser amplificado (o DNA "estranho") é ligado a um vetor (um carreador de DNA), o qual é introduzido na célula hospedeira que faz múltiplas cópias do DNA. O DNA estranho e o vetor de DNA em geral são quebrados com a mesma enzima de restrição, a qual produz extremidades abertas complementares em ambos os DNAs. O DNA estranho é, então, adicionado ao vetor. Os pares de base são formados entre as regiões de fita simples complementar, e a DNA-ligase une as moléculas para produzir uma quimera, ou DNA recombinante. Quando a células hospedeiras se dividem, elas replicam seu próprio DNA e também replicam o DNA do vetor, o qual inclui o DNA estranho.

Se as células hospedeiras são bactérias, os vetores comumente utilizados são os bacteriófagos (vírus que infectam as bactérias), os plasmídeos (partes extracromossômicas de DNA circular que são captadas por bactérias) ou os cosmídeos (plasmídeos que contêm seqüências de DNA a partir de fago lambda). Quando as células eucarióticas são utilizadas como hospedeiros, com freqüência os vetores são retrovírus, adenovírus, DNA livre ou DNA coberto com uma camada de lipídeo (lipossomos). O DNA estranho algumas vezes se integra ao genoma da célula hospedeira ou existe como episssomos (fragmentos extracromossomais de DNA) (ver Seção III.D. deste capítulo).

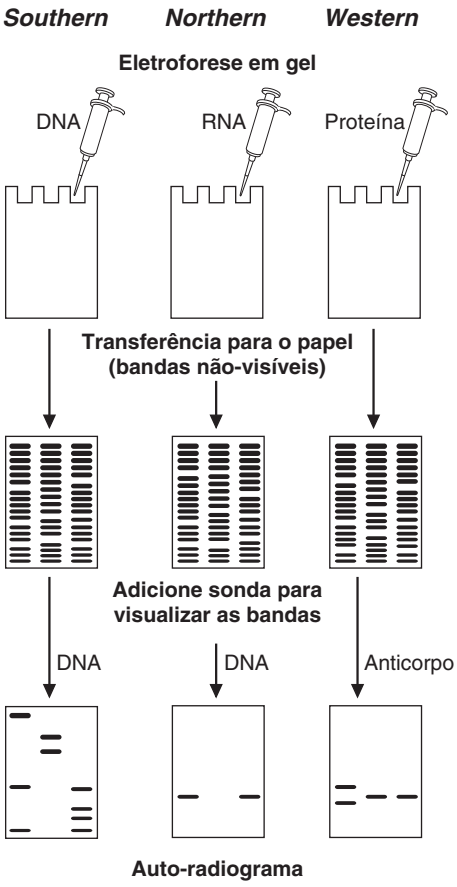
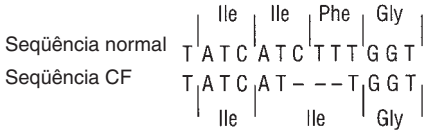


Figura 17.6 *Southern*, *Northern* e *Western blots*. Para *Southern blots*, as moléculas de DNA são separadas por eletroforese, desnaturadas, transferidas para papel de nitrocelulose (por "transferência") e hibridizadas com uma sonda de DNA. Para *Northern blots*, o RNA sofre eletroforese e é tratado de modo semelhante, exceto que a solução alcalina não é utilizada. (Primeiro, porque a substância alcalina hidrolisa o RNA e, segundo, porque o RNA já é uma fita simples.) Para *Western blots*, as proteínas são submetidas a eletroforese e identificadas com anticorpos específicos.

Uma "biblioteca" genômica em termos da biologia molecular é um grupo de células hospedeiras que coletivamente contêm todas as seqüências de DNA do genoma de outro organismo. Uma livraria de cDNA é um grupo de células hospedeiras que coletivamente contêm todas as seqüências de DNA produzidas por transcriptase reversa a partir do mRNA obtido de células de um tipo particular. Assim, uma livraria de cDNA contém todos os genes expressos nesse tipo de célula, no estágio de diferenciação quando o mRNA foi isolado.

R: Em indivíduos descendentes de europeus do norte, 70% dos casos de fibrose cística (CF, do inglês *cystic fibrosis*) são causados por uma deleção de três bases no gene CF. Na região do gene mostrada nos géis, a seqüência de bases (lida da base para o topo do gel) é a mesma para o gene normal e o mutante para as primeiras seis posições, e as bases nas posições 10 a 16 do gene normal são as mesmas bases nas posições 7 a 13 do gene mutante. Portanto, uma deleção de três bases no gene mutante corresponde às bases 7 a 9 do gene normal.



A perda de três pares de bases (indicados pelos traços) mantém a estrutura de leitura, de tal modo que apenas o único aminoácido fenilalanina (F) é perdido. A fenilalanina apareceria normalmente como resíduo 508 na proteína. Portanto, a deleção é referida como ΔF_{508}. O restante da seqüência de aminoácidos das proteínas normal e mutante é idêntico.

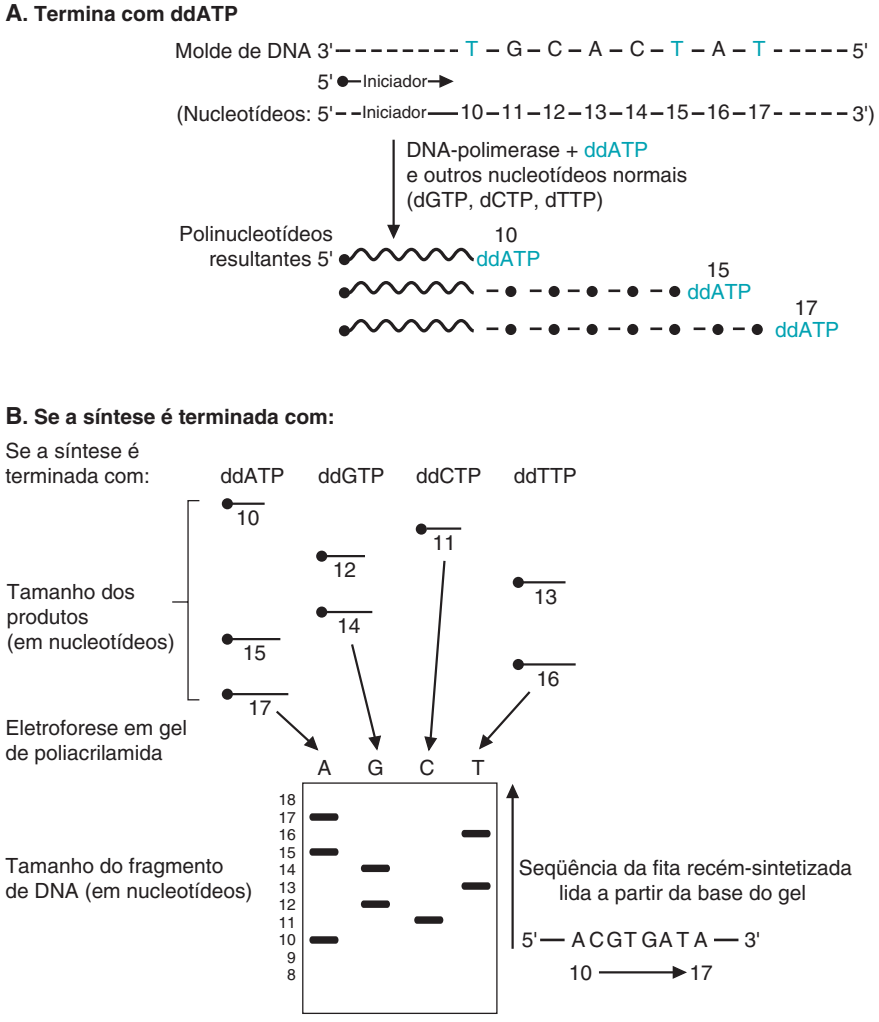


Figura 17.7 O método de Sanger. (A). Uma mistura de reação contém um dos didesoxinucleotídeos, como ddATP, e alguns dos nucleotídeos normais, dATP, que competem pela incorporação na cadeia polipeptídica em crescimento. Quando um T é encontrado na fita-molde (posição 10), algumas moléculas irão incorporar um ddATP, e a cadeia será interrompida. Aquelas que incorporarem um dATP normal continuarão crescendo até que a posição 15 seja alcançada, onde irão incorporar um ddATP ou o dATP normal. Apenas aquelas que incorporam um dATP continuarão a crescer para a posição 17. Assim, fitas de diferentes comprimentos a partir da extremidade 5′ são produzidas, correspondendo à posição de um T na fita-molde. (B). Seqüenciamento de DNA pelo método do didesoxinucleotídeo. Quatro tubos são utilizados. Cada um contém DNA-polimerase, um molde de DNA hibridizado a um iniciador, mais dATP, dGTP, dCTP e dTTP. O iniciador ou os nucleotídeos devem ter uma marcação radioativa, de tal modo que as bandas podem ser visualizadas no gel por auto-radiografia. Apenas um dos quatro didesoxinucleotídeos (ddNTPs) é adicionado a cada tubo. A terminação da síntese ocorre onde o ddNTP é incorporado à cadeia em crescimento. O molde é complementar à seqüência da fita recém-sintetizada.

As células hospedeiras que contêm DNA recombinante são chamadas de células transformadas, se são bactérias, ou células transfectadas, se são eucarióticas. Os marcadores no vetor de DNA são utilizados para identificar as células que foram transformadas, e as sondas para DNA estranho podem ser utilizadas para determinar que as células hospedeiras realmente contêm o DNA estranho. Se as células hospedeiras contendo o DNA estranho são incubadas sob condições nas quais elas replicam rapidamente, grandes quantidades de DNA estranho podem ser isoladas das células. Com o vetor apropriado e as condições de crescimento que permitem a expressão do DNA estranho, grandes quantidades de proteína produzida por esse DNA podem ser isoladas.

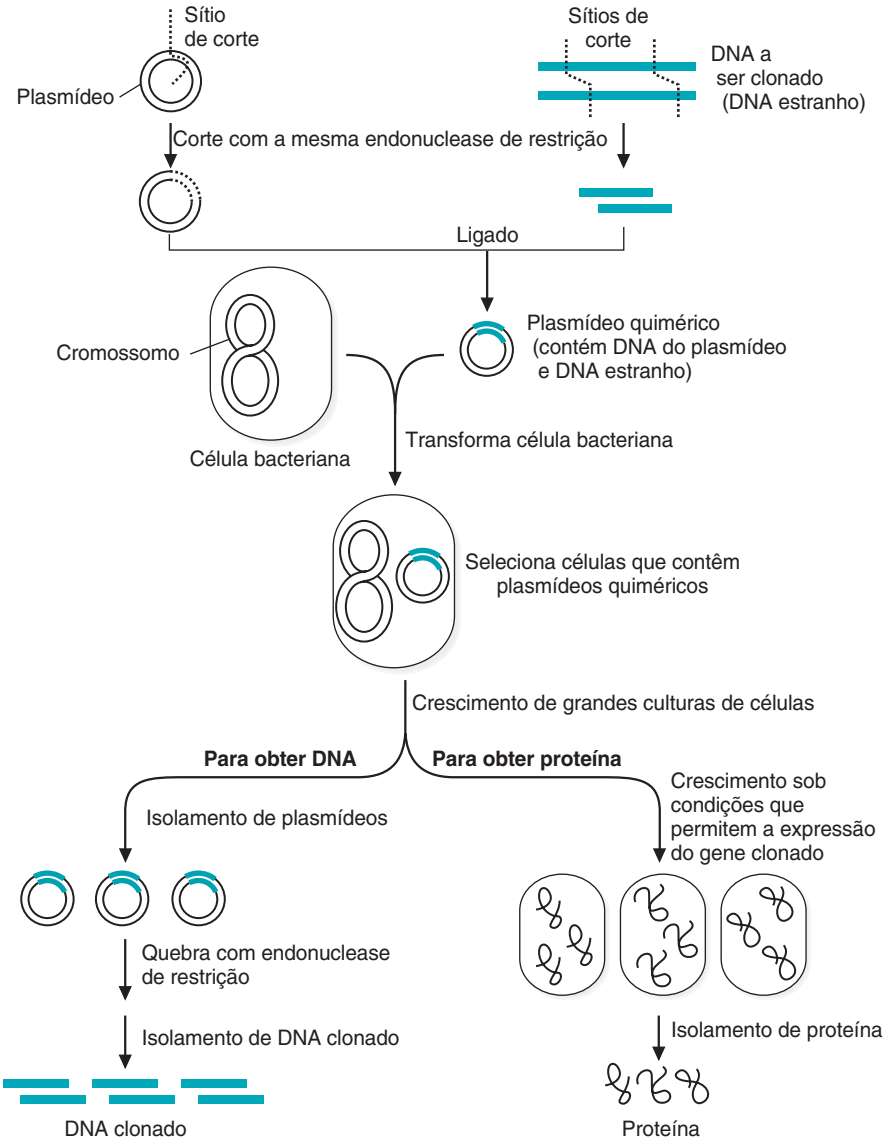


Figura 17.8 Esquema simplificado para a clonagem de DNA em bactérias. Um plasmídeo é um tipo de vetor específico, ou carreador, o qual contém inserções de DNA estranho de até 2,0 kb de tamanho. Para uma melhor compreensão, os tamanhos dos pedaços de DNA não estão desenhados em escala (p. ex., o DNA do cromossomo bacteriano deve ser muito maior do que o plasmídeo de DNA).

2. REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)

A PCR é um método que pode ser utilizado para a produção rápida de quantidades muito grandes de segmentos específicos de DNA. É particularmente adequada para a amplificação de regiões do DNA para procedimentos de teste clínico e forense, pois apenas uma amostra muito pequena de DNA é necessária como material inicial. As regiões do DNA podem ser amplificadas por PCR a partir de um único fio de cabelo ou uma única gota de sangue ou sêmen.

Primeiro, uma amostra de DNA contendo o segmento a ser amplificado deve ser isolada. Grandes quantidades de oligonucleotídeos (iniciadores), os quatro desoxirribonucleotídeos trifosfatados e uma polimerase estável ao calor são adicionados a uma solução na qual o DNA é aquecido para separar as fitas (Figura 17.9). Os iniciadores são oligonucleotídeos sintéticos; um oligonucleotídeo é complementar à seqüência curta em uma fita do DNA a ser amplificado, e o outro é complementar a uma seqüên-



Embora apenas quantidades pequenas de sêmen tenham sido obtidas do corpo de **Vicky Tim**, a quantidade de DNA nesses espécimes poderia ser amplificada por PCR. Essa técnica forneceu quantidades suficientes de DNA para a comparação com as amostras de DNA dos três suspeitos.

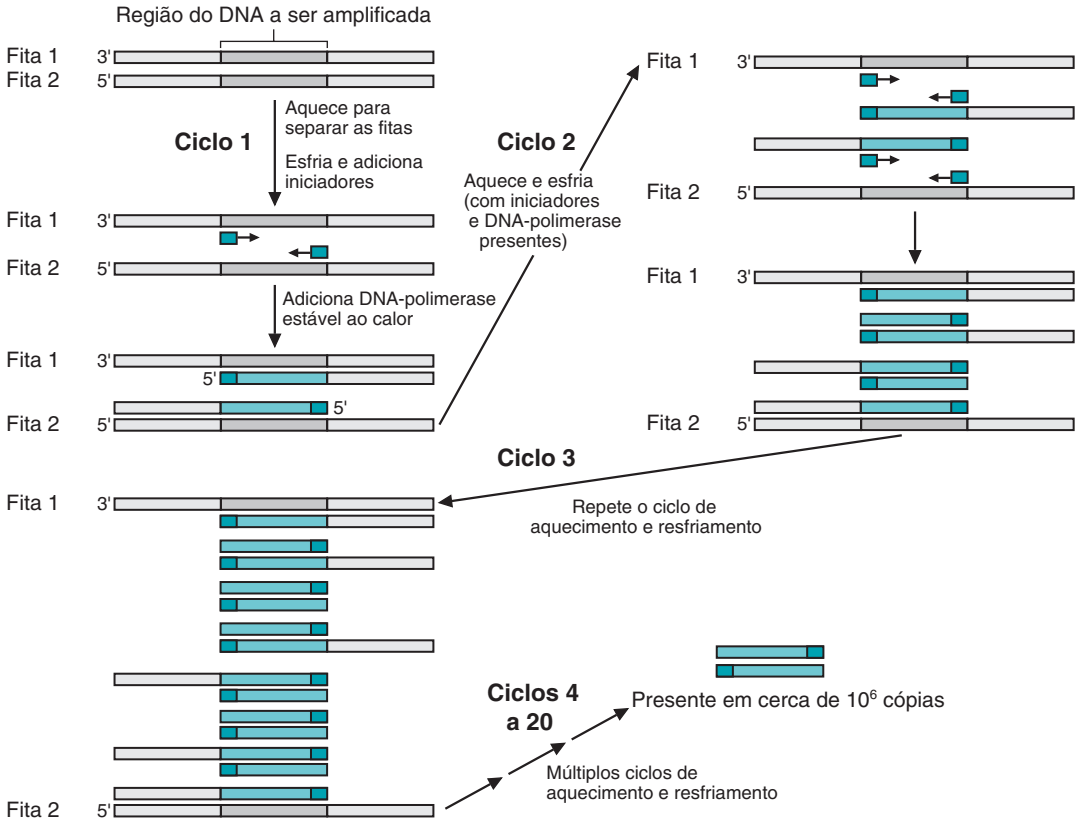


Figura 17.9 Reação em cadeia da polimerase (PCR). A fita 1 e a fita 2 são as fitas de DNA originais. Os fragmentos pequenos em azul-escuro são oligonucleotídeos. Após múltiplos ciclos de aquecimento e resfriamento, as fitas originais permanecem, mas a maioria do DNA consiste em cópias amplificadas do segmento (mostrado em azul mais claro) sintetizado pela DNA-polimerase estável ao calor.

A DNA-polimerase utilizada para PCR é isolada do *Thermus aquaticus*, uma bactéria que cresce em fontes termais. Essa polimerase pode resistir ao calor necessário para a separação de fitas de DNA.

cia em outra fita de DNA. Quando a solução é resfriada, os oligonucleotídeos formam pares de base com o DNA e servem como iniciadores para a síntese de fitas de DNA pela polimerase estável ao calor. O processo de aquecimento, resfriamento e nova síntese de DNA é repetido muitas vezes até que um grande número de cópias de DNA seja obtido. O processo é automatizado, de tal modo que cada ciclo de replicação leva apenas uns poucos minutos, e, em 20 ciclos de aquecimento e resfriamento, o DNA é amplificado em um milhão de vezes.

II. USO DE TÉCNICAS DE DNA RECOMBINANTE PARA O DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS

A. Polimorfismos de DNA

Os polimorfismos são variações nas seqüências de DNA do genoma entre indivíduos de uma espécie. Eles servem como base para a utilização de técnicas de DNA recombinante no diagnóstico de doenças. O genoma humano provavelmente contém milhões de polimorfismos diferentes. Alguns polimorfismos envolvem mutações pontuais, a substituição de uma base por outra. As deleções e as inserções também são responsáveis por variações nas seqüências do DNA. Alguns polimorfismos ocorrem dentro das regiões codificadoras dos genes. Outros são encontrados em regiões não-codificadoras intimamente relacionadas a genes envolvidos na causa de doença hereditária, quando podem ser utilizados como marcadores para a doença.

B. Detecção de Polimorfismos

1. POLIMORFISMOS DE COMPRIMENTO DE FRAGMENTOS DE RESTRIÇÃO

Ocasionalmente, uma mutação pontual ocorre em um sítio de reconhecimento para uma das enzimas de restrição. A enzima de restrição, portanto, pode cortar nesse sítio de restrição no DNA da maioria dos indivíduos, mas não no DNA de indivíduos com essa mutação. Conseqüentemente, o fragmento de restrição que se liga à sonda para essa região do genoma será maior para uma pessoa com a mutação do que para a maioria da população. As mutações também podem criar sítios de restrição que não estão comumente presentes. Nesse caso, o fragmento de restrição para essa região do genoma será menor para uma pessoa com a mutação do que para a maioria dos indivíduos. Essas variações no comprimento dos fragmentos de restrição são conhecidas como polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição (RFLP, do inglês *restriction fragment length polymorphisms*).

Em alguns casos, a mutação que causa a doença afeta um sítio de restrição dentro da região codificadora do gene. Contudo, em muitos casos, a mutação afeta um sítio de restrição que está fora da região codificadora do gene, mas fortemente relacionado (isto é, fisicamente próximo na molécula de DNA) ao gene anormal que causa a doença. Esse RFLP poderia ainda servir de marcador biológico para a doença. Ambos os tipos de RFLP podem ser utilizados em teste genético para determinar se um indivíduo tem a doença.

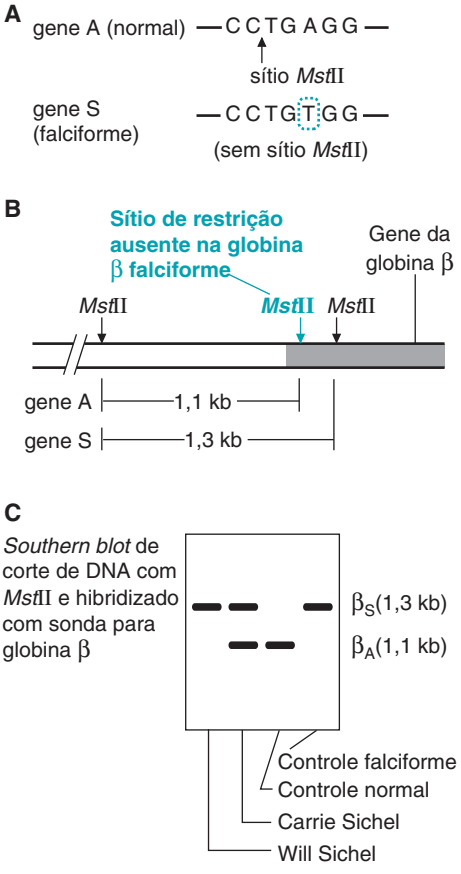
2. DETECÇÃO DE MUTAÇÕES POR SONDAS DE OLIGONUCLEOTÍDEOS ALELO-ESPECÍFICAS

Outras técnicas têm sido desenvolvidas para detectar mutações, devido ao fato de muitas mutações associadas a doenças genéticas não ocorrerem dentro dos sítios de reconhecimento da enzima de restrição ou causarem diferenças detectáveis no comprimento do fragmento de restrição quando digeridas com enzimas de restrição. Por exemplo, as sondas de oligonucleotídeos (contendo 15 a 20 nucleotídeos) que podem ser sintetizadas são complementares a uma seqüência de DNA que inclui uma mutação. Sondas diferentes são produzidas por alelos que contêm mutações e por alelos que têm uma seqüência normal de DNA. A região do genoma que contém o gene anormal é amplificada por PCR, e as amostras de DNA são colocadas em bandas estreitas sobre papel de nitrocelulose (*slot blotting*). O papel é, então, tratado com sonda radioativa para a seqüência normal ou mutante. Os auto-radiogramas indicam se a sonda normal ou a mutante formou pares de base (hibridizou) preferencialmente com o DNA, isto é, se os alelos são normais ou mutantes. Os portadores têm dois alelos diferentes, um que se liga à sonda normal e outro que se liga à sonda mutante.

Como se determina a seqüência de DNA de um gene que contém uma mutação para desenvolver sondas específicas para essa mutação? Inicialmente, o gene causador da doença deve ser identificado. Isso é feito por um processo conhecido como clonagem posicional, a qual envolve relacionar marcadores polimórficos à doença. Os indivíduos que expressam a doença devem conter uma variante específica desses marcadores polimórficos, enquanto os indivíduos que não expressam a doença não têm esses marcadores. Uma vez identificados, os marcadores polimórficos são utilizados como sondas para rastrear a livraria genômica humana. Isso identificará partes do DNA humano contendo o marcador polimórfico. Essas partes de DNA são, então, utilizadas, como sondas para expandir a região do genoma circundando esse marcador. Os genes potenciais dentro dessa região são identificados (utilizando informação disponível a partir do seqüenciamento do genoma humano), e a seqüência de bases dentro de cada gene é comparada com a seqüência de bases nos genes de indivíduos com a doença. O gene que mostra uma seqüência alterada em indivíduos portadores quando comparados com indivíduos normais é o possível gene da doença. Por meio do seqüenciamento de genes de muitas pessoas acometidas com a doença, os tipos de mutações que levam a essa doença podem ser caracterizados, e testes específicos podem ser desenvolvidos para rastrear essas mutações específicas.

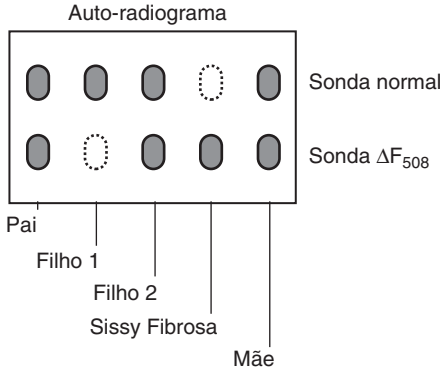
A mutação que causa anemia falciforme anula um sítio de restrição para a enzima *Mst*II no gene da globina β. A conseqüência dessa mutação é que o fragmento de restrição produzido pela *Mst*II que inclui a extremidade 5′ do gene da globina β é maior (1,3 quilobases [kb]) em indivíduos com anemia falciforme do que em indivíduos normais (1,1 kb). A análise de fragmentos de restrição fornece um teste direto para a mutação. No caso de **Will Sichel**, ambos os alelos para a globina β não têm o sítio *Mst*II e produzem fragmentos de restrição de 1,3 kb; assim, apenas uma banda é vista em um *Southern blot*.

Os portadores têm ambos os alelos, normal e mutante. Portanto, seu DNA produzirá ambos os fragmentos de restrição de *Mst*II, maior e menor. Quando a irmã de **Will Sichel**, **Carrie Sichel**, foi testada, foram encontrados ambos os fragmentos de restrição, pequeno e grande, e sua condição como portadora de anemia falciforme, inicialmente estabelecida com base na eletroforese de proteínas, foi confirmada.



Q: O teste para fibrose cística por seqüenciamento de DNA consome tempo e é caro. Portanto, outra técnica que utiliza sondas de oligonucleotídeos alelo-específicas foi desenvolvida. **Sissy Fibrosa** e sua família foram testadas por esse método. As sondas de oligonucleotídeos, complementares à região onde a deleção de três bases está localizada, foram sintetizadas. Uma sonda se liga ao gene mutante (ΔF_{508}) e a outra ao gene normal.

O DNA foi isolado de Sissy, seus pais e dois irmãos e amplificado por PCR. As amostras de DNA foram colocadas (*spotted*) em um papel de nitrocelulose, tratadas com sondas de oligonucleotídeos, e os seguintes resultados foram obtidos (os pontos escuros indicam a ligação da sonda).



Quais dos membros da família de Sissy têm CF, quais são normais, e quais são portadores?

3. TESTAGEM PARA MUTAÇÕES POR PCR

Se um oligonucleotídeo complementar a uma seqüência de DNA contendo uma mutação é utilizado como iniciador para PCR, uma sonda de DNA utilizada como molde será amplificada apenas se contiver a mutação. Se o DNA é normal, o iniciador não hibridizará com ele, e o DNA não será amplificado. Esse conceito é extremamente útil para o teste clínico. De fato, vários oligonucleotídeos, cada um específico para uma mutação diferente e cada um contendo uma marcação diferente, podem ser utilizados como iniciadores em uma única reação de PCR. Esse procedimento resulta em teste rápido e relativamente barato para múltiplas mutações.

4. DETECÇÃO DE POLIMORFISMOS CAUSADOS POR DNA REPETIDO

O DNA humano contém muitas seqüências que são repetidas em *tandem* em um número variável de vezes em certos *loci* do genoma. Essas regiões são chamadas de altamente variáveis, pois contêm um número variável de repetições em seqüência (VNTR, do inglês *variable number of tandem repeats*). A digestão com enzimas de restrição que reconhecem os sítios nas bordas da região VNTR produz fragmentos contendo esses *loci*, os quais se diferenciam em tamanho de um indivíduo para outro, dependendo do número de repetições que está presente. As sondas utilizadas para identificar esses fragmentos de restrição se ligam à seqüência ou próximo a ela, que, então, é repetida (Figura 17.10).

Os padrões de fragmentos de restrição produzidos por esses *loci* podem ser utilizados para identificar indivíduos de forma tão acurada quanto a impressão digital do DNA (*fingerprint)* tradicional. De fato, essa técnica de fragmento de restrição foi chamada de *DNA fingerprinting* e está sendo muito utilizada em análise forense. As

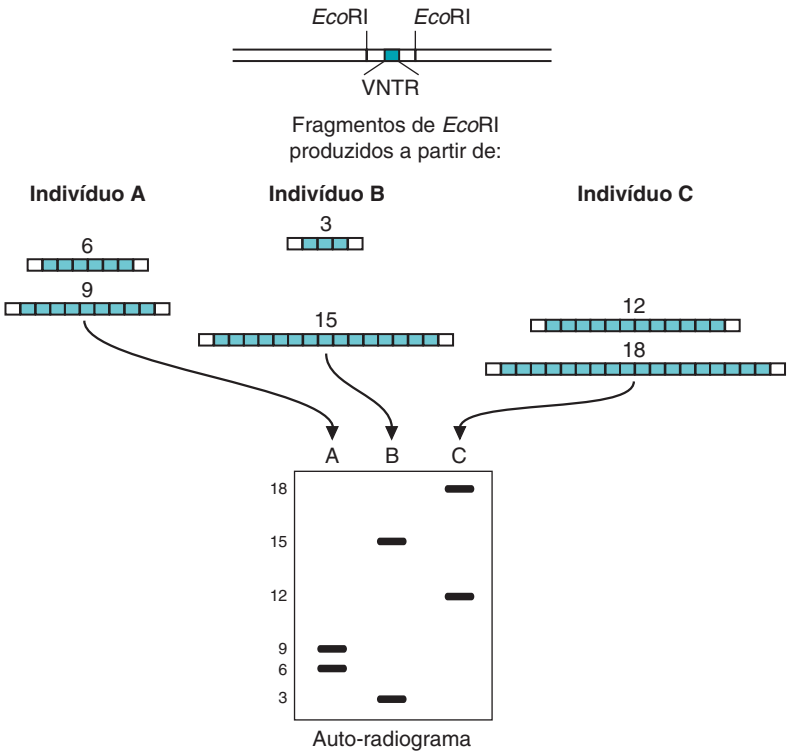
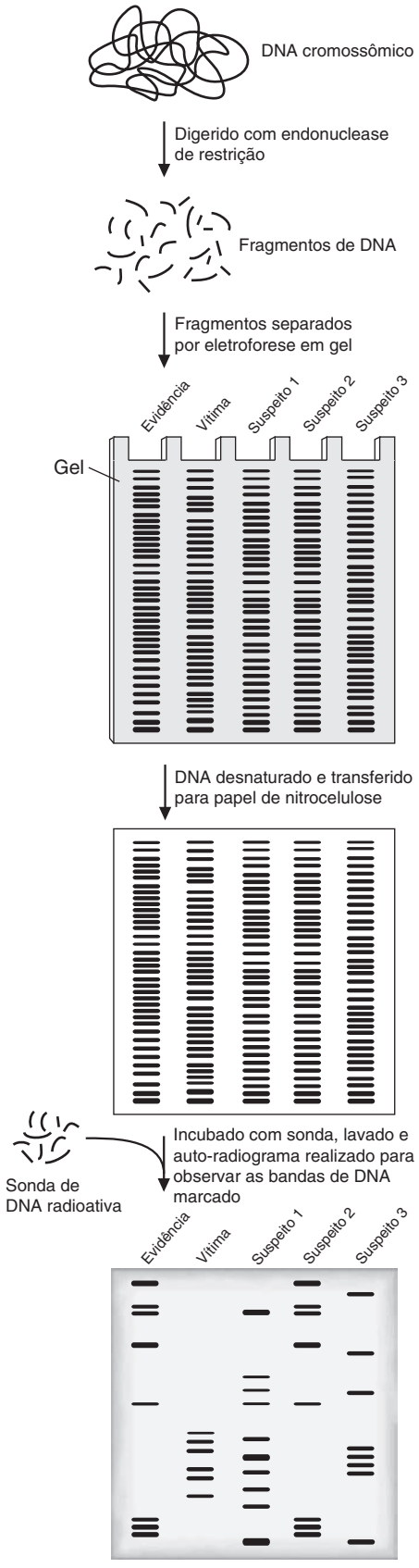


Figura 17.10 Fragmentos de restrição produzidos a partir de um gene com número variável de repetições em seqüência (VNTR). Cada indivíduo tem dois homólogos de cada cromossomo somático e, assim, dois genes, cada um contendo essa região como um VNTR. O corte de cada DNA genômico individual com uma enzima de restrição produz dois fragmentos contendo essa região. O comprimento dos fragmentos depende do número de repetições que eles contêm. A eletroforese separa os fragmentos, e uma sonda marcada que se liga a eles permite que sejam visualizados. Cada bloco curto azul representa uma repetição.



R: Obviamente, o pai e a mãe são ambos portadores do alelo defeituoso, assim como um dos dois irmãos (filho 2). Sissy tem a doença, e o outro irmão (filho 1) é normal.

As amostras de DNA foram obtidas de cada um dos três suspeitos do caso de estupro e assassinato de **Vicky Tim**, e essas três amostras foram comparadas com o DNA da vítima utilizando *DNA fingerprinting*. Como o tamanho da amostra de **Vicky Tim** é pequeno, PCR foi utilizada para amplificar as regiões contendo os VNTRs. Os resultados, utilizando uma sonda para uma das seqüências repetidas no DNA humano, são mostrados a seguir para ilustrar o processo. Para identificação mais positiva, diversas enzimas de restrição e sondas diferentes foram utilizadas. O DNA do suspeito 2 produziu o mesmo padrão de restrição que o DNA do sêmen obtido da vítima. Se outras enzimas de restrição e sondas confirmarem esse achado, o suspeito 2 pode ser identificado por *DNA fingerprinting* como o estuprador/assassino.



A enorme quantidade de informação atualmente disponível a partir do seqüenciamento do genoma humano e os resultados disponíveis dos experimentos com *chip* de genes expandiram muito o campo da Bioinformática. A Bioinformática pode ser definida como obtenção, processamento, armazenamento de dados, análise de dados, extração de informação e visualização de dados biológicos. Também fornece ao cientista a capacidade de organizar vastas quantidades de dados de uma forma gerenciável que permite acesso e recuperação fáceis de informação. Computadores potentes são necessários para realizar essas análises. Como um exemplo de um experimento necessitando dessas ferramentas, suponha que você quer comparar os efeitos de dois fármacos imunossupressores na expressão gênica de linfócitos. Os linfócitos seriam incubados sem o fármaco (controle) ou com o fármaco (amostra experimental). O RNA seria isolado das células durante o tratamento com o fármaco e seria convertido em cDNA fluorescente utilizando a enzima transcriptase reversa e um nucleotídeo análogo fluorescente. O cDNA produzido a partir de suas três amostras seria utilizado como sondas para um *chip* de gene contendo fragmentos de DNA de mais de 5.000 genes humanos. Seria permitido que as amostras hibridizassem com os *chips*, e você teria 15.000 resultados para interpretar (a extensão da hibridização de cada amostra de cDNA com cada um dos 5.000 genes do *chip*). Computadores são utilizados para analisar os pontos fluorescentes nos *chips* e comparar os níveis de intensidade fluorescente de um *chip* com o outro. Dessa maneira, você pode agrupar genes mostrando níveis similares de estimulação ou inibição na presença dos fármacos e comparar os dois fármacos em relação a quais genes têm expressão ativada ou inibida.

relações familiares podem ser determinadas por esse método, que pode ser útil para absolver ou condenar suspeitos em casos criminais.

Os indivíduos que são intimamente relacionados geneticamente têm padrões de fragmentos de restrição (DNA *fingerprints*) mais similares do que aqueles mais distantemente relacionados. Apenas gêmeos monozigotos terão padrões idênticos.

5. *CHIPS* DE DNA (*MICROARRAY*)

Uma técnica recentemente introduzida permitirá o rastreamento de muitos genes para determinar quais alelos desses genes estão presentes nas amostras obtidas de pacientes. A superfície de um pequeno *chip* é pontilhada com milhares de pedaços de DNA de fita simples, cada um representando um gene diferente ou segmento de um gene. O *chip* é, então, incubado com uma amostra do DNA do paciente, e o padrão de hibridização é determinado por análise de computador. Os resultados podem ser utilizados, por exemplo, para determinar qual de muitas mutações conhecidas para uma doença genética é o defeito específico subjacente ao problema de um paciente. O *chip* de genes de um indivíduo também pode ser utilizado para determinar quais os alelos de enzimas metabolizadoras de fármacos estão presentes e, portanto, a probabilidade de o indivíduo ter uma reação adversa a um fármaco em particular.

Outra utilidade do *chip* de DNA é determinar quais genes estão sendo expressos. Se o mRNA de um espécime de tecido é utilizado para produzir um cDNA pela transcriptase reversa, o cDNA hibridizará apenas com os genes que estão sendo expressos nesse tecido. No caso de um paciente com câncer, essa técnica pode ser utilizada para a classificação do câncer muito mais rápida e acuradamente do que os métodos tradicionalmente utilizados por patologistas. O tratamento, então, pode ser adequado de forma mais específica ao paciente. Essa técnica também pode ser utilizada para identificar os genes necessários para a especificidade (p. ex., a diferença entre uma célula muscular e hepática) e a diferenciação do tecido (a conversão de células precursoras em diferentes tipos celulares). Os experimentos utilizando *chips* de genes estão ajudando a compreender a diferenciação e podem oferecer a oportunidade de induzir artificialmente a diferenciação e a regeneração tecidual no tratamento de doenças.

Embora o desenvolvimento dessa tecnologia de DNA ou *biochip* esteja em seu começo, a técnica tem potencial surpreendente para o futuro diagnóstico e o tratamento de doenças.

III. USO DE TÉCNICAS DE DNA RECOMBINANTE PARA A PREVENÇÃO E O TRATAMENTO DE DOENÇA

A. Vacinas

Antes do advento da tecnologia de DNA recombinante, as vacinas eram feitas exclusivamente a partir de agentes infecciosos que tinham sido mortos ou atenuados (alterados de tal maneira que não podiam mais se multiplicar em um indivíduo inoculado). Ambos os tipos de vacinas eram potencialmente perigosos, pois podiam ser contaminados com o agente infeccioso vivo. De fato, em um pequeno número de situações, a doença foi realmente causada por vacinação. O sistema imune humano responde a proteínas antigênicas da superfície de um agente infeccioso. Por meio de técnicas de DNA recombinante, essas proteínas antigênicas podem ser produzidas, completamente livres de agentes infecciosos, e utilizadas em uma vacina. Assim, qualquer risco de infecção é eliminado. A primeira vacina de DNA recombinante de sucesso produzida foi para o vírus da hepatite B.



Quando **Erna Nemdy** começou a trabalhar com pacientes, ela recebeu vacina para hepatite B. O vírus da hepatite B (HBV) infecta o fígado, causando lesão grave. O HBV contém um antígeno de superfície (HBsAg) ou uma capa protéica para a qual o gene foi isolado. Contudo, como a proteína é glicosilada, ela não pode ser produzida em *E. coli* (a bactéria, por não possuir organelas subcelulares, não pode produzir proteínas glicosiladas). Portanto, foi utilizado um sistema de expressão de uma levedura (eucariótica) que produzia uma forma glicosilada da proteína. A proteína viral, separada da pequena quantidade de proteína da levedura, é utilizada como vacina para a imunização contra a infecção por HBV.

B. Produção de Proteínas Terapêuticas

1. INSULINA E HORMÔNIO DO CRESCIMENTO

As técnicas de DNA recombinante são utilizadas para produzir proteínas que têm propriedades terapêuticas. Uma das primeiras proteínas a ser produzida foi a insulina humana. O DNA recombinante correspondente à cadeia A da insulina humana foi preparado e inserido em plasmídeos que foram utilizados para transformar as células de *E. coli*. A bactéria, então, sintetizou a cadeia de insulina, a qual foi purificada. Um processo similar foi utilizado para obter cadeias B. As cadeias A e B foram, então, misturadas, e permitiu-se que elas se dobrassem e formassem pontes dissulfeto, produzindo moléculas de insulina ativa (Figura 17.11). A insulina não é glicosilada, assim não houve problema com diferenças na atividade da glicosiltransferase entre os tipos de células da *E. coli* e de humanos.

O hormônio do crescimento também tem sido produzido em *E. coli* e utilizado para tratar crianças com deficiências de crescimento. Antes da produção de hormônio do crescimento recombinante, era utilizado hormônio do crescimento isolado do tecido da hipófise de cadáveres, em pequena quantidade.

2. PROTEÍNAS HUMANAS COMPLEXAS

Proteínas mais complexas têm sido produzidas em cultura de células de mamíferos utilizando-se a técnica de DNA recombinante. O gene para o Fator VIII, uma proteína envolvida na coagulação sangüínea, está defeituoso em indivíduos com hemofilia. Antes de o Fator VIII produzido por engenharia genética estar disponível, vários pacientes hemofílicos que contraíram AIDS ou hepatite por meio de transfusões de sangue contaminado ou de Fator VIII isolado de sangue contaminado morreram.

O ativador do plasminogênio tecidual (TPA, do inglês *tissue plasminogen activator*) é uma protease no sangue que converte plasminogênio em plasmina. A plasmina é uma protease que quebra fibrina (um componente principal dos coágulos sangüíneos), e, assim, a administração de TPA dissolve os coágulos sangüíneos. O TPA recombinante, produzido em cultura de células de mamíferos, é administrado com freqüência durante ou imediatamente após um infarto do miocárdio para dissolver os trombos que ocluem as artérias coronarianas e impedem que o oxigênio chegue ao músculo cardíaco.

Fatores de crescimento hematopoiéticos também têm sido produzidos em culturas de células de mamíferos por técnicas de DNA recombinante. A eritropoietina pode ser utilizada em certos tipos de anemias para estimular a produção de células sangüíneas vermelhas. Os fatores estimulantes de colônia (CSF, do inglês *colony-stimulating factors*) e as interleucinas (IL) podem ser utilizados após transplantes de medula óssea e após quimioterapia para estimular a produção de células sangüíneas brancas e diminuir o risco de infecção.

O interferon β recombinante é o primeiro fármaco conhecido que diminui a freqüência e a gravidade dos episódios resultantes dos efeitos da desmielinização em pacientes com esclerose múltipla.

Um método para a produção de proteínas humanas que está sendo testado envolve animais transgênicos. Esses animais (em geral cabras ou ovelhas) têm sido submetidos a engenharia genética para produzir proteínas humanas na glândula mamária e secretá-las no leite. O gene de interesse é submetido a engenharia genética para conter um promotor que só é ativo nas glândulas mamárias sob condições de lactação. O vetor contendo o gene e o promotor é inserido no núcleo de um ovo recém-fertilizado, o qual é implantado, então, em uma mãe hospedeira. A prole feminina do animal é testada para a presença desse gene modificado, e o leite dos animais positivos é coletado. Grandes quantidades da proteína de interesse podem ser isoladas do número relativamente pequeno de proteínas presentes no leite.

C. Aconselhamento Genético

Uma maneira de prevenir doenças é evitar que genes defeituosos sejam passados para os filhos. Se indivíduos são testados para doenças genéticas, particularmente em famílias conhecidas por serem portadoras do gene defeituoso, conselheiros genéticos po-



Di Abietes está utilizando uma insulina humana recombinante chamada de lispro (Humalog) (ver Capítulo 6, Figura 6.13). A lispro foi submetida a engenharia genética de tal modo que a lisina está na posição 28 e a prolina na posição 29 da cadeia B (o inverso de suas posições na insulina humana normal). Di Abietes injeta uma mistura de Humalog que contém 75% de suspensão de lispro protamina (ação intermediária) e 25% de solução de lispro (ação rápida). A troca de posição dos dois aminoácidos leva a uma ação mais rápida do homólogo da insulina. A lispro é absorvida a partir do local de injeção e age para baixar os níveis de glicose muito mais rapidamente do que as outras formas de insulina.

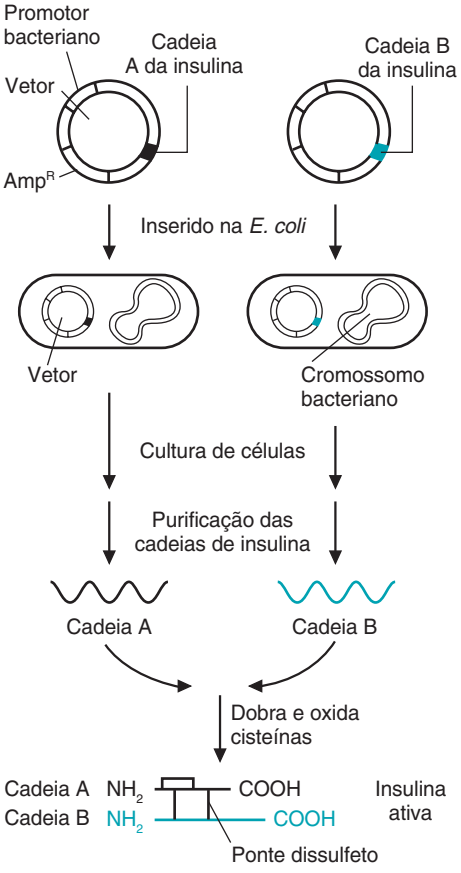


Figura 17.11 Produção de insulina humana em *E. coli*. Amp^R = o gene para a resistência à ampicilina. A presença de Amp^R permite que as células bacterianas que contêm o vetor cresçam na presença de ampicilina. As células sem o gene Amp^R morrem na presença de ampicilina. Como a *E. coli* não pode processar pró-insulina, um esquema sintético foi desenvolvido onde cada cadeia individual da insulina é expressa, produzida, purificada, e, então, as duas cadeias são unidas juntas em um tubo de ensaio.

O noivo de **Carrie Sichel** decidiu fazer o teste para o gene da anemia falciforme. Ele tem os fragmentos de restrição de *Mst*II 1,3 kb e 1,1 kb que incluem a porção do gene da globina β. Portanto, como Carrie, ele também é um portador do gene falciforme.

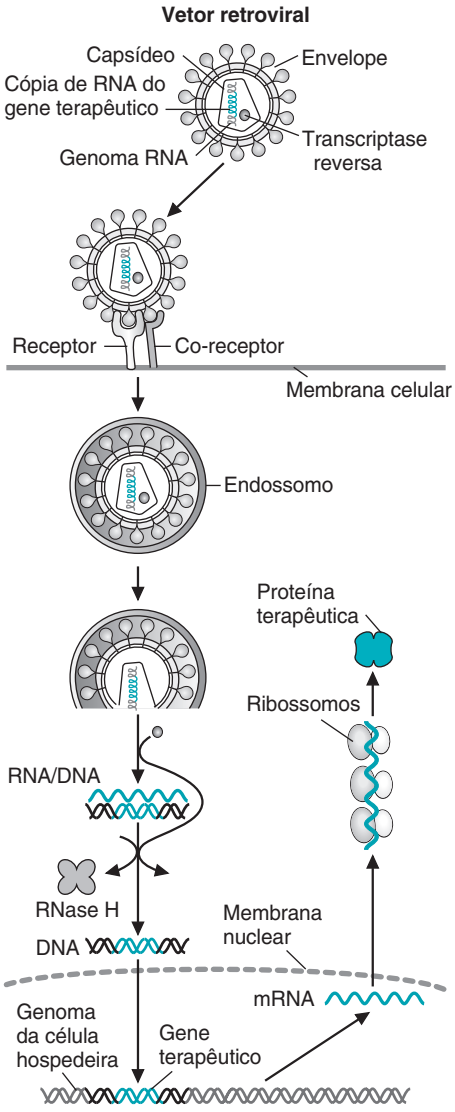


Figura 17.12 Uso de retrovírus para terapia gênica. O retrovírus carrega uma cópia de RNA do gene terapêutico para dentro da célula. O endossomo que contém o vírus se dissolve, e o RNA e a transcriptase reversa do vírus são liberados. Essa enzima copia o RNA, fazendo um DNA de dupla fita que se integra ao genoma da célula hospedeira. A transcrição e a tradução desse DNA (o gene terapêutico) produzem a proteína terapêutica (o vírus não se multiplica, pois seus genes foram removidos e substituídos por cópia do RNA do gene terapêutico).

dem informá-los de seus riscos e opções. Com essa informação, os indivíduos podem decidir com antecedência se querem ou não ter filhos.

Os testes de rastreamento, com base nas técnicas de DNA recombinante destacadas neste capítulo, foram desenvolvidos para muitas doenças. Embora esses testes ainda sejam caros, particularmente se famílias inteiras devem ser rastreadas, o custo pode ser trivial se comparado com a carga de criar uma criança com muitas deficiências. Obviamente, considerações éticas devem ser levadas em conta, mas a tecnologia de DNA recombinante oferece aos indivíduos a oportunidade de fazer escolhas.

O rastreamento pode ser realizado prospectivamente nos pais antes da concepção. Se eles decidem conceber, o feto pode ser testado para os defeitos genéticos. Em alguns casos, se o feto tem o defeito, o tratamento pode ser instituído em um estágio precoce, mesmo no útero. Para certas doenças, a terapia precoce leva a um resultado mais positivo.

D. Terapia Gênica

A cura definitiva para as doenças genéticas é introduzir genes normais em indivíduos que têm genes defeituosos. Atualmente, a terapia gênica está sendo testada em animais, cultura de células e humanos. Não é possível no momento substituir um gene defeituoso por um gene normal na sua localização usual no genoma das células apropriadas. Contudo, enquanto o gene é expresso no momento apropriado e produz quantidades adequadas de proteína para que a pessoa retorne ao estado normal, não precisa se integrar na localização precisa no genoma. Algumas vezes, o gene não precisa nem mesmo estar nas células nas quais normalmente estaria.

Os retrovírus foram os primeiros vetores utilizados para introduzir genes em células humanas. Normalmente, os retrovírus entram nas células-alvo, seu genoma de RNA é copiado por transcriptase reversa, e a cópia de DNA de dupla fita é integrada ao genoma da célula hospedeira (ver Figura 14.22). Se os genes retrovirais (p. ex., *gag*, *pol* e *env*) são primeiro removidos e substituídos pelo gene terapêutico, os genes retrovirais integrados no genoma da célula hospedeira produzirão a proteína terapêutica em vez das proteínas virais (Figura 17.12). Esse processo funciona apenas quando as células hospedeiras humanas estão sofrendo divisão; então, ele tem aplicabilidade limitada. Outros problemas com essa técnica são que ela só pode ser utilizada para genes pequenos (8 kb) e pode perturbar outros genes devido ao fato de o ponto de inserção ser aleatório, possivelmente resultando em câncer.

Um defeito no gene da adenosina-desaminase (ADA) causa síndrome de imunodeficiência combinada grave (SCID, do inglês *severe combined immunodeficiency syndrome*). Quando o gene da ADA está defeituoso, desoxiadenosina e dATP se acumulam em células se dividindo rapidamente, como os linfócitos, e são tóxicos para essas células. As células do sistema imune não podem proliferar em uma velocidade normal, e crianças com SCID em geral morrem em uma idade precoce, pois não podem combater infecções. Para sobreviver, elas devem ficar confinadas a uma "bolha" ambiental estéril. Quando um doador apropriado está disponível, o transplante de medula óssea pode ser realizado com um grau razoável de sucesso.

Em 1990, uma menina de 4 anos, para a qual nenhum doador estava disponível, foi tratada com seus próprios linfócitos que tinham sido tratados com um retrovírus contendo um gene ADA normal. Embora ela não tenha respondido à terapia prévia, ela melhorou de forma significativa após essa tentativa de terapia gênica. Essa doença ainda está sendo tratada com terapia gênica em combinação com complementação com infusão de enzima.

Na hipercolesterolemia familiar, uma condição associada à alta incidência de infarto do miocárdio, o receptor da lipoproteína de baixa densidade (LDL) está com expressão diminuída. As tentativas de corrigir esse defeito com terapia gênica envolviam a remoção de um segmento do fígado e a preparação de hepatócitos que tinham crescido em cultura de tecido. Após essas células em divisão serem infectadas com retrovírus contendo o gene para o receptor de LDL, elas eram reinfundidas na veia porta do paciente. Os esforços iniciais utilizando essa abordagem tiveram apenas sucesso limitado.

Os adenovírus, os quais são patógenos naturais para seres humanos, também podem ser utilizados como vetores. Como na terapia gênica retroviral, os genes normais do vírus necessários para a síntese de partículas virais são substituídos por genes terapêuticos. As vantagens de utilizar adenovírus são que o gene introduzido pode ser muito grande (~36 kb), e a infecção não necessita de divisão de células hospedeiras. A desvantagem é que os genes carregados pelo adenovírus não integram de forma estável o genoma hospedeiro, resultando apenas em expressão transitória das proteínas terapêuticas (mas impedindo a ruptura dos genes hospedeiros). Assim, o tratamento deve ser repetido periodicamente. Outro problema com a terapia gênica adenoviral é que o hospedeiro monta uma resposta imune ao adenovírus patogênico, causando complicações.

Para evitar os problemas associados aos vetores virais, os pesquisadores estão empregando tratamento com o DNA isolado ou com o DNA coberto com uma camada de lipídeo (isto é, em lipossomos). Adicionar um ligante para um receptor localizado na célula-alvo poderia auxiliar o direcionamento dos lipossomos para as células hospedeiras apropriadas. Muitos problemas ainda afligem o campo da terapia gênica. Em muitos casos, os genes terapêuticos devem ser dirigidos para as células onde eles funcionam normalmente – uma tarefa difícil no momento. As deficiências em genes dominantes são mais difíceis de tratar do que aquelas em genes recessivos, e a expressão de genes terapêuticos com freqüência precisa ser cuidadosamente regulada. Embora o campo esteja avançando, o progresso é lento.

Outra abordagem da terapia gênica envolve o uso de oligonucleotídeos *antisense* em vez de vetores. Esses oligonucleotídeos são desenhados para hibridizar com o gene-alvo e impedir a sua transcrição ou, ainda, com o mRNA para impedir a tradução. De novo problemas técnicos têm afligido o desenvolvimento de terapia com base nessa idéia teoricamente promissora.

E. Animais Transgênicos

A introdução de genes normais em células somáticas com genes defeituosos corrige o defeito apenas nos indivíduos tratados, não em sua prole. Para eliminar o defeito em gerações futuras, os genes normais devem ser introduzidos na linhagem de células germinativas (as células que produzem o espermatozóide nos machos e os ovos nas fêmeas). Experimentos com animais indicam que a terapia gênica em células germinativas é possível. Os genes podem ser introduzidos em ovos fertilizados a partir dos quais animais transgênicos se desenvolvem, e esses animais podem produzir uma prole aparentemente normal.

De fato, se o núcleo isolado da célula de um animal é injetado no ovo enucleado de outro animal da mesma espécie, e o ovo é implantado em uma mãe hospedeira, a prole resultante é um "clone" do animal a partir do qual o núcleo foi derivado (Figura 17.13). Clones de ovelhas e porcos têm sido produzidos, e técnicas similares poderiam ser utilizadas para clonar humanos. Obviamente, esses experimentos levantam questões éticas que serão difíceis de responder.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Erna Nemdy. Lendo sobre o desenvolvimento da vacina para a hepatite B, **Erna Nemdy** aprendeu que a primeira vacina disponível para HBV, comercializada em 1982, era uma vacina contendo o vírus HBV purificado e "inativado" que havia sido quimicamente morto. O vírus era derivado do sangue de carreadores de HBV conhecidos. Mais tarde, foram utilizadas as vacinas "atenuadas", nas quais os vírus permaneciam vivos, mas eram alterados de tal forma que não mais se multiplicavam no hospedeiro inoculado. Ambas as vacinas inativadas e inoculadas são potencialmente perigosas, pois podem estar contaminadas com HBV infeccioso vivo.

As vacinas de "subunidade" modernas, comercializadas pela primeira vez em 1987, eram feitas pelas técnicas de DNA recombinante descritas anteriormente neste capítulo. Como essa vacina consiste apenas em proteínas da superfície viral ou antígeno ao qual o sistema imune responde, não há risco de infecção com HBV.

Vetores adenovirais têm sido utilizados em aerossóis para transportar cópias normais do gene do CFTR (regulador da condutância transmembrana da fibrose cística) para as células dos pulmões. Algumas células captam esse gene, e os pacientes têm uma melhora moderada. Contudo, a integração estável do gene no genoma não ocorre, e as outras células afetadas pela doença que não as dos pulmões (p. ex., células pancreáticas) não se beneficiam. Todavia, essa abordagem marcou um avanço importante no desenvolvimento da terapia gênica.

Em uma tentativa de tratar a deficiência de ornitina-transcarbamoiltransferase (um distúrbio do metabolismo do nitrogênio) utilizando vetores adenovirais, um voluntário morreu devido a uma resposta imune grave ao vetor. Esse resultado infeliz levou à reavaliação da segurança de vetores virais para a terapia gênica.

Uma abordagem à terapia gênica *in vivo* envolve a injeção direta de DNA para certos antígenos HLA em melanomas malignos (câncer de pele). O gene HLA escolhido para a terapia não deveria ser aquele expresso pelo paciente. Assim, se o gene é incorporado nas células e expresso, o corpo deve reconhecer as células tumorais como tecido estranho e montar um ataque imune. Os resultados preliminares utilizando essa estratégia foram encorajadores.

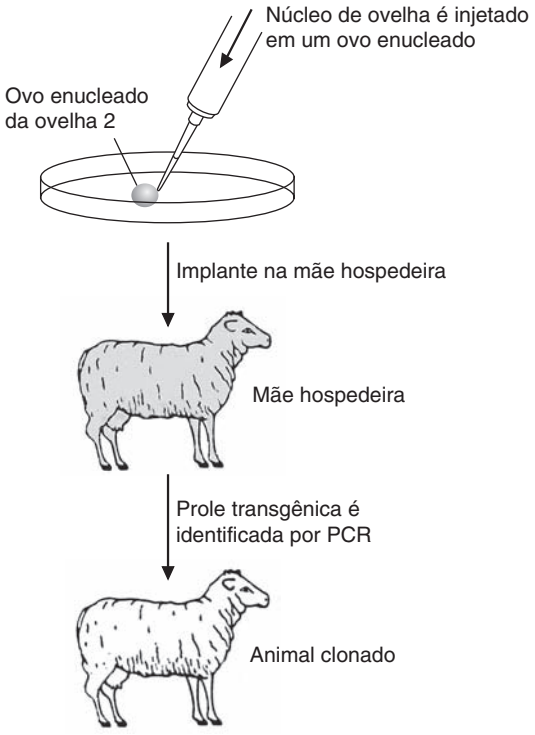


Figura 17.13 Clonagem de organismo mamífero.

A mutação mais comum da CF é uma deleção de 3 pb que causa a perda de fenilalanina na posição 508 (ΔF_{508}). Essa mutação está presente em mais de 70% dos pacientes com CFTR. A proteína defeituosa é sintetizada no retículo endoplasmático, mas está desdobrada. Ela não é, portanto, transportada para o Golgi, mas é degradada por um complexo de enzima proteolítica chamado de proteossomo. Outras mutações responsáveis por CF produzem um mRNA incompleto, devido a sinais de parada prematuros, deslocamento de estruturas de leitura ou sítios de *splice* anormais, ou criam um canal de CFTR na membrana que não funciona apropriadamente.

Sissy Fibrosa. A fibrose cística (CF) é uma doença autossômica recessiva geneticamente determinada que pode ser causada por uma variedade de mutações dentro do gene CF localizado no cromossomo 7. Demonstrou-se que **Sissy Fibrosa** tem uma deleção de 3 pb no resíduo 508 do gene CF (a mutação presente em aproximadamente 70% dos pacientes brancos com CF nos Estados Unidos). Essa mutação em geral está associada a uma evolução clínica mais grave do que as outras mutações que causam a doença. Contudo, outros genes e fatores ambientais podem modificar a evolução clínica da doença. Dessa forma, atualmente não é possível aconselhar com segurança os pacientes sobre o prognóstico com base no seu genótipo.

A CF é uma doença genética relativamente comum nos Estados Unidos, com uma taxa de carreadores de aproximadamente 5% em brancos. A doença ocorre em 1 para 1.600 a 2.000 nascimentos de brancos no país (1 por 17.000 em afro-americanos e 1 para 100.000 em asiáticos).

Carrie Sichel. Após receberem os resultados dos testes para o gene falciforme, **Carrie Sichel** e o noivo consultaram um conselheiro genético. O conselheiro informou que, devido ao fato de ambos serem portadores do gene falciforme, a chance de terem uma criança com anemia falciforme era consideravelmente alta (aproximadamente 1 em 4). Ele disse também que a testagem pré-natal estava disponível com DNA fetal obtido de células por amniocentese ou amostragem de vilo coriônico. Se os testes indicassem que o feto tem doença falciforme, o abortamento seria uma possibilidade. Carrie, devido a suas raízes religiosas, não estava segura se o abortamento seria uma opção para ela. Contudo, o fato de ter testemunhado as crises falciformes de seu irmão por muitos anos também não a deixava segura sobre querer correr o risco de ter uma criança com a doença. Seu noivo também achou que, aos 25 anos, ele não estava pronto para lidar com problemas tão difíceis. Eles decidiram, então, cancelar os planos de casamento.

Vicky Tim. O *DNA fingerprinting* (impressão digital de DNA) representa um importante avanço na medicina forense. Antes do desenvolvimento dessa técnica, a identificação de criminosos era bem menos científica. Os suspeitos

no estupro e no assassinato de **Vicky Tim** foram presos e condenados principalmente com base nos resultados da análise por *DNA fingerprint*.

Essa técnica tem sido questionada em algumas cortes com base em problemas técnicos na interpretação estatística dos dados e na coleta das amostras. É absolutamente necessário que haja um controle apropriado, incluindo as amostras do DNA da vítima bem como do DNA dos suspeitos. Outro questionamento ao procedimento de *DNA fingerprinting* foi levantado, pois a PCR é uma técnica tão poderosa que pode amplificar quantidades mínimas de DNA contaminante de uma fonte não-relacionada ao caso.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



Mapeamento do Genoma Humano. O Projeto do Genoma Humano iniciou em 1990, e no verão de 2000 todo o genoma humano tinha sido mapeado. Esse feito foi conseguido em tempo muito menor do que o esperado como resultado de interações de cooperação e competição dos laboratórios no setor público e privado.

O genoma humano contém mais de 3 x 10^9 (3 bilhões) de pares de bases (pb). Uma grande porcentagem desse genoma (< 95%) não codifica para seqüências de aminoácidos de proteínas ou RNA funcional (como rRNA ou tRNA), mas é composta de seqüências repetidas, íntrons e outros elementos não-codificadores de função desconhecida. É estimado que o genoma humano contenha apenas cerca de 30.000 a 50.000 genes.

Como o anúncio da identificação de um gene alterado aparece no telejornal matinal, o cidadão comum espera que a cura de doenças genéticas seja descrita no telejornal vespertino. Embora o conhecimento da localização cromossômica e da seqüência de genes resulte no desenvolvimento rápido de testes para determinar se os indivíduos carregam um gene defeituoso, o desenvolvimento de um tratamento para o distúrbio genético causado pelo gene defeituoso não será tão fácil ou tão rápido. Como destacado na seção de terapia gênica, muitos problemas técnicos precisam ser solucionados antes que a terapia gênica se torne comum. Além de resolver os quebra-cabeças moleculares envolvidos na terapia gênica, nós também teremos que lidar com muitas questões difíceis.

É apropriado substituir genes defeituosos em células somáticas para aliviar o sofrimento humano? Muitas pessoas podem concordar com esse objetivo. Contudo, há uma questão relacionada: é apropriado substituir genes defeituosos em células germinativas para aliviar o sofrimento humano? Poucas pessoas podem concordar com esse objetivo. A manipulação genética de células somáticas afeta apenas uma geração; essas células morrem com o indivíduo. As células germinativas, contudo, sobrevivem, produzindo cada geração sucessiva.

As técnicas desenvolvidas para explorar o genoma humano podem ser utilizadas para muitos propósitos. Quais são os limites para a aplicação do conhecimento ganho com os avanços na biologia molecular? Quem deve decidir quais são os limites, e quem deve funcionar como polícia genética? Se forem permitidos experimentos que envolvam a manipulação genética de linhagens de células germinativas humanas, embora de concepção nobre, isso poderia, em "esforços" para uma melhora, levar a raça humana à extinção por meio da engenharia genética?



Quais são as questões estatísticas relacionadas ao *DNA fingerprinting*? Por meio da análise de 1.000 indivíduos de etnias diferentes, pode-se determinar a freqüência de um polimorfismo de DNA específico dentro de uma população distinta. Correspondendo quatro ou cinco polimorfismos de DNA na cena do crime com o DNA de um suspeito, pode-se determinar as chances de essa correspondência ocorrer ao acaso. Por exemplo, vamos assumir que o DNA de um suspeito foi comparado com o DNA encontrado na cena de um crime para um único polimorfismo dentro do grupo étnico do suspeito. A freqüência do polimorfismo A nesta população é 1 em 20; do polimorfismo B, 1 em 30; do polimorfismo C, 1 em 50, e do polimorfismo D, 1 em 100. A chance de o DNA do suspeito corresponder ao DNA encontrado na cena do crime para todos os quatro polimorfismos seria o produto de cada probabilidade individual, ou (1/20) x (1/30) x (1/50) x (1/100). Isso resulta em 1 em 3 milhões de chances que um indivíduo tenha os mesmos polimorfismos em seu DNA do que aquele encontrado na cena do crime. A questão deixada para a corte é se a chance de 1 em 3 milhões é suficiente para condenar o suspeito do crime. Dado que pode haver 30 milhões de indivíduos nos Estados Unidos dentro do mesmo grupo étnico que o suspeito, haveria então 30 pessoas dentro do país que corresponderiam ao polimorfismo de DNA encontrado na cena do crime. Pode a corte estar certa de que o suspeito é o indivíduo correto? Evidentemente, o uso de *DNA fingerprinting* é muito mais claro quando uma correspondência não é feita, pois indica imediatamente que o suspeito não estava na cena do crime.

Leituras Sugeridas

Housman D. DNA on trial – the molecular basis of DNA fingerprinting. N EngI J Med 1995; 332:534-535.

Trent RJ. Molecular Medicine. New York: Churchill Livingstone, 1993.

Watson JD, Gilman M, Witkowski J, ZolIer M. Recombinant DNA. 2nd Ed. New York: Scientific American Books, WH Freeman, 1992.

Gelehrter TD, Collins FS, Ginsburg D. Principles of Medical Genetics. 2nd Ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998.

Welsh MJ. Cystic Fibrosis. Chapter 76. In: Goldman L, Bennett JC, eds. Cecil Textbook of Medicine. 21st Ed, Volume 1, pp 401-405. Philadelphia: WB Saunders, 2000.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 17

1. A eletroforese separa os fragmentos de dupla fita de DNA com base em qual das seguintes opções?

   (A) Seqüência
   (B) Peso molecular
   (C) Ponto isoelétrico
   (D) Freqüência de repetições CTG
   (E) Estrutura secundária

2. Se uma enzima de restrição reconhece uma seqüência de seis bases, com que freqüência, em média, essa enzima cortará um pedaço grande de DNA?

   (A) Uma vez a cada 16 bases
   (B) Uma vez a cada 64 bases
   (C) Uma vez a cada 256 bases
   (D) Uma vez a cada 1.024 bases
   (E) Uma vez a cada 4.096 bases

3. Qual dos seguintes grupos de reagentes é necessário para a síntese de cadeia de DNA didesoxi na técnica de seqüenciamento de Sanger?

   (A) Desoxirribonucleotídeos, Taq polimerase, iniciador de DNA
   (B) Didesoxirribonucleotídeos, desoxirribonucleotídeos, molde de DNA
   (C) Didesoxirribonucleotídeos, iniciador de DNA, transcriptase reversa
   (D) Dois iniciadores de DNA, molde de DNA, Taq polimerase
   (E) mRNA, didesoxinucleotídeos, transcriptase reversa

4. Qual das seguintes afirmações descreve corretamente uma característica da eletroforese de DNA?

   (A) Os fragmentos maiores de DNA migram mais longe no gel.
   (B) Os fragmentos de DNA migram em direção à carga negativa (ânodo).
   (C) O DNA pode ser visualizado utilizando-se luz UV e brometo de etídeo.
   (D) O DNA genômico humano total cortado por endonuclease de restrição específica produzirá três bandas distintamente separadas.
   (E) O DNA deve ser desnaturado antes de correr no gel.

5. O melhor método para determinar se a albumina é transcrita no fígado de um modelo de hepatocarcinoma em rato é qual dos seguintes?

   (A) Rastreamento de biblioteca genômica
   (B) *Southern blot* genômico
   (C) *Northern blot* de tecido
   (D) *Western blot* de tecido
   (E) Análise de VNTR

18 A Biologia Molecular do Câncer

O termo câncer se aplica a um grupo de doenças nas quais as ***células crescem anormalmente*** *e formam um* ***tumor maligno****. As células malignas podem invadir os tecidos vizinhos e* ***metastatizar*** *(isto é, viajam para outros locais no corpo, onde estabelecem áreas de crescimento secundárias). Esse padrão de crescimento aberrante resulta de* ***mutações em genes que regulam a proliferação, a diferenciação e a sobrevivência de células*** *em organismos multicelulares. Devido a essas alterações genéticas, as células cancerosas não respondem mais ao controle de crescimento das células normais (Figura 18.1).*

Oncogenes e Genes Supressores de Tumor*. Os genes envolvidos no desenvolvimento de câncer são classificados como* ***oncogenes*** *ou* ***genes supressores de tumor****. Os oncogenes são derivados mutados de genes normais (****proto-oncogenes****) cuja função é promover a proliferação ou a sobrevivência celular. Esses genes podem codificar para* ***fatores de crescimento, receptores de fator de crescimento, proteínas de transdução de sinal, quinases intracelulares e fatores de transcrição****. O processo de transformação em uma célula maligna pode iniciar com uma mutação de "****ganho de função****" em apenas uma das cópias do proto-oncogene. Quando a célula mutada prolifera, mutações adicionais podem ocorrer. Os* ***genes supressores de tumor*** *(genes supressores de crescimento normal) codificam proteínas que* ***inibem a proliferação****,* ***promovem a morte celular*** *ou* ***reparam DNA****; ambos os alelos precisam estar inativados para a transformação (****uma perda de função****). Os genes supressores de crescimento têm sido chamados de guardiões da célula.*

Supressão do Ciclo Celular e Apoptose*. O crescimento celular normal depende de uma regulação balanceada da progressão do ciclo celular e* ***apoptose*** *(morte celular programada) por proto-oncogenes e genes supressores de crescimento. Em* ***pontos de checagem*** *no* ***ciclo celular****, os produtos dos* ***genes supressores de tumor*** *tornam lento o crescimento em resposta a sinais do ambiente celular, incluindo fatores externos de inibição de crescimento, ou para dar tempo para o reparo de DNA lesado, ou em resposta a outras circunstâncias adversas nas células. Alternativamente, as células com DNA lesado são direcionadas para apoptose de tal modo que não proliferam. Muitas rotas estimuladoras de crescimento envolvendo proto-oncogenes, e controles inibidores de crescimento envolvendo uma variedade de genes supressores de tumor, convergem para regular a atividade de algumas proteína-quinases-chave, as* ***quinases dependentes de ciclinas****. Essas quinases agem para controlar a progressão em pontos específicos do ciclo de crescimento celular. A apoptose é iniciada por* ***ativação do receptor de morte*** *ou por sinais intracelulares levando à liberação da* ***proteína mitocondrial, citocromo c****.*

Mutações*. As mutações no DNA que resultam em câncer podem ser herdadas ou causadas por* ***carcinógenos químicos, radiação, vírus*** *e por* ***erros de replicação*** *que não são reparados. Uma população celular deve acumular* ***múltiplas mutações*** *para transformação em células malignas.*

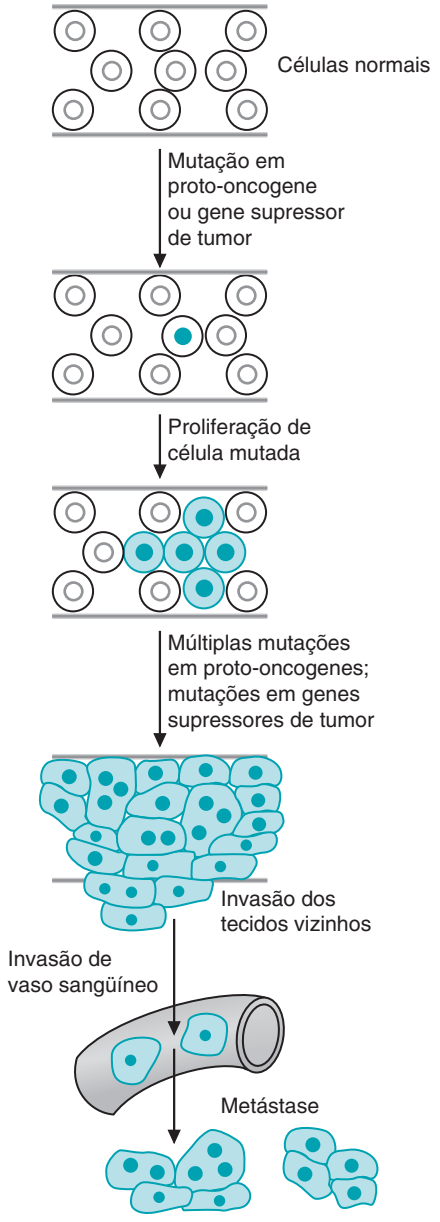


Figura 18.1 Desenvolvimento de câncer. O acúmulo de mutações em diversos genes resulta em transformação. As células cancerosas se alteram morfologicamente, proliferam, invadem outros tecidos e metastatizam.



SALA DE ESPERA

Os pacientes com leucemia têm uma variedade de manipulações hemorrágicas (sangramento) causadas por um número diminuído de plaquetas. As plaquetas são pequenas células que iniciam a formação de coágulo no local de lesão endotelial. Devido à proliferação descontrolada de células brancas dentro do espaço limitado da medula, as células precursoras de plaquetas normais (os megacariócitos) na medula são amassadas ou ficam amontoadas e falham em se desenvolver em plaquetas maduras. Conseqüentemente, o número de plaquetas maduras (trombócitos) na circulação diminui, e se desenvolve uma trombocitopenia. Como há menos plaquetas para contribuir com a formação de coágulos, problemas de sangramento são comuns.

As neoplasias (novo crescimento, um tumor) malignas de origem de células epiteliais (incluindo o revestimento intestinal, as células da pele e as células do revestimento das vias aéreas dos pulmões) são chamadas de carcinomas. Se o câncer cresce em um padrão semelhante a glândulas, ele é um adenocarcinoma. Assim, **Nick O'Tyne** e **Colin Tuma** têm adenocarcinomas. **Mel Anoma** tem um carcinoma se originando de melanócitos, o qual tecnicamente é um melanocarcinoma, mas em geral é referido como um melanoma.

As molas (também chamadas de nevos) são tumores da pele. Elas são formadas por melanócitos que foram transformados a partir de células dendríticas únicas interpostas entre outras células da pele para circundar células ovais que crescem em agregados ou "ninhos" (melanócitos produzem o pigmento escuro melanina que protege contra a luz solar absorvendo luz UV). As mutações adicionais podem transformar a mola em um melanoma maligno.

Mannie Weitzels tem leucemia mielóide crônica, uma doença na qual uma única linhagem de células mielóides na medula óssea prolifera anormalmente, causando um grande aumento no número de células sangüíneas brancas não-linfóides (ver Capítulo 16). Suas células mielóides contêm o cromossomo anormal Filadélfia, o qual aumenta a proliferação. Ele recentemente se queixou de dor e sensibilidade em várias áreas do esqueleto, possivelmente se originando da massa expansiva de células mielóides dentro da medula óssea. Ele também relata uma variedade de sinais hemorrágicos, incluindo hematomas, equimoses e o aparecimento de pequenos pontos vermelhos (petéquias causadas pela liberação de células vermelhas na pele).

Nick O'Tyne teve o diagnóstico de um adenocarcinoma bem diferenciado de pulmões (ver Capítulo 13). Ele realizou os procedimentos anatômicos de estadiamento para determinar a localização e a gravidade do tumor. Como resultado desses testes, ele foi considerado um candidato a ressecção cirúrgica do tumor primário dirigida para cura. Ele sobreviveu à cirurgia e estava se recuperando sem intercorrências até seis meses após, quando se queixou de uma cefaléia temporal direita grave e crescente. Uma tomografia computadorizada do cérebro foi realizada. Os resultados indicam que o câncer, o qual tinha se originado nos pulmões, tinha metastatizado para o cérebro.

Colin Tuma havia tido um adenocarcinoma intestinal ressecado, mas havia diversos nódulos metastáticos no fígado (ver Capítulos 12 e 13). Ele completou o segundo curso de quimioterapia com 5-fluoruracil (5-FU) e não tinha efeitos colaterais. Ele garantiu ao médico na revisão mais recente que, dessa vez, pretendia seguir com todas as instruções que os médicos lhe dessem. Ele comentou, com remorso, que gostaria de ter retornado para os exames regulares após a primeira rodada de cirurgias para pólipos intestinais benignos.

Mel Anoma retornou ao seu médico após observar mola irregular no antebraço (ver Capítulo 13). O médico achou que a mola parecia ser um melanoma maligno, e realizou uma biópsia excisional (remoção cirúrgica com o objetivo de biópsia).

I. CAUSAS DE CÂNCER

Câncer é o termo aplicado a um grupo de doenças nas quais as células não respondem mais aos controles normais do crescimento. As células normais no corpo respondem a sinais, como inibição de contato, que as levam a parar a proliferação. As células cancerosas não necessitam de sinais estimulatórios e resistem a sinais inibidores de crescimento. Elas também são resistentes à apoptose, o processo de morte programada por meio do qual células indesejadas ou células com lesões irreparáveis se autodestroem.

O estudo de células em cultura impulsionou o estudo do câncer, devido ao fato de o desenvolvimento de um tumor em animais poder levar meses. Uma vez que células puderam ser removidas de um animal e proliferadas em placa de cultura tecidual, o início da transformação (a célula normal se tornando uma célula cancerosa) pôde ser visto em dias.

Quais são os critérios para distinguir células transformadas de células normais em cultura? O primeiro é a necessidade de soro no meio de cultura para estimular o crescimento. As células transformadas têm uma necessidade de soro reduzida, cerca de 10% da necessária para o crescimento de células normais. O segundo é a habilidade de crescer sem se ligar a uma matriz de suporte (dependência de ancoragem). As células normais (como fibroblastos, células de músculo liso) necessitam de aderência a um substrato (nesse caso, o fundo de uma placa de plástico) e não crescerão se suspensas em uma mistura de agar frouxa (a consistência de gelatina mole). As células transformadas, contudo, perderam essa dependência de ancoragem para crescerem. Um critério adicional utilizado para demonstrar que as células são verdadeiramente transformadas é que elas formam tumores quando injetadas em ratos que não têm sistema imune.

Elas têm uma capacidade proliferativa infinita e não se tornam senescentes (isto é, são imortalizadas). Além disso, elas podem crescer independentemente de suporte estrutural, como a matriz extracelular (perda de dependência de ancoragem).

Uma única célula que se divide de forma anormal eventualmente forma uma massa chamada de tumor. Um tumor pode ser benigno e não-lesivo; a verruga comum é um tumor benigno formado a partir de uma massa de células com expansão lenta. Em contraste, uma neoplasia maligna (tumor maligno) é uma proliferação de células de crescimento rápido que progressivamente infiltram, invadem e destroem o tecido circundante. Os tumores desenvolvem potencial angiogênico, que é a capacidade de formar novos vasos e capilares sangüíneos. Assim, os tumores podem produzir seu próprio suprimento de sangue para fornecer oxigênio e nutrientes. As células cancerosas também podem metastatizar, separando-se da massa crescente do tumor e viajando através do sangue ou da linfa para órgãos distantes, onde estabelecem novos crescimentos de células cancerosas.

A transformação de uma célula normal em uma célula cancerosa inicia com a lesão do DNA (alteração de base ou quebra de fita) causada por carcinógenos químicos, luz UV, vírus ou erros de replicação (ver Capítulo 13). As mutações resultam do DNA lesado se ele não é reparado de forma apropriada ou se ele não é reparado antes que ocorra a replicação. Uma mutação que pode levar à transformação pode também ser herdada. Quando uma célula com uma mutação prolifera, essa expansão clonal (proliferação de células se originando a partir de uma única célula) resulta em uma população substancial de células contendo a mutação, a partir da qual uma célula pode adquirir uma segunda mutação relevante para controlar o crescimento ou a morte celular. Com cada expansão clonal, a probabilidade de ocorrer outra mutação transformadora aumenta. À medida que as mutações se acumulam nos genes controlando a proliferação, as mutações subseqüentes ocorrem de forma ainda mais rápida até que as células adquiram as mutações múltiplas (na faixa de 4 a 7) necessárias para a transformação completa.

As mutações transformadoras ocorrem em genes que regulam a proliferação e a diferenciação celular (proto-oncogenes), suprimem o crescimento (genes supressores de tumor), direcionam as células irreparavelmente lesadas para apoptose ou reparam o DNA lesado. Os genes regulando o crescimento celular são chamados de proto-oncogenes, e suas formas mutadas são chamadas de oncogenes. O termo oncogene é derivado da palavra grega *onkos* significando massa ou tumor. Uma mutação transformadora em um proto-oncogene aumenta a atividade ou a quantidade do produto do gene (uma mutação de ganho de função). Os genes supressores de tumor (genes supressores de crescimento normal) e as enzimas de reparo protegem contra a proliferação celular descontrolada. Uma mutação transformadora nesses genes protetores resulta em perda de atividade ou em uma quantidade diminuída do produto do gene. Em resumo, o câncer é causado pelo acúmulo de mutações em genes envolvidos no crescimento e na diferenciação normal. Essas mutações dão origem a células cancerosas capazes de proliferação desregulada, autônoma e infinita.

II. LESÃO DE DNA LEVANDO A MUTAÇÕES

A. Alterações Químicas e Físicas no DNA

Uma alteração na estrutura química do DNA, ou da seqüência de bases em um gene, é um requisito absoluto para o desenvolvimento de câncer. A função do DNA depende da presença de vários grupos químicos polares nas bases de DNA, capazes de formar pontes de hidrogênio entre as fitas ou outras reações químicas. Os átomos de oxigênio e nitrogênio nas bases de DNA são alvos de uma variedade de eletrófilos (grupos químicos que buscam elétrons). Uma seqüência típica de eventos levando a uma mutação é mostrada para a dimetilnitrosamina na Figura 18.2. Os carcinógenos químicos (compostos que podem causar mutações transformadoras) encontrados no ambiente e ingeridos com alimentos em geral são compostos lipofílicos estáveis que, como a dimetilnitrosamina, devem ser ativados por metabolismo no corpo para reagir com o DNA (ver também benz[o]pireno, ação de mutágenos, Capítulo 13, Seção III.A). Muitos agentes quimioterápicos, os quais são projetados para matar as células proliferantes interagindo com o DNA, também podem agir com carcinógenos e causar novas muta-

Os Drs. Michael Bishop e Harold Varmus demonstraram que o câncer não é causado por genes incomuns ou novos, mas sim pela mutação de genes celulares existentes, e que, para cada gene que causa câncer (um oncogene), havia um gene celular correspondente, chamado de proto-oncogene. Embora esse conceito pareça simples hoje, ele foi um achado significante quando anunciado pela primeira vez, e, em 1989, os Drs. Bishop e Varmus receberam o Prêmio Nobel de Medicina.

Os primeiros experimentos a mostrar que os oncogenes eram formas mutantes dos proto-oncogenes em humanos envolveram células cultivadas a partir de um carcinoma de bexiga humano. A seqüência de DNA do oncogene *ras* clonada a partir dessas células diferia do proto-oncogene *c-ras* normal. Mutações similares foram subseqüentemente encontradas no gene *ras* de tumores de pulmão e cólon. O pólipo maligno de **Colin Tuma** tinha uma mutação no proto-oncogene *ras*.

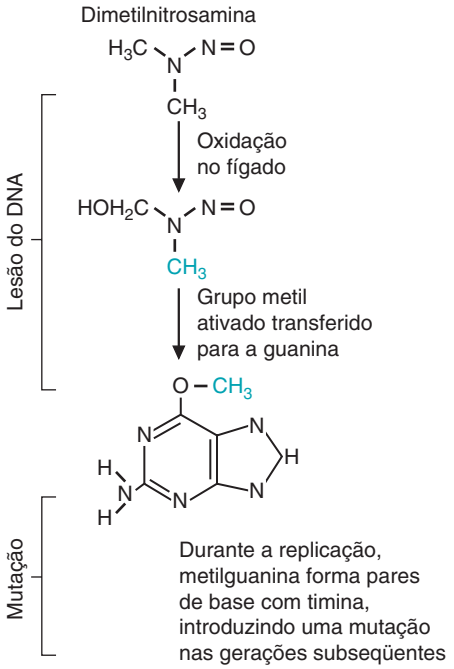


Figura 18.2 Mutações no DNA causadas por nitrosaminas. As nitrosaminas são consumidas em muitos produtos naturais e são produzidas no estômago a partir de nitritos utilizados como conservantes e aminas secundárias encontradas em alimentos como peixe. Acredita-se que sejam responsáveis pela alta incidência de câncer de estômago encontrada no Japão e na Islândia, onde o peixe conservado com sal era um item principal da dieta. Os metabólitos da nitrosamina metilam a guanina (o grupo metila transferido é mostrado em azul).



Os raios UV provenientes do sol induzem uma incidência aumentada de todos os cânceres de pele, incluindo carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basais e melanoma maligno da pele. O comprimento de onda da luz UV mais associado ao câncer de pele é o UVB (280 a 320 nm), o qual forma dímeros de pirimidina no DNA. Esse tipo de lesão do DNA é reparado por rotas de excisão de nucleotídeo que necessitam de produtos de pelo menos 20 genes. Com a exposição excessiva ao sol, a rota de reparo por excisão de nucleotídeos é sobrecarregada, e algumas lesões permanecem sem reparo.



O linfoma de Burkitt, um nome geral para vários tumores de células B, resulta de uma translocação entre os cromossomos 8 e 14. A translocação de material genético move o proto-oncogene *c-myc*, fator de transcrição (normalmente encontrado no cromossomo 8), para o cromossomo 14. O gene translocado está agora sob o controle da região promotora do gene da imunoglobulina de cadeia pesada, o que leva a uma expressão inapropriada e exagerada de *c-myc*. O resultado pode ser a proliferação descontrolada e o desenvolvimento de tumor. Todos os subtipos de linfoma de Burkitt contêm essa translocação. A infecção de células B pelo vírus de Epstein-Barr também está associada a certos tipos de linfoma de Burkitt.



As células da medula óssea de **Mannie Weitzels** contêm o cromossomo Filadélfia, típico de leucemia mielóide crônica (LMC). O cromossomo Filadélfia resulta da translocação recíproca entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22. Como uma conseqüência, uma proteína de fusão é produzida contendo a região N-terminal da proteína Bcr do cromossomo 22 e a região C-terminal da proteína Abl do cromossomo 9. *Abl* é um proto-oncogene, e a proteína de fusão resultante (Bcr-Abl) perdeu sua região reguladora e é constitutivamente ativa. Quando ativa, a Abl estimula a rota de transdução da Ras, levando à proliferação celular.



O oncogene N-myc (um fator de transcrição de proliferação celular, relacionado ao c-myc) está amplificado em alguns neuroblastomas, e a amplificação do oncogene erb-B2 (um receptor de fator de crescimento) está associada a diversos carcinomas de mama.

ções e tumores enquanto erradicam o tumor antigo. As alterações estruturais no DNA também ocorrem por meio de radiação e luz UV, a qual causa a formação de dímeros de pirimidina. Mais de 90% dos cânceres de pele ocorrem em áreas expostas ao sol. Assim, cada carcinógeno químico ou reagente causa uma modificação característica em uma base de DNA. A lesão do DNA, se não reparada, introduz uma mutação na próxima geração quando a célula prolifera.

B. Mutações com Ganho de Função em Proto-oncogenes

Os proto-oncogenes são convertidos a oncogenes por mutações no DNA que causam um "ganho de função", isto é, a proteína agora pode funcionar melhor na ausência de eventos ativadores normais. Diversos mecanismos que levam à conversão de proto-oncogenes a oncogenes são conhecidos:

- A radiação e os carcinógenos químicos agem (a) causando uma mutação na região regulatória do gene, aumentando a velocidade de produção da proteína do proto-oncogene ou (b) produzindo uma mutação na porção codificadora do oncogene que resulta na síntese de uma proteína de composição de aminoácidos levemente diferente capaz de transformar a célula (Figura 18.3A).
- Todo o proto-oncogene, ou uma porção dele, pode ser transposto ou translocado, isto é, movido de um genoma para outro (Figura 18.3B). Nessa nova localização, o proto-oncogene pode ser controlado por um promotor mais ativo e, portanto, expresso em excesso (quantidades aumentadas do produto protéico podem ser produzidas). Se apenas uma porção do proto-oncogene é translocada, ele pode ser expresso como uma proteína truncada com propriedades alteradas, ou pode se fundir com outro gene e produzir uma fusão de proteínas contendo porções do que eram normalmente duas proteínas separadas. A proteína truncada ou a fusão seria hiperativa e causaria crescimento celular inapropriado.
- O proto-oncogene pode estar amplificado (Figura 18.3C), de tal modo que múltiplas cópias do gene são produzidas em uma única célula. Se mais genes estão ativos, mais proteína do proto-oncogene será produzida, aumentando a velocidade de crescimento das células.
- Se um vírus oncogênico infecta a célula, seu oncogene pode ser integrado ao genoma da célula hospedeira, permitindo a produção de proteína do oncogene anormal. A célula pode ser transformada e exibir um padrão anormal de crescimento. Em vez de inserir um oncogene, um vírus pode simplesmente inserir um promotor forte no genoma da célula hospedeira. Esse promotor pode causar uma expressão em momento inadequado ou aumentada de um proto-oncogene normal.

Algo importante para lembrar é que a transformação resulta de anormalidades no programa de regulação do crescimento normal causadas por mutações de ganho de função em proto-oncogenes. Contudo, mutações de perda de função também podem ocorrer em genes supressores de tumor, enzimas de reparo ou ativadores de apoptose para a transformação completa em uma célula cancerosa.

C. Mutações em Enzimas de Reparo

As enzimas de reparo são a primeira linha de defesa impedindo a conversão de uma lesão química do DNA em uma mutação (ver Capítulo 13, Seção III.B). As enzimas de reparo de DNA são genes supressores de tumor no sentido que erros reparados antes da replicação não se tornam mutagênicos. A lesão do DNA está ocorrendo constantemente por exposição a luz do sol, radiação ambiental basal, toxinas e erro de replicação. Se as enzimas de reparo de DNA estão ausentes, as mutações se acumulam de forma muito mais rápida, e uma vez que uma mutação se desenvolve em um gene regulador de crescimento, pode se originar um câncer. Como um exemplo, as mutações herdadas nos genes supressores de tumor *brca1* e *brca2* predispõem mulheres ao desenvolvimento de câncer de mama.

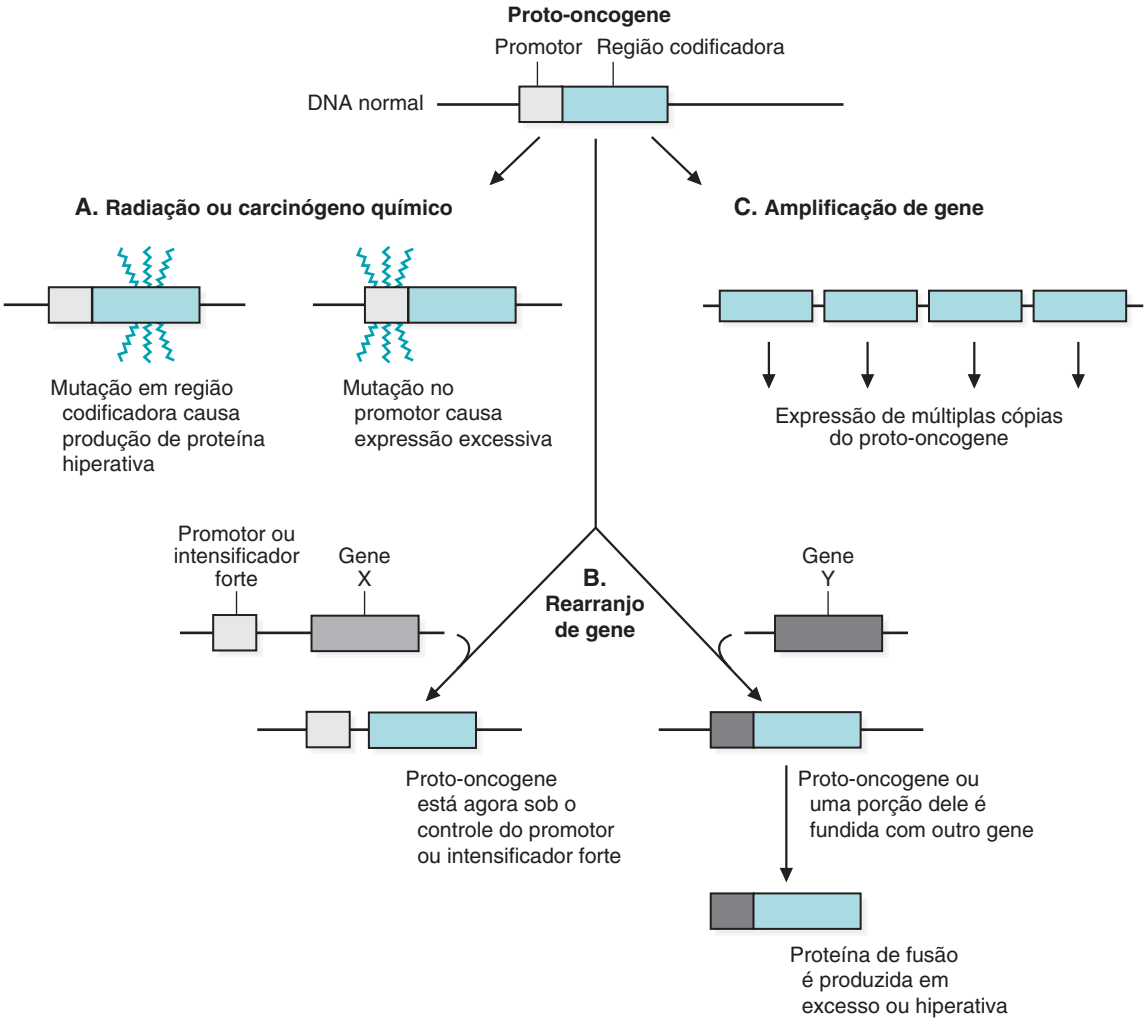


Figura 18.3 Mutações transformadoras em proto-oncogenes. **A** Efeito de radiação ou carcinógenos químicos sobre os proto-oncogenes ou seus promotores. As mutações podem ser mutações pontuais, deleções ou inserções. **B** Rearranjos de genes quando causados pela transposição ou translocação de um proto-oncogene ou fragmento de proto-oncogene. **C** Amplificação de um proto-oncogene permite que mais proteína seja produzida. O proto-oncogene e o oncogene resultante são mostrados em azul.

Os produtos protéicos desses genes têm um papel no reparo de DNA, na recombinação e na regulação da transcrição. Um segundo exemplo, o HNPCC (câncer colorretal não-polipóide hereditário, do inglês *hereditary non-polyposis colorectal cancer*) foi previamente introduzido no Capítulo 13. Ele resulta de mutações herdadas nas enzimas envolvidas no sistema de reparo de erros de pareamento no DNA.

III. ONCOGENES

Os proto-oncogenes controlam o crescimento e a divisão celular normais. Esses genes codificam as proteínas que são fatores de crescimento, receptores de fatores de crescimento, proteínas transdutoras de sinal, fatores de transcrição, reguladores de ciclo celular e reguladores de apoptose (Tabela 18.1). (O nome representando o gene de um oncogene é referido em letras minúsculas e em itálico [p. ex., *myc*], mas o nome do produto protéico começa com letra maiúscula e é sem itálico [p. ex., Myc].) As mutações em oncogenes que resultam em transformação em geral são mutações de ganho de função; uma proteína mais ativa é produzida ou uma quantidade aumentada da proteína normal é sintetizada.

Embora as mutações em ambos os genes brca1 e brca2 estejam relacionadas ao desenvolvimento de câncer de mama em mulheres, existem algumas diferenças fundamentais em como esses genes interagem com outras proteínas no nível molecular. Como resultado, existem algumas diferenças nas doenças expressas por mutações dentro desses genes. Por exemplo, as mutações de *brca1* são relacionadas a câncer ovariano, e as mutações de *brca2* não são. As mutações de *brca2* têm sido relacionadas a câncer de pâncreas, enquanto as de *brca1* não. Homens com mutações herdadas de *brca2* desenvolvem câncer de mama; contudo, homens que são portadores de mutações *brca1* não.

Tabela 18.1 Classes de Oncogenes, Mecanismo de Ativação e Tumores Humanos Associados

Classe	Proto-Oncogene	Mecanismo de Ativação	Localização	Doença
Fatores de crescimento				
Cadeia β do fator de crescimento derivado de plaquetas	*sis*	Expressão aumentada	Secretado	Astrocitoma Osteossarcoma
Fatores de crescimento de fibroblastos	*int-2*	Amplificação	Secretado	Câncer de mama Câncer de bexiga Melanoma
Receptores de fator de crescimento				
Família de receptores de fator de crescimento epidermal	*erb-B1*	Expressão aumentada	Membrana celular	Carcinoma de células escamosas do pulmão
	erb-B2	Amplificação	Membrana celular	Câncer de mama, ovário, pulmão, estômago
Receptor de fator de crescimento derivado de plaqueta	*PDGFR*	Translocação	Membrana celular	Leucemia mielóide crônica
Receptor Hedgehog	*SMO*	Mutação pontual	Membrana celular	Carcinoma basal
Proteínas de transdução de sinal				
Proteínas G	*ras*	Mutação pontual	Citoplasma	Múltiplos cânceres incluindo de pulmão, cólon, tireóide, pâncreas, muitas leucemias
Serina/treonina-quinase	*akt2*	Amplificação	Citoplasma	Carcinoma ovariano
	raf	Expressão aumentada	Citoplasma	Leucemia mielóide
Tirosina-quinase	*abl*	Translocação	Citoplasma	Leucemia mielóide crônica Leucemia linfoblástica aguda
	src	Expressão aumentada	Citoplasma	Mama
Receptores de hormônios				
Receptor retinóide	*RARα*	Translocação	Núcleo	Leucemia pró-mielóide aguda
Fatores de transcrição				
	Hox1	Translocação	Núcleo	Leucemia de células T aguda
	Myc	Translocação	Núcleo	Linfoma de Burkitt
		Amplificação	Núcleo	Neuroblastoma, carcinoma de células pequenas do pulmão
	fos, jun	Fosforilação	Núcleo	Câncer de mama
Reguladores de apoptose				
	Bcl-2	Translocação	Mitocôndria	Linfoma de célula B folicular
Reguladores do ciclo celular				
Ciclinas	Ciclina D	Translocação	Núcleo	Linfoma
		Amplificação	Núcleo	Câncer de mama, fígado, esôfago
Quinase dependente de ciclina	CDK4	Amplificação	Núcleo	Glioblastoma, sarcoma
		Mutação pontual	Núcleo	Melanoma



O gene do receptor do fator de crescimento epidérmico humano (*HER2, c-erbB-2*) está com a expressão aumentada em 10 a 20% dos cânceres de mama. Quando esse gene está com a expressão aumentada, o prognóstico de recuperação é ruim, os pacientes apresentam intervalos livres de doença mais curtos, risco aumentado de metástases e uma resistência à terapia. Estudos clínicos estão sendo realizados utilizando anticorpo monoclonal direcionado contra esse receptor (*herceptin*) para inativá-lo. Resultados preliminares são encorajadores, mostrando que o uso desse fármaco, sozinho ou em combinação com outros, parece controlar o crescimento de alguns tumores com expressão aumentada do gene *HER2*. Contudo, nem todos os tumores com expressão aumentada de *HER2* são responsivos a *herceptin*. Assim, parece que uma genotipagem completa de células de câncer de mama pode ser necessária (utilizando as técnicas descritas no Capítulo 17) para desenvolver especificamente uma terapia efetiva para cada paciente com essa doença.

A. Os Oncogenes e as Cascatas de Transdução de Sinal

Todos os genes de proteínas nas cascatas de transdução de sinal de fatores de crescimento são proto-oncogenes (Figura 18.4).

1. FATORES DE CRESCIMENTO E RECEPTORES DE FATORES DE CRESCIMENTO

Os genes para os fatores de crescimento e os receptores de fatores de crescimento são oncogenes. Os fatores de crescimento em geral regulam o crescimento servindo como ligantes que se ligam a receptores celulares localizados na membrana plasmática (receptores de superfície celular) (ver Capítulo 11). A ligação de ligantes a esses receptores estimula uma rota de transdução de sinal nas células ativando a transcrição de certos genes. Se um fator de crescimento ou receptor de crescimento é produzido em excesso, as células-alvo podem responder proliferando de forma inapropriada. Os fatores de crescimento podem também se tornar oncogênicos por meio de translocação ou mutação pontual nos domínios, afetando a ligação do fator de crescimento, a dimerização, a atividade de quinase ou algum outro aspecto de sua transmissão de sinal. Nesses casos, o receptor transmite um sinal proliferativo mesmo que o fator de crescimento normalmente necessário para ativar o receptor esteja ausente. Em outras palavras, o receptor fica trancado na posição "ligado".

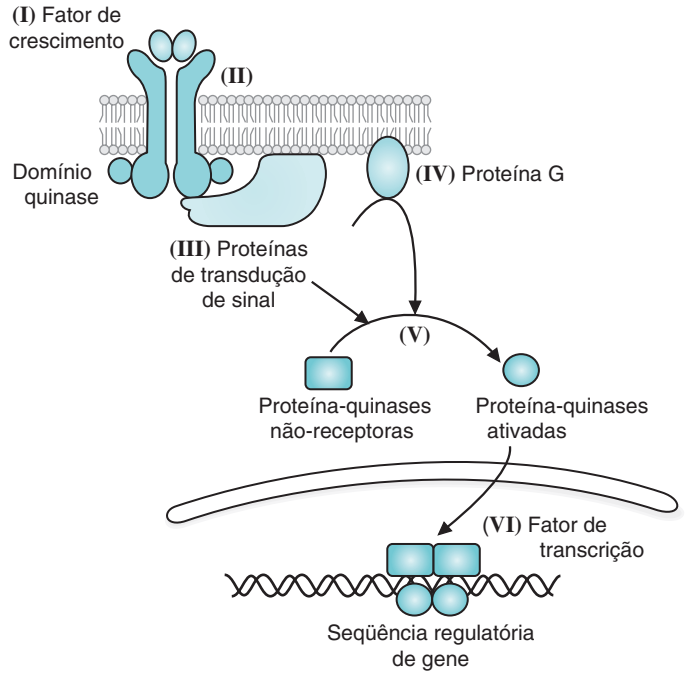


Figura 18.4 Locais de mutações transformadoras em proto-oncogenes nas rotas de sinalização de fatores de crescimento. I. Quantidade de fator de crescimento. II. Receptor, que normalmente deve se ligar ao fator de crescimento para dimerizar e ativar um domínio quinase. III. Proteínas de transdução de sinal. Algumas, como a PI3-quinase, formam segundos-mensageiros. IV. Proteínas G e seus reguladores, os quais são também proteínas de transdução de sinal. V. Cascatas de proteína-quinases não-receptoras, as quais levam à fosforilação de fatores de transcrição. VI. Fatores de transcrição nuclear normalmente são ativados por meio de fosforilação ou ligação de um ligante.

2. PROTEÍNAS DE TRANSDUÇÃO DE SINAL

Os genes codificando as proteínas envolvidas nas cascatas de transdução de sinal de fator de crescimento podem ser também proto-oncogenes. Considere, por exemplo, a proteína G monomérica Ras. A ligação de fator de crescimento leva à ativação de Ras (ver Figura 11.11). Quando a Ras se liga a GTP, ela está ativa, mas a Ras lentamente se inativa hidrolisando seu GTP ligado em GDP e Pi. Isso controla a duração do tempo que a Ras está ativa. A Ras é convertida em uma forma oncogênica por mutações pontuais que diminuem a atividade do domínio GTPase de Ras, aumentando, assim, a duração do tempo que ela permanece na forma ativa.

A Ras, quando ativa, aciona a serina/treonina-quinase Raf (uma MAP-quinase quinase quinase), a qual ativa MEK (uma MAP-quinase quinase), a qual ativa MAP-quinase (Figura 18.5). A ativação de MAP-quinase resulta na fosforilação de proteínas citoplasmáticas e nucleares, seguido de uma transcrição aumentada dos proto-oncogenes de fatores de transcrição *myc* e *fos* (ver a seguir). Observe que as mutações nos genes para qualquer das proteínas que regulam a atividade da MAP-quinase, bem como aquelas proteínas induzidas pela ativação da MAP-quinase, podem levar à proliferação celular descontrolada.

3. FATORES DE TRANSCRIÇÃO

Muitos fatores de transcrição, como Myc e Fos, são proto-oncoproteínas (os produtos dos proto-oncogenes). A MAP-quinase, além de induzir *myc* e *fos*, também ativa o fator de transcrição AP-1 por meio de fosforilação (ver Figura 18.5). AP-1 é um heterodímero formado pelos produtos protéicos das famílias de proto-oncogenes *fos* e *jun*. Os alvos da ativação de AP-1 são os genes envolvidos na proliferação celular e na

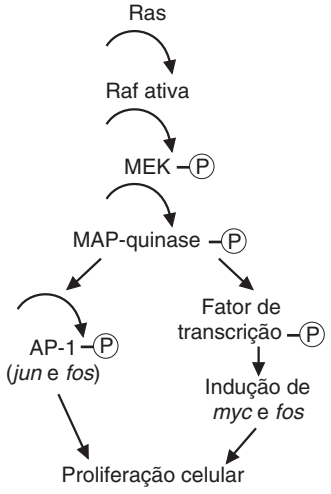


Figura 18.5 Cascata de fosforilação levando à ativação dos proto-oncogenes de fatores de transcrição *myc, fos* e *jun*.

A síntese do fator de transcrição C-myc é bastante regulada em células normais, e ele é expresso apenas durante a fase S do ciclo celular. Em um grande número de tipos tumorais, essa expressão regulada está perdida, e *c-myc* se torna expresso de forma inapropriada ou expresso em excesso através do ciclo celular, conduzindo as células continuamente à proliferação.

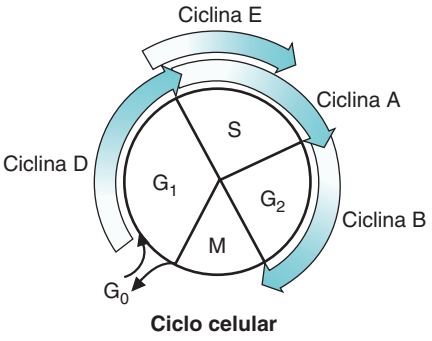


Figura 18.6 Fases de síntese de ciclina do ciclo celular.

As proteínas induzidas por E2F incluem ciclina E, ciclina A, cdc25A (uma proteína fosfatase ativadora) e as proteínas necessárias para se ligar na origem de replicação e iniciar a síntese de DNA. A síntese de ciclina E permite que ela forme complexo com cdk2, formando outro complexo de ciclina ativo na fase S (ver Figura 18.6). A ciclina A ativa Cdk2. Assim, cada fase do ciclo celular ativa a fase seguinte por meio da síntese de ciclinas. As ciclinas são removidas por meio de proteólise regulada.

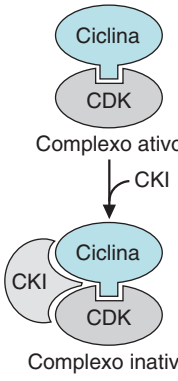


Figura 18.7 Inibição da atividade de ciclina/CDK por CKI.

progressão através do ciclo celular, como são os alvos do fator de transcrição *myc*. O resultado total é a produção aumentada das proteínas que realizam o processo necessário para a proliferação.

B. Os Oncogenes e o Ciclo Celular

O crescimento de células humanas, envolvendo a replicação de DNA e a divisão celular, é ativado por fatores de crescimento, hormônios e outros mensageiros. Esses ativadores funcionam por meio de ciclinas e quinases dependendes de ciclinas (CDKs, do inglês *cyclin-dependent kinases*) que controlam a progressão de uma fase para a outra do ciclo (Figura 18.6). Para as células quiescentes proliferarem, elas devem sair de G_0 e entrar na fase G_1 do ciclo celular (ver Capítulo 13, Figura 13.7). Se a seqüência apropriada de eventos ocorre durante G_1, as células entram na fase S e são destinadas para a replicação de DNA e a divisão celular. De forma semelhante, durante G_2 as células são destinadas à divisão mitótica. As CDKs são formadas constantemente por meio do ciclo celular, mas precisam ser ligadas a uma ciclina específica para serem ativas. Ciclinas diferentes fazem, em momentos diferentes no ciclo celular, o controle de cada uma das transições (G_1/S, S/G_2, G_2/M).

A atividade do complexo ciclina-CDK é ainda regulada por meio de fosforilação e de proteínas inibitórias chamadas de inibidores de quinase dependente de ciclina (CKIs, do inglês *cyclin-dependent kinase inhibitors*) (Figura 18.7). Os CKIs tornam mais lenta a progressão do ciclo celular por ligação e inibição dos complexos CDK-ciclina. As CDKs também são controladas por meio da ativação da fosforilação por CAKs (quinases ativadoras de ciclina, do inglês *cyclin-activating kinases*) e quinases de hiperfosforilação inibitórias.

Para ilustrar o papel dessas proteínas, considere alguns dos eventos ocorrendo no ponto de checagem G_1/S (Figura 18.8). Como a célula é destinada para a replicação de DNA e a divisão celular uma vez que ela entra na fase S, múltiplas proteínas reguladoras estão envolvidas em determinar se a célula está pronta para passar desse ponto de checagem. Essas proteínas reguladoras incluem cdk4 e cdk6 (as quais são constitutivamente produzidas pelo ciclo celular), ciclina D (cuja síntese é apenas induzida após a estimulação por fator de crescimento de células quiescentes), o produto do gene do retinoblastoma (Rb) e uma classe de fatores de transcrição conhecida coletivamente como E2F. Em células quiescentes, Rb forma complexo com E2F, resultando em inibição desses fatores de transcrição. Sob estimulação por fatores de crescimento, as ciclinas Ds são induzidas (existem três tipos de ciclinas D: D1, D2 e D3). Elas se ligam a cdk4 e cdk6, convertendo-as em proteína-quinases ativas. Um dos alvos da fosforilação de ciclina/cdk é a proteína Rb. A fosforilação de Rb a libera de E2F, e E2F está, então, livre para ativar a transcrição dos genes necessários para a entrada em S. A proteína Rb é um gene supressor de tumor (ver mais adiante).

A progressão através do ciclo celular é contraposta por CKIs (ver Figura 18.8). A expressão de ciclina/cdk que regula CKIs na fase G_1 do ciclo celular tem duas categorias: a família Cip/Kip e a família INK4. Os membros da família Cip/Kip (p21, p27 e p57) têm uma ampla especificidade, e todos inibem complexos ciclina-CDK. A família INK4, a qual consiste em p15, p16, p18 e p19, é específica para a família ciclina D-cdk4/6 de complexos (inibidores de quinase dependente de ciclina, do inglês *inhibitors cyclin-dependent kinase-4*). A regulação da síntese de diferentes CKIs é complexa, mas algumas são induzidas por lesão de DNA nas células e interrompem a progressão do ciclo celular até que a lesão possa ser reparada. Por exemplo, a CKI p21 (uma proteína de 21.000 dáltons) é um membro-chave desse grupo que responde a sinais específicos para bloquear a proliferação celular. Se a lesão não pode ser reparada, uma rota apoptótica é selecionada, e a célula morre.

Além de luz solar e um nevo preexistente, os fatores hereditários também têm um papel no desenvolvimento de melanoma maligno. Dez por cento dos melanomas tendem a ocorrer em famílias. Alguns dos genes suspeitos associados a melanoma incluem o gene supressor de tumor p16 (um inibidor de cdk 4) e CDK4. **Mel Anoma** era filha única de pais que tinham morrido em um acidente de carro na década de 1950, e, assim, uma tendência familiar não pôde ser avaliada.

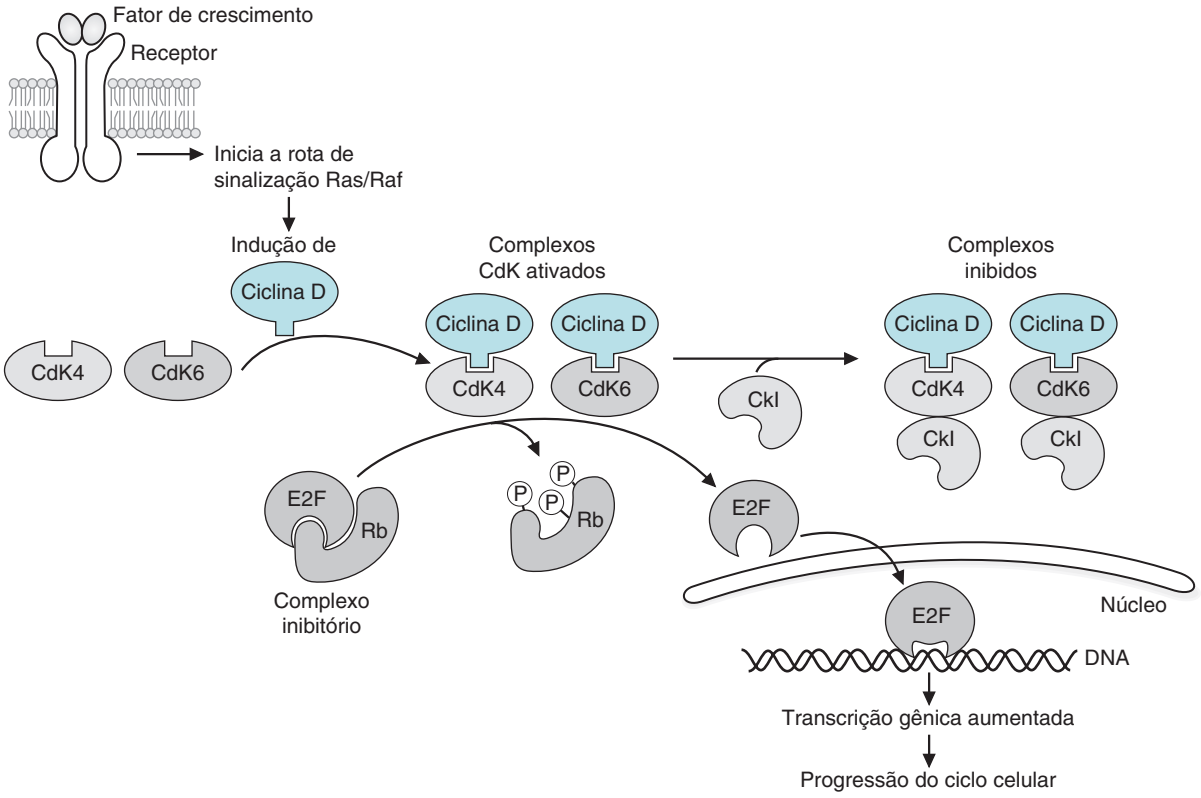


Figura 18.8 Controle da transição G_1/S no ciclo celular. Os genes codificando ciclinas e CDKs são oncogenes, e o gene codificando a proteína do retinoblastoma (Rb) é um gene supressor de tumor. CDK, quinase dependente de ciclina; CDKI, inibidor de quinase dependente de ciclina.

IV. GENES SUPRESSORES DE TUMOR

Como os oncogenes, os genes supressores de tumor codificam as moléculas envolvidas na regulação da proliferação celular. A Tabela 18.2 fornece vários exemplos. A função normal das proteínas supressoras de tumor em geral é inibir a proliferação em resposta a certos sinais, como lesão de DNA. O sinal é removido quando a célula está completamente equipada para proliferar; o efeito de sua eliminação dos genes supressores de tumor é remover os freios do crescimento celular. Eles afetam a regulação do ciclo celular, a transdução de sinal, a transcrição e a adesão celular. Os produtos dos genes supressores de tumor com freqüência modulam as rotas que são ativadas pelos produtos de proto-oncogenes.

Tabela 18.2 Supressores de Tumor

Classe	Proteína	Localização	Doenças Associadas
Receptor de proteínas de adesão	E-caderina	Membrana celular	Câncer de estômago
	PATCHED	Membrana celular	Carcinoma de células basais
	TGF-β	Membrana celular	Câncer de cólon
Transdução de sinal	NF-1	Sob a membrana celular	Neurofibrossarcoma
	SMAD4/DPC	Citoplasma/núcleo	Câncer pancreático e colorretal
Fator de transcrição	WT-1	Núcleo	Tumor de Wilms
Regulador do ciclo celular	p16 (INK4)	Núcleo	Melanoma, câncer de pulmão, de pâncreas
	Retinoblastoma	Núcleo	Retinoblastoma, sarcomas
Ciclo celular/apoptose	p53	Núcleo	Maioria dos cânceres
Reparo de DNA	BRCA1	Núcleo	Câncer de mama

Os genes supressores de tumor contribuem para o desenvolvimento de câncer quando ambas as cópias do gene são inativadas. Isso é diferente no caso de mutações de proto-oncogenes, pois apenas um alelo de um proto-oncogene precisa ser convertido em um oncogene para iniciar a transformação.

A. Genes Supressores de Tumor que Regulam Diretamente o Ciclo Celular

Os dois reguladores do ciclo celular mais bem compreendidos que são supressores de tumor são os genes do retinoblastoma (*rb*) e *p53*.

1. O GENE DO RETINOBLASTOMA (*rb*)

Como discutido previamente, o produto do gene do retinoblastoma, Rb, funciona na transição da fase G_1 para S e regula a ativação dos membros da família dos fatores de transcrição E2F (ver Figura 18.8). Se um indivíduo herda uma cópia mutada do alelo *rb*, há uma chance de 100% de um indivíduo desenvolver retinoblastoma, devido à alta probabilidade de o segundo alelo do *rb* ter uma mutação (Figura 18.9). Isso é considerado retinoblastoma familiar. Os indivíduos que não herdam mutações no *rb*, mas que desenvolvem retinoblastoma, têm retinoblastoma esporádico, e adquirem duas mutações específicas, uma em cada alelo do *rb* do retinoblasto, durante toda a vida.

A herança de uma mutação no *p53* leva à síndrome de Li-Fraumeni, a qual é caracterizada por múltiplos tipos de tumores. As mutações no *p53* estão presentes em mais de 50% dos tumores. Eles são mutações secundárias dentro da célula, e, se o *p53* está mutado, a taxa total de mutação celular aumentará, pois nenhum *p53* verifica a lesão do DNA, inicia o reparo do DNA ou inicia a apoptose se a lesão não é reparada. Assim, o DNA lesado é replicado, e a freqüência de mutações adicionais dentro da mesma célula aumenta notadamente.

2. p53, O GUARDIÃO DO GENOMA

A proteína p53 é um fator de transcrição regulando o ciclo celular e a apoptose, a morte celular programada. A perda de ambos os alelos do *p53* é encontrada em mais de 50% dos tumores humanos. A p53 age como o "guardião do genoma" interrompendo a replicação em células que sofreram lesão de DNA e direcionando as células que não foram reparadas para apoptose.

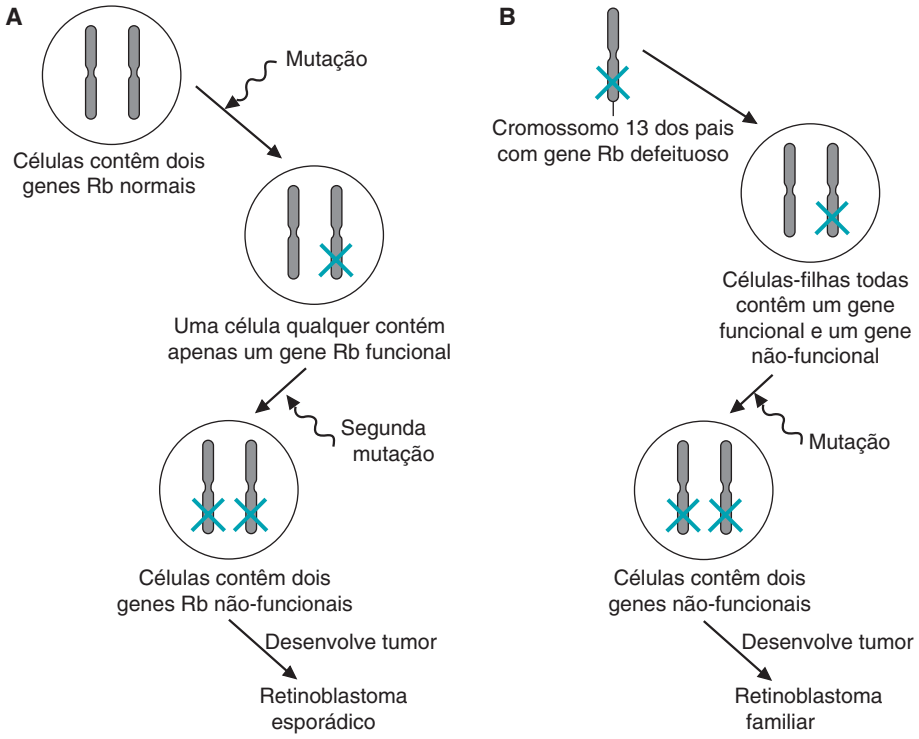


Figura 18.9 Mutações no gene do retinoblastoma (Rb). **A.** Retinoblastoma esporádico. **B.** Retinoblastoma familiar.

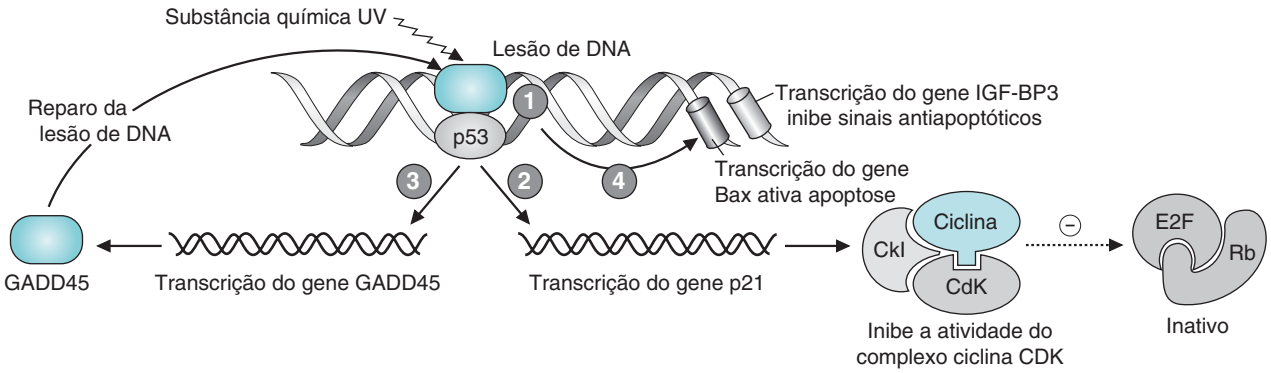


Figura 18.10 p53 e parada do ciclo celular. Os mecanismos que reconhecem a lesão do DNA interrompem a degradação de p53 e modificam a proteína p53 (círculo 1). p53 estimula a transcrição de p21 (círculo 2) e GADD45 (círculo 3). p21 bloqueia a fosforilação de Rb por ciclina/CDK, a qual continua a inibir a família E2F de fatores de transcrição, bloqueando, assim, a progressão da célula através do ciclo celular. GADD45 permite que a lesão do DNA seja reparada. Se a lesão não é reparada, os genes apoptóticos são ativados (círculo 4).

Em resposta a mutágenos lesivos ao DNA, radiação ionizante ou luz ultravioleta, o nível de p53 se eleva (Figura 18.10, círculo 1). A p53, agindo como um fator de transcrição, estimula a transcrição de *p21* (um membro da família Cip/Kip de CKIs), como mostra a Figura 18.10, círculo 2. O produto do gene *p21* inibe os complexos ciclina/CDK, o que impede a fosforilação de Rb e a liberação de proteínas E2F. A célula é, assim, impedida de entrar na fase S. A p53 também estimula a transcrição de GADD45 (parada de crescimento e lesão do DNA, do inglês *growth arrest and DNA damage*), uma enzima de reparo de DNA (Figura 18.10, círculo 3). Se o DNA é reparado com sucesso, a p53 induz sua própria inibição. Se o reparo do DNA não tem sucesso, a p53 ativa dois genes de apoptose, *bax* (discutido a seguir) e *IGF-BP3* (Figura 18.10, círculo 4). A proteína IGF-BP3 se liga ao receptor de fator de crescimento semelhante à insulina, que presumivelmente induz a apoptose por bloqueio da sinalização por fatores antiapoptóticos, e a célula entra em um modo de privação do fator de crescimento.

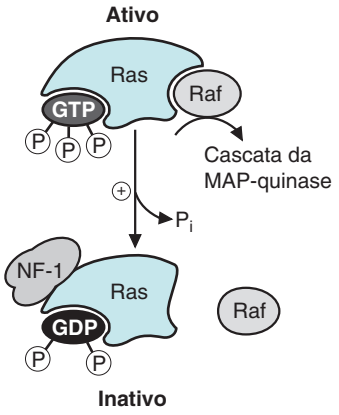


Figura 18.11 NF-1 (neurofibromina) se liga à Ras e ativa sua atividade de GTPase, diminuindo, assim, a proliferação celular. Uma mutação na neurofibromina leva à ligação de GTP e à ativação de Ras prolongadas.

B. Genes Supressores de Tumor que Afetam Receptores e Transdução de Sinal

Os genes supressores de tumor podem codificar receptores, componentes da rota de sinalização da transdução ou fatores de transcrição.

1. REGULADORES DE RAS

A família Ras de proteínas está envolvida na transdução de sinal de muitos hormônios e fatores de crescimento (ver anteriormente) e é, portanto, oncogênica. A atividade dessas rotas é interrompida por GAPs (proteínas ativadoras de GTPase, do inglês *GTPase-activating proteins*; ver Capítulo 9), as quais variam entre os tipos celulares. A neurofibromina, o produto do gene supressor de tumor NF-1, é uma GAP específica do sistema nervoso que regula a atividade de Ras em tecidos neuronais (Figura 18.11). O sinal de crescimento é transmitido enquanto a proteína Ras estiver ligada ao GTP. A ligação de NF-1 à Ras ativa o domínio GTPase da Ras, o qual hidrolisa GTP em GDP, inativando, assim, a Ras. Sem uma molécula de neurofibromina funcional, a Ras está sempre ativa.

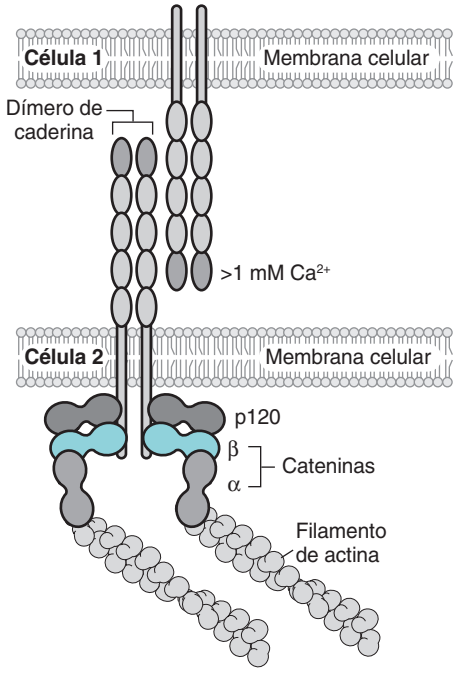
Uma mutação herdada de *NF-1* pode levar à neurofibromatose, uma doença primariamente de numerosos tumores benignos, mas dolorosos, do sistema nervoso. O filme "O homem elefante" foi baseado em um indivíduo que se acreditava ter essa doença. A análise recente dos remanescentes do paciente, contudo, indica que ele tinha sofrido de uma síndrome de Proteus rara, e não neurofibromatose.

2. "PATCHED" E "SMOOTHENED"

Um bom exemplo de supressores de tumor e oncogenes funcionando em conjunto é fornecido pelos genes de co-receptor *patched* (remendado) e *smoothened* (alisado), os quais codificam os receptores da classe *hedgehog* de peptídeos de sinalização. Esses co-receptores normalmente funcionam para controlar o crescimento durante a embrio-

Os nomes estranhos de alguns dos genes supressores de tumor se devem ao fato de terem sido primeiro descobertos na Drosophila (mosca da fruta), e os nomes das mutações na Drosophila são freqüentemente baseados na aparência da mosca expressando a mutação. Quando o homólogo humano é encontrado, ele recebe o mesmo nome que o gene da Drosophila.

A. Cateninas e caderinas na adesão celular



B. Catenina β e APC na transcrição gênica

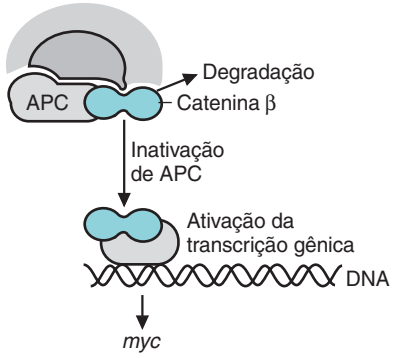


Figura 18.12 **A.** Cateninas e caderinas. As moléculas de E-caderina formam homodímeros intercelulares dependentes de cálcio com as caderinas de outra célula, resultando em adesão célula-célula. A porção citoplasmática da E-caderina forma complexo com uma variedade de cateninas, que ancoram a caderina ao citoesqueleto de actina. **B.** Catenina β e APC na transcrição. O complexo APC ativa a catenina β para a degradação proteolítica. Se APC é inativado, os níveis de catenina β aumentam. Ela age como um fator de transcrição que aumenta a síntese de *myc* e outros genes de regulação da progressão do ciclo celular.

gênese e ilustram a importância de se manter um balanço entre oncogenes e genes supressores de tumor. A proteína de receptor Patched inibe a Smoothened, sua proteína de co-receptor. A ligação de um ligante *hedgehog* a Patched libera a inibição de Smoothened, a qual, então, transmite um sinal de ativação para o núcleo, estimulando a nova transcrição de genes. O *smoothened* é um proto-oncogene, e o *patched* é um gene supressor de tumor. Se *patched* perde sua função (definição de um supressor de tumor), então Smoothened pode sinalizar para a célula proliferar, mesmo na ausência de um sinal de *hedgehog*. Inversamente, se *smoothened* sofre uma mutação de ganho de função (definição de um oncogene), pode sinalizar na ausência do sinal *hedgehog*, mesmo na presença de Patched. As mutações herdadas em *smoothened* ou *patched* levarão a uma incidência de carcinoma de células basais.

C. Genes Supressores de Tumor que Afetam a Adesão Celular

A família caderina de glicoproteínas medeia a adesão célula-célula dependente de cálcio. As caderinas formam complexos intercelulares unindo as células (Figura 18.12A). Elas são ancoradas intracelularmente por cateninas, as quais se ligam a filamentos de actina. A perda da expressão de E-caderina pode contribuir para a habilidade das células cancerosas de se desprenderem e migrarem em metástase. Os indivíduos que herdam uma mutação na E-caderina (essa mutação é designada de CDH1) são muito predispostos a desenvolver um tipo difuso de câncer gástrico.

As proteínas catenina têm duas funções; além de ancorar as caderinas ao citoesqueleto, elas agem como fatores de transcrição (Figura 18.12B). A catenina β também se liga a um complexo contendo a proteína regulatória APC (polipose adenomatosa do cólon, do inglês *adenomatous polyposis coli*), que a ativa para degradação. Quando o sinal apropriado ativa APC, o nível de catenina β se eleva e passa para o núcleo, onde ativa a transcrição de *myc* e *ciclina D1*, levando à proliferação celular. APC é um gene supressor de tumor. Se ele está ativado, não pode se ligar à catenina β e inibe a proliferação celular. As mutações na APC ou nas proteínas interagindo com ela são encontradas na grande maioria dos cânceres de cólon humano. As mutações herdadas na APC levam à forma mais comum de câncer de cólon hereditário, a polipose adenomatosa familiar.

V. CÂNCER E APOPTOSE

No corpo, as células supérfluas ou indesejadas são destruídas por uma rota chamada de apoptose ou morte celular programada. A apoptose é uma seqüência de eventos dependente de energia regulada por meio da qual uma célula se autodestrói. Nesse processo suicida, a célula retrai, a cromatina se condensa, e o núcleo se fragmenta. A membrana celular forma bolhas (extrusões), e a célula se quebra em vesículas apoptóticas circundadas por membranas (corpos apoptóticos) contendo quantidades variadas de citoplasma, organelas e fragmentos de DNA. A fosfatidilserina, um lipídeo na camada interna da membrana celular, é exposta na superfície externa dessas vesículas apoptóticas. Ela é um dos marcadores de fagocitose reconhecidos por macrófagos e outras células fagocíticas próximas que engolfam os corpos apoptóticos.

A apoptose é uma parte normal de múltiplos processos em organismos complexos: a embriogênese, a manutenção do número apropriado de células nos tecidos, a remoção de células infectadas ou lesadas de outra maneira, a manutenção do sistema imune e o envelhecimento. Ela pode ser iniciada por lesão, radiação, radicais livres ou outras toxinas, retirada de fatores de crescimento ou hormônios, ligação de citocinas pró-

Uma forma de apoptose é uma parte normal do desenvolvimento embrionário. Por exemplo, o desenvolvimento do sistema nervoso utiliza apoptose para destruir os neurônios que não fizeram as conexões apropriadas com as células-alvo. Os neurônios são produzidos em excesso, e mais de 50% dos que estão em desenvolvimento são destruídos por morte celular programada. Aqueles neurônios que fizeram as conexões corretas sobreviverão por meio da secreção dos fatores de crescimento que bloqueiam a apoptose.

apoptóticas ou interações com as células T citotóxicas no sistema imune. A apoptose pode proteger os organismos do efeito negativo de mutações pela destruição de células com lesão irreparável de DNA antes que elas proliferem. Assim como um excesso de um sinal de crescimento pode produzir um excesso de células indesejadas, a falência da apoptose em remover as células em excesso ou lesadas pode contribuir para o desenvolvimento de câncer.

A. Rotas Normais para a Apoptose

A apoptose pode ser dividida em três fases gerais: uma fase de iniciação, uma fase de integração de sinal e uma fase de execução. A apoptose pode ser iniciada por sinais externos por meio de receptores de morte, como o fator de necrose tumoral (TNF, do inglês *tumor necrosis factor*), ou deprivação de hormônios do crescimento (Figura 18.13). Ela pode também ser iniciada por eventos intracelulares que afetam a integridade mitocondrial (p. ex., deprivação de oxigênio, radiação) e DNA lesado de forma irreparável. Na fase de integração de sinal, esses sinais apoptóticos são balanceados contra sinais de sobrevivência antiapoptóticos por diversas rotas, incluindo membros da família de proteínas Bcl-2. A fase de execução é realizada por proteínas proteolíticas chamadas de caspases.

1. CASPASES

As caspases são cisteína-proteases que quebram as ligações peptídicas próximo a um resíduo de aspartato. Elas estão presentes nas células como pró-caspases, precursores enzimáticos do tipo zimogênio ativados por quebra proteolítica da porção inibitória de sua cadeia polipeptídica. As diferentes caspases em geral são divididas em dois grupos de acordo com a sua função: caspases iniciadoras, as quais quebram especificamente outras caspases, e caspases de execução, as quais quebram outras proteínas envolvidas em manter a integridade celular (ver Figura 18.13). As caspases iniciadoras são ativadas por meio de duas rotas sinalizadoras principais: a rota do receptor de morte e a rota de integridade mitocondrial. Elas ativam as caspases de execução, as quais quebram as proteína-quinases envolvidas na adesão celular, as lâminas que formam a camada interna do envelope nuclear, a actina e outras proteínas necessárias para a estrutura celular e as enzimas de reparo de DNA. Elas também quebram uma proteína inibidora da endonuclease CAD (DNase ativada por caspase, do inglês *caspase-activated DNase*). Com a destruição do envelope nuclear, as endonucleases adicionais (dependentes de Ca^{2+} e Mg^{2+}) também se tornam ativadas.

2. A ROTA DO RECEPTOR DE MORTE PARA A APOPTOSE

Os receptores de morte são um subgrupo dos receptores de TNF-1, o qual inclui Fas/CD95, TNF-Receptor 1 (TNF-R1) e receptor de morte 3 (DR3, do inglês *death receptor*). Esses receptores formam um trímero ao qual se ligam TNF-1 ou outros ligantes de morte ao seu domínio externo e proteínas adaptadoras ao seu domínio intracelular (Figura 18.14). O complexo TNF-receptor ativado forma a estrutura para a ligação de duas moléculas de pró-caspase 8, as quais se quebram mutuamente de forma autocatalítica para formar a caspase 8 ativa. A caspase 8 é uma caspase iniciadora que ativa as caspases de execução 3, 6 e 7. A caspase 8 também quebra uma proteína, Bid, em uma forma que ativa a rota de integridade mitocondrial para a apoptose.

3. A ROTA DE INTEGRIDADE MITOCONDRIAL PARA A APOPTOSE

A apoptose também é induzida por sinais intracelulares indicando que a morte celular deve ocorrer. Exemplos desses sinais incluem a retirada de fatores de crescimento, a lesão celular, a liberação de certos esteróides e uma inabilidade de manter baixos níveis de cálcio intracelular. Todos esses tratamentos, ou alterações, levam a uma liberação de citocromo c pela mitocôndria (Figura 18.15). O citocromo c é um componente protéico necessário da cadeia de transporte de elétrons que está frouxamente ligado ao lado externo da membrana interna da mitocôndria. Sua liberação inicia a apoptose.

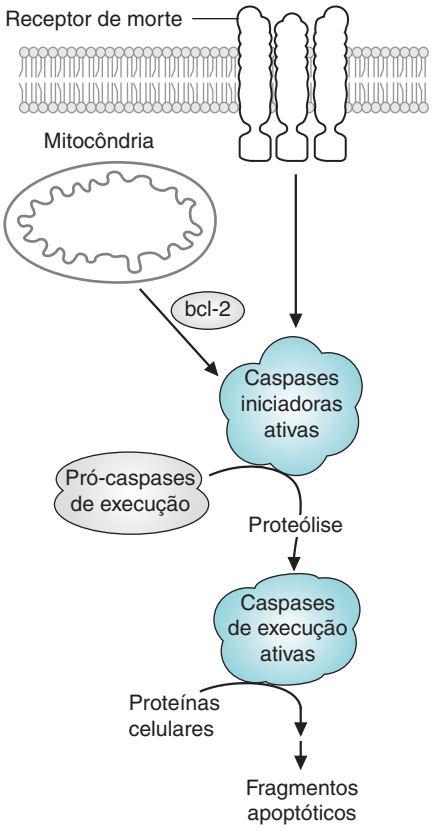


Figura 18.13 Principais componentes na apoptose.

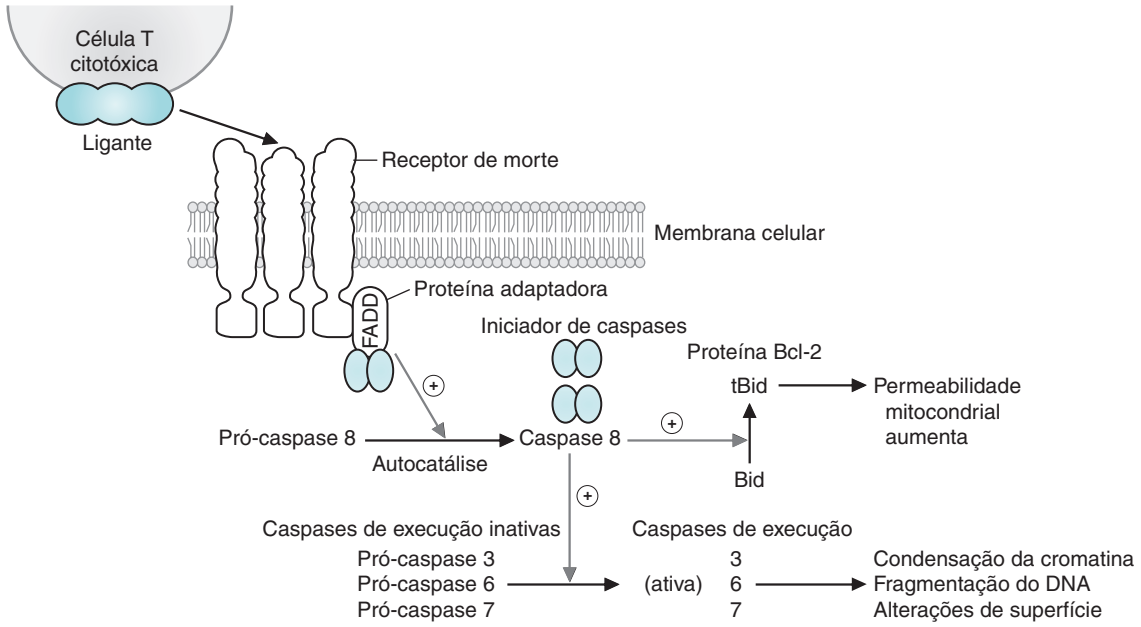


Figura 18.14 A rota do receptor de morte para apoptose. O ligante (em geral uma proteína de superfície celular em outra célula) se liga ao receptor de morte, o qual forma uma estrutura para a ativação catalítica da caspase 8. A caspase 8 ativada quebra diretamente as caspases de execução apoptóticas. Contudo, a rota também ativa a Bid, que age sobre a integridade da membrana mitocondrial.

No citosol, o citocromo c se liga a Apaf (fator ativador da protease pró-apoptótica, do inglês *pro-apoptotic protease activating factor*). O complexo Apaf/citocromo c se liga à caspase 9, uma caspase iniciadora, para formar um complexo ativo chamado de apoptossomo. O apoptossomo, por sua vez, ativa as caspases de execução por quebra de zimogênio.

4. INTEGRAÇÃO DE SINAIS PRÓ E ANTIAPOPTÓTICOS PELA FAMÍLIA DE PROTEÍNAS BCL-2

Os membros da família Bcl-2 são marcadores de decisão que integram os sinais pró-morte e antimorte para determinar se as células devem cometer suicídio. Existem membros pró-apoptóticos e antiapoptóticos da família *Bcl-2* (Tabela 18.3).

As proteínas *Bcl-2* do tipo antiapoptótico (incluindo Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-wL) têm pelo menos duas rotas de antagonismo aos sinais de morte. Elas se inserem na membrana externa da mitocôndria para antagonizar os fatores pró-apoptóticos formadores de canal, diminuindo, assim, a liberação de citocromo c. Eles podem se ligar à Apaf citoplasmática de tal modo que ela não pode formar o complexo apoptossomo (Figura 18.16).

Essas proteínas antiapoptóticas Bcl-2 são contrapostas por membros da família pró-apoptótica que têm duas categorias: os membros formadores de canais iônicos e os membros BH3-único. Os membros formadores de canais iônicos pró-morte, como Bax, são muito similares aos membros da família antiapoptótica, exceto que eles não contêm o domínio de ligação para a Apaf. Contudo, eles têm os outros domínios estru-

Tabela 18.3 Membros da Família Bcl-2

Antiapoptótico
Bcl-2
Bcl-x
Bcl-w
Formador de Canal Pró-apoptótico
Bax
Bak
Bok
Pró-apoptótico BH3-único
Bad
Bid
Bod/Bim

Cerca de 30 membros da família Bcl-2 atualmente são conhecidos. Essas proteínas têm funções em tecidos e rota de sinalização específicas na regulação da apoptose. A especificidade tecidual tem sobreposições. Por exemplo, a Bcl-2 é expressa no folículo piloso, nos rins, no intestino delgado e no sistema linfóide, enquanto a Bcl-x é expressa no sistema nervoso e nas células hematopoiéticas.



Quando *Bcl-2* está mutado, e oncogênico, ele em geral é expresso em excesso, por exemplo, no linfoma folicular e na LMC (leucemia mielóide crônica). A expressão em excesso de *Bcl-2* rompe a regulação normal dos fatores pró-apoptóticos e antiapoptóticos e inclina o equilíbrio para uma posição antiapoptótica. Isso leva a uma inabilidade de destruir as células com o DNA lesado, de tal modo que as mutações podem acumular dentro da célula. A Bcl-2 é também uma proteína de resistência a múltiplos fármacos e, se expressa em excesso, bloqueará a indução de apoptose por agentes antitumorais por remoção rápida deles da célula. Assim, estratégias estão sendo desenvolvidas para reduzir os níveis de Bcl-2 em tumores que a expressam em excesso antes de iniciar o tratamento com fármaco ou radiação.

turais, e quando dimerizam com membros BH3-único pró-apoptóticos na membrana externa da mitocôndria, formam um canal iônico que promove a liberação de citocromo c em vez de sua inibição (ver Figura 18.16). As proteínas BH3-único pró-morte (p. ex., Bim e Bid) contêm apenas o domínio estrutural que permite que se liguem a outros membros da família bcl-2 (o domínio BH3), e não a domínios para a ligação com a membrana ou a formação de canais iônicos. Sua ligação ativa os membros da família pró-morte e inativa os membros antiapoptóticos. Quando a célula recebe um sinal de um agonista pró-morte, uma proteína BH3 semelhante a Bid é ativada (ver Figura 18.16). A proteína BH3 ativa Bax (um membro de canal pró-apoptótico formador de canal iônico), o qual estimula a liberação de citocromo c. Normalmente a Bcl-2 age como um antagonista de morte por ligar a Apaf e por mantê-la em um estado inativo. Contudo, ao mesmo tempo em que a Bid está ativando a Bax, a Bid também se liga à Bcl-2, rompendo, assim, o complexo Bcl-2/Apaf e deixando a Apaf livre para se ligar ao citocromo c liberado para formar o apoptossomo.

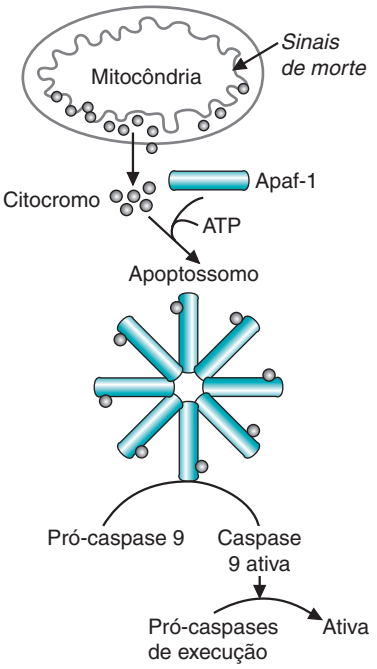


Figura 18.15 A rota de integridade mitocondrial libera o citocromo c, o qual se liga à Apaf e forma um complexo multimérico chamado de apoptossomo. O apoptossomo converte pró-caspase em caspase ativa, a qual ele libera para o citosol.

B. Células Cancerosas Desviam da Apoptose

A apoptose deve ser iniciada por diversos estímulos, como a retirada de fatores de crescimento, a elevação de p53 em resposta à lesão de DNA, o monitoramento da lesão de DNA por enzimas de reparo, ou por liberação de TNF ou outros fatores imunes. Contudo, as mutações em oncogenes podem criar células resistentes à apoptose.

Uma das formas em que isso ocorre é por meio da ativação de rotas de sinalização dependentes de fatores de crescimento que inibem a apoptose, como a rota PDGF/Akt/BAD. A BAD não-fosforilada age como a Bid na promoção da apoptose (ver Figura 18.16). A ligação do fator de crescimento derivado de plaquetas ao seu receptor ativa a PI-3-quinase, a qual fosforila e ativa a serina/treonina-quinase Akt (proteína-quinase B, ver Capítulo 11, Seção III.B.3). A ativação de Akt resulta em fosforilação da proteína BH3-único pró-apoptótica BAD, o que a torna inativa. A rota PDGF/Akt/BAD ilustra a necessidade de células normais da estimulação de fatores de crescimento para impedir a morte celular. Uma das características da transformação neoplásica é a perda da dependência do fator de crescimento para a sobrevivência.

A rota da MAP-quinase também está envolvida na regulação da apoptose e envia sinais de sobrevivência para a célula. A MAP-quinase fosforila e ativa outra proteína-quinase conhecida como RSK. Como a Akt, a RSK fosforila a BAD e inibe sua atividade. Assim, a BAD age como um local de convergência para as rotas da PI-3-quinase/Akt e MAP-quinase na sinalização da sobrevivência celular. As mutações de ganho de função nos genes controlando essas rotas, como *ras*, criam células resistentes à apoptose.

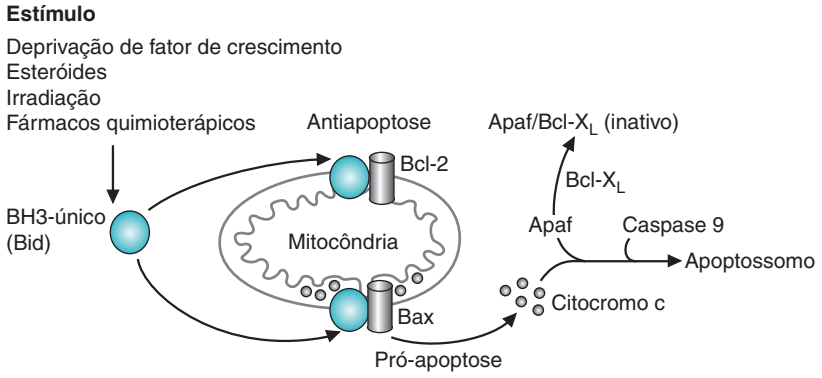


Figura 18.16 Funções dos membros da família Bcl-2 na regulação da apoptose. A Bcl-2, a qual é antiapoptótica, liga-se à Bid (ou tBid) e bloqueia a formação de canais que permitem a liberação de citocromo c pela mitocôndria. Os sinais de morte resultam na ativação de uma proteína BH3-único tal como Bid, a qual pode levar à formação de poro mitocondrial, edema e à liberação de citocromo c. A Bid se liga e ativa a proteína-canal iônico de membrana Bax, a qual se liga à Apaf e leva à formação de apoptose.

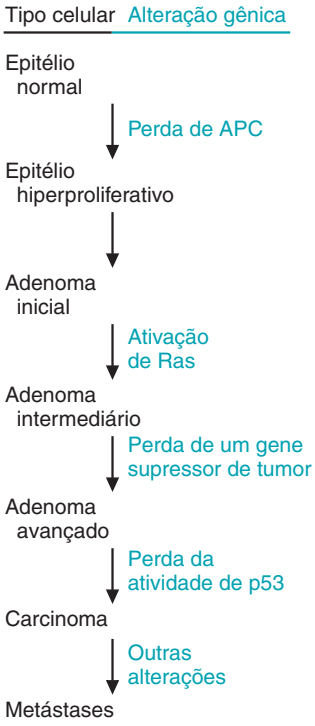


Figura 18.17 Possíveis etapas no desenvolvimento de câncer de cólon. As alterações não ocorrem sempre nessa ordem, mas os tumores mais benignos têm a freqüência mais baixa de mutações, e os mais malignos, a freqüência mais alta.

VI. CÂNCER NECESSITA DE MÚLTIPLAS MUTAÇÕES

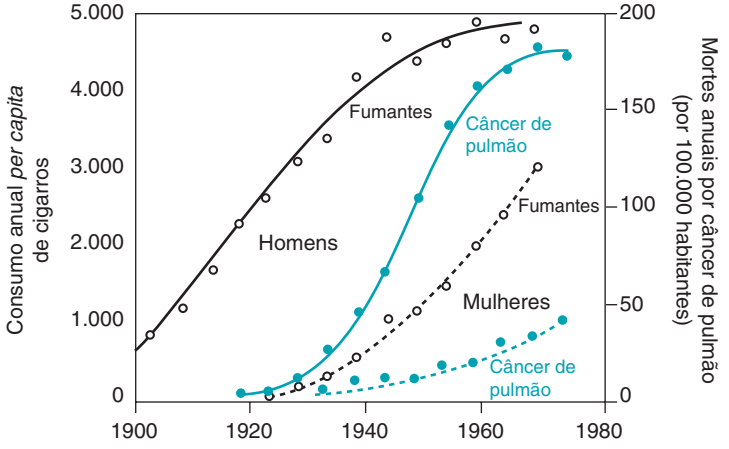
O câncer leva um longo tempo para se desenvolver em humanos devido à necessidade de múltiplas alterações genéticas para transformar células normais em células malignas (ver Figura 18.1). Uma única alteração em um oncogene ou gene supressor de tumor em uma célula individual não é adequada para a transformação. Por exemplo, se as células derivadas de amostras de biópsia ainda não estão "imortalizadas", isto é, capazes de crescer em cultura indefinidamente, a adição do oncogene *ras* às células não é suficiente para a transformação. Contudo, mutações adicionais em uma combinação de oncogenes, por exemplo, *ras* e *myc*, podem resultar em transformação (Figura 18.17). Os epidemiologistas têm estimado que quatro ou sete mutações são necessárias para as células normais serem transformadas.

As células acumulam múltiplas mutações por meio de expansão clonal. Quando a lesão do DNA ocorre em uma célula proliferativa normal, uma população de células com a mutação é produzida. A expansão da população mutada aumenta bastante a probabilidade de uma segunda mutação em uma célula contendo a primeira mutação. Após uma ou mais mutações em proto-oncogenes ou genes supressores de tumor, uma célula pode proliferar de forma mais rápida na presença de estímulos de crescimento e com mais mutações cresce de maneira autônoma, isto é, independente de controles normais de crescimento. O crescimento estimulado aumenta a probabilidade de mais mutações. Algumas famílias têm uma forte predisposição a câncer. Os indivíduos nessas famílias têm uma mutação ou deleção de um alelo de um gene supressor de tumor, e, quando a progenia daquela célula prolifera, as mutações podem ocorrer em um segundo alelo, levando à perda de controle da proliferação celular. Esses cânceres familiares incluem retinoblastoma familiar, polipose adenomatosa do cólon e neoplasia endócrina múltipla, uma forma que envolve tumores da tireóide, paratireóide e medula da supra-renal (MEN tipo II).

Os estudos de pólipos benignos e malignos do cólon mostram que esses tumores têm um número diferente de anormalidades genéticas. A incidência dessas mutações aumenta com o nível de malignidade. Em estágios iniciais, células normais do epitélio intestinal proliferam, desenvolvem mutações no gene APC, e pólipos se desenvolvem. Essa alteração está associada a uma mutação no proto-oncogene *ras* que o converte em um oncogene ativo. A progressão para o estágio seguinte está associada à deleção ou à alteração de um gene supressor de tumor no cromossomo 5. Subseqüentemente, as mutações ocorrem no cromossomo 18, inativando um gene que pode estar envolvido na adesão celular, e no cromossomo 17, inativando o gene supressor de tumor *p53*. As células se tornam



Nick O'Tyne fumou por 40 anos antes de seu câncer de pulmão se desenvolver. O fato de o câncer levar tanto tempo para se desenvolver tornou difícil provar que os carcinógenos na fumaça do cigarro causam câncer. Estudos na Inglaterra e País de Gales mostram que o consumo de cigarro por homens começou a aumentar no início de 1900. Após um intervalo de 20 anos, a incidência de câncer de pulmão também começou a aumentar. As mulheres começaram a fumar mais tarde, na década de 1920. Novamente a incidência de câncer de pulmão começou a aumentar após um intervalo de 20 anos.



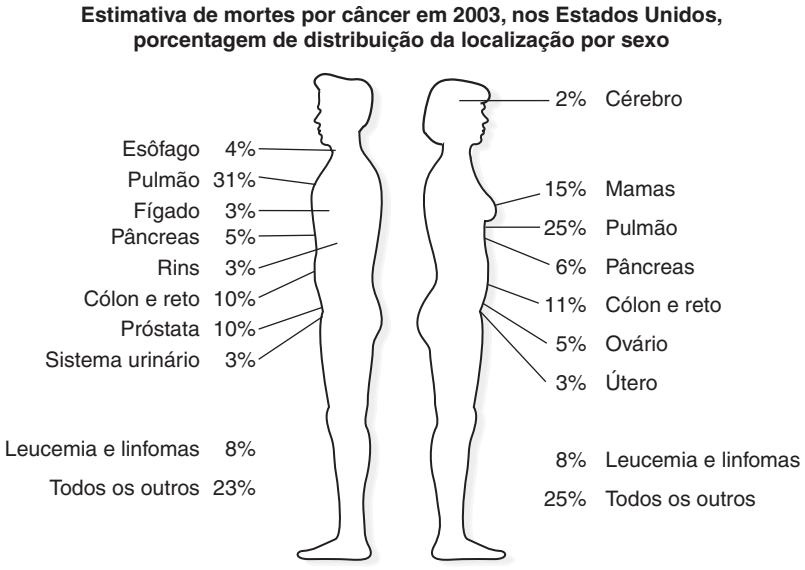


Figura 18.18 Mortes por câncer estimadas por localização e sexo. Dados da The American Cancer Society. Inc: Cancer Facts and Figures, 2003.

malignas, e mais mutações resultam em crescimento mais agressivo e metastático. Essa seqüência não é sempre seguida de forma precisa, mas um acúmulo de mutações nesses genes é encontrado em uma grande porcentagem de carcinomas de cólon.

VII. NO NÍVEL MOLECULAR, O CÂNCER CORRESPONDE A MUITAS DOENÇAS DIFERENTES

Mais de 20% das mortes nos Estados Unidos a cada ano são causadas por câncer, sendo os tumores dos pulmões, do intestino grosso e de mama os mais comuns (Figura 18.18). Tipos celulares diferentes tipicamente utilizam mecanismos diferentes por meio dos quais perdem a habilidade de controlar seu próprio crescimento. Um exame dos genes envolvidos no desenvolvimento de câncer mostra que um tipo particular de câncer pode ocorrer de múltiplas maneiras. Por exemplo, Patched e Smoothened são o receptor e o co-receptor para o peptídeo sinalizador, sonic hedgehog. A mutação de *smoothened*, um oncogene, ou a inativação de *patched,* um gene supressor de tumor, pode dar origem a um carcinoma de células basais. De forma similar, o fator de transformação β e suas proteínas de transdução do sinal SMAD4/DPC são parte da mesma rota inibitória de crescimento, e ambos podem estar ausentes no câncer de cólon. Assim, os tratamentos que têm sucesso para um paciente com câncer de cólon podem não ter sucesso em um segundo paciente com o mesmo tipo de câncer devido às diferenças na base molecular da doença de cada indivíduo (atualmente, esse parece ser o caso do câncer de mama também). A prática médica no futuro necessitará de identificação das lesões moleculares envolvidas em uma doença particular e, portanto, o desenvolvimento de tratamentos apropriados. A utilização da tecnologia de *chip* de genes (ver Capítulo 17) para genotipar os tecidos tumorais auxiliará muito no desenvolvimento de tratamentos específicos para cada paciente.

Um novo tratamento para LMC com base no planejamento racional de fármacos recentemente foi introduzido. A proteína de fusão Bcr-Abl é encontrada apenas em células transformadas expressando o cromossomo Filadélfia, e não em células normais. Uma vez que a estrutura de Bcr-Abl foi determinada, o fármaco Gleevec foi planejado para se ligar especificamente e inibir apenas o sítio ativo da proteína de fusão e não a proteína normal. O Gleevec teve sucesso em bloquear a função de Bcr-Abl, parando, assim, a proliferação celular, e em algumas células induziria a apoptose, de tal modo que as células morreriam. Como as células normais não expressam a proteína híbrida, não seriam afetadas pelo fármaco. O problema com esse tratamento é que alguns pacientes sofreram recidivas, e, quando suas proteínas Bcr-Abl foram estudadas, em alguns pacientes a proteína de fusão tinha uma única substituição de aminoácido próximo ao sítio ativo que impedia a ligação de Gleevec à proteína. Outros pacientes tiveram uma amplificação do produto do gene Bcr-Abl. Assim, Gleevec é uma primeira etapa promissora no planejamento de fármacos direcionados especificamente para as células tumorais e está levando ao planejamento racional de fármacos para o tratamento de câncer.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Mannie Weitzels. O tratamento de um paciente assintomático com LMC cuja contagem de células sangüíneas brancas está em excesso de 50.000 células/mL em geral é iniciado com busulfan. Os agentes alquilantes como ciclofosfami-

da têm sido utilizados sozinhos ou em combinação com busulfan. Os antagonistas de purina e pirimidina e a hidroxiuréia (um inibidor da enzima ribonucleotídeo-redutase, a qual converte ribonucleotídeos em desoxirribonucleotídeos para a síntese de DNA) algumas vezes são efetivos também na LMC. Além disso, estudos com interferon γ e β têm se mostrado promissores em aumentar a sobrevivência nesses pacientes. De maneira interessante, os últimos agentes têm sido associados ao desaparecimento do cromossomo Filadélfia em células em divisão da medula de alguns pacientes tratados dessa forma.



O sistema TNM padroniza a classificação de tumores. O T se refere ao estágio do tumor (quanto maior o número, pior o prognóstico), o N se refere ao número de linfonodos que estão afetados pelo tumor (de novo, quanto maior o número, pior o prognóstico) e M se refere à presença de mestástases (0 para nenhuma, 1 para a presença de células metastáticas).



Nick O' Tyne. A ressecção cirúrgica do câncer pulmonar primário em uma tentativa de cura estava justificada em Nick O'Tyne, que tinha um bom prognóstico com um estágio T1, N1, M0 no pré-operatório. Sem evidência de extensão para o sistema nervoso central naquele momento, uma tomografia computadorizada pré-operatória do cérebro não estava justificada. Essa abordagem conservadora necessitaria de escaneamento de todos os potenciais locais para a doença metastática de um câncer pulmonar de pequenas células em todos os pacientes que se apresentam dessa forma. Em uma época em que se evita custos com cuidados de saúde, tal abordagem poderia não ser considerada custo-efetiva.

Infelizmente, o Sr. O'Tyne desenvolveu uma lesão metastática no córtex temporal esquerdo do cérebro. Como é quase certo que as metástases estão em outros órgãos, o tumor do Sr. O'Tyne não foi tratado cirurgicamente. Apesar da terapia paliativa com radiação no cérebro, o Sr. O'Tyne sucumbiu à doença apenas nove meses após a descoberta, uma evolução virulenta incomum para esse tumor. No exame pós-morte, foram identificadas várias metástases no corpo.



Colin Tuma. Colin Tuma necessita de colonoscopias anuais para verificar novos pólipos no trato intestinal. Como o desenvolvimento de um adenoma metastático precisa de vários anos (devido ao grande número de mutações que devem ocorrer), revisões anuais permitirão que novos pólipos sejam identificados e removidos antes que tumores malignos se desenvolvam.



As mutações associadas a melanomas malignos incluem *ras* (ganho de função em oncogene de transdução de sinal de crescimento), p53 (perda de função de gene supressor de tumor), p16 (perda de função no gene supressor de tumor inibidor de Cdk), Cdk4 (ganho de função em um oncogene de progressão do ciclo celular) e regulação de caderina/catenina β (perda da regulação que necessita de ligação).



Mel Anoma. A biópsia da mola excisada de Mel Anoma mostrou que a mola não era maligna. O sinal clínico mais importante de um melanoma maligno é uma alteração na cor em uma lesão pigmentada. Diferente de nevos benignos (não-displásicos), os melanomas exibem grande variação na pigmentação, aparecendo em tons de preto, marrom, vermelho, azul-escuro e cinza. Sinais de alerta clínicos adicionais de um melanoma são aumento de uma mola preexistente, prurido ou dor em uma mola preexistente, desenvolvimento de uma nova lesão pigmentada durante a vida adulta e irregularidade das bordas de uma lesão pigmentada. **Mel Anoma** foi aconselhada a fazer auto-exame mensalmente, realizar exame clínico da pele duas vezes ao ano, evitar raios solares e utilizar protetores solares.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



Vírus e câncer humano. Três RNA retrovírus estão associados ao desenvolvimento de câncer em humanos: HTLV-1, HIV e hepatite C. Existem também DNA vírus associados a câncer.



HTLV- 1. O HTLV- 1 causa leucemia de células T em adultos. O genoma de HTLV-1 codifica uma proteína Tax, a qual é um co-ativador transcricional. Os proto-oncogenes *c-sis* e *c-fos* são ativados por Tax, alterando, assim, os controles normais na proliferação celular e levando à malignidade. Assim, *tax* é um oncogene viral sem um correspondente no genoma da célula hospedeira.

HIV. Infecção por HIV, o vírus causador da síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS), leva ao desenvolvimento de doença neoplásica por meio de vários mecanismos. A infecção por HIV leva à imunossupressão e, conseqüentemente, perda de vigilância de tumor imunomediada. Os indivíduos infectados por HIV estão predispostos a linfoma não-Hodgkin, o qual resulta de uma superprodução de células de linfócitos T. O genoma do HIV codifica uma proteína, Tat, um fator de transcrição que ativa a transcrição dos genes da *interleucina-6* e *interleucina-10* nas células T infectadas. IL-6 e IL-10 são fatores de crescimento que promovem a proliferação de células T e, assim, sua produção aumentada pode contribuir para o desenvolvimento de linfoma não-Hodgkin. A Tat pode também ser liberada por células infectadas e agir como um fator de crescimento angiogênico (formador de vasos sangüíneos). Parece que essa propriedade contribui para o desenvolvimento de sarcoma de Kaposi.

DNA vírus. Alguns DNA vírus também causam câncer em humanos, mas por mecanismos diferentes. Três famílias de vírus DNA tumorais, SV40, papilomavírus e adenovírus codificam proteínas que inativam pRb e p53. Ao intervir no ponto de checagem G_1/S, essas oncoproteínas aumentam a probabilidade de mutações em oncogenes serem incorporadas no genoma de células infectadas, aumentando, assim, a probabilidade de transformação. O vírus de Epstein-Barr codifica uma proteína Bcl-2 que restringe a apoptose da célula infectada.

Leituras Sugeridas

Culotta E, Koshland D Jr. Molecule of the year: p53 sweeps through cancer research. Science 1993;262:1958-1959.

Tamm I, Schriever F, and Dorhen B. Apoptosis: implications of basic research for clinical oncology. The Lancet Oncology 2001;2:33-42.

Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, et al. Genetic alterations during colorectal tumor development. N Engl J Med 1988;319:525.

Bertram JS. The molecular biology of cancer. Molecular Aspects Med 2000:21:167-223.

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, et al. Cancer. Chapter 23. In Molecular Biology of the Cell, 4th Ed. New York: Garland Scientific, 2002:1313-1362.

Weinberg RA. How cancer arises. Sci Am 1996:275:62-70.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 18

1. O oncogene *ras* nos pólipos malignos de Colin Tuma difere do proto-oncogene *c-ras* apenas na região que codifica a região N-terminal da proteína. Essa porção das seqüências normal e mutante é mostrada a seguir:

```
                10        20        30
Normal  ATGACGGAATATAAGCTGGTGGTGGTGGGCGCCGGCGGT
Mutante ATGACGGAATATAAGCTGGTGGTGGTGGGCGCCGTCGGT
```

   Essa mutação é similar à mutação encontrada no oncogene *ras* em vários tumores. Qual o tipo de mutação que converte o proto-oncogene *ras* em um oncogene?

   (A) Uma inserção que rompe a estrutura de leitura da proteína.
   (B) Uma deleção que rompe a estrutura de leitura da proteína.
   (C) Uma mutação *missense* que altera um aminoácido na proteína.
   (D) Uma mutação silenciosa que não tem alteração na seqüência da proteína.
   (E) Uma terminação precoce que cria um códon de parada na estrutura de leitura da proteína.

2. O mecanismo por meio do qual Ras se torna uma proteína oncogênica é qual dos seguintes?

   (A) Ras permanece ligada a GAP.
   (B) Ras não pode mais se ligar a cAMP.
   (C) Ras perdeu sua atividade de GTPase.
   (D) Ras não pode mais se ligar a GTP.
   (E) Ras não pode mais ser fosforilada por MAP-quinase.

3. Qual das seguintes afirmações descreve melhor uma característica de oncogenes?

   (A) Todos os retrovírus contêm pelo menos um oncogene.
   (B) Os oncogenes retrovirais foram originalmente obtidos a partir de um cromossomo de célula hospedeira.
   (C) Os proto-oncogenes são genes, encontrados em retrovírus, que têm o potencial de transformar células normais quando expressos inapropriadamente.
   (D) Os oncogenes que levam a doenças humanas são diferentes daqueles que levam a tumores em animais.
   (E) Os oncogenes são versões mutadas de produtos de genes virais normais.

4. Quando p53 aumenta em resposta à lesão de DNA, qual dos seguintes eventos ocorre?

   (A) p53 induz a transcrição de cdk4.
   (B) p53 induz a transcrição de ciclina.
   (C) p53 impede que E2F ative a transcrição.
   (D) p53 induz a transcrição de p21.
   (E) p53 fosforila diretamente o fator de transcrição jun.

5. Um gene supressor de tumor é mais bem descrito por qual das seguintes opções?

   (A) Uma mutação de ganho de função leva a proliferação descontrolada.
   (B) Uma mutação de perda de função leva a proliferação descontrolada.
   (C) Quando expresso, o gene impede que genes virais sejam expressos.
   (D) Quando expresso, o gene bloqueia especificamente o ponto de checagem G_1/S.
   (E) Quando expresso, o gene induz a formação de tumor.

Oxidação de Substratos Energéticos e Produção de ATP

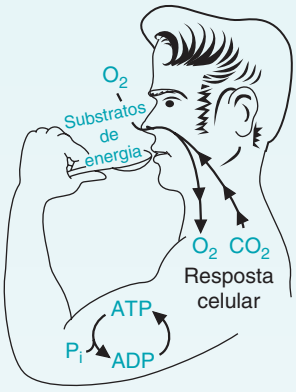


Figura 1 Transformações de energia no metabolismo de substratos energéticos. Quando a energia do ATP é transformada em respostas celulares, como contração muscular, o ATP é quebrado a ADP e P_i (fosfato inorgânico). Na respiração celular, O_2 é utilizado para regenerar ATP a partir da oxidação de substratos energéticos a CO_2.

Todos os processos fisiológicos nas células vivas necessitam de transformações de energia. As células convertem a energia de ligações químicas nos alimentos em outras formas, como um gradiente eletroquímico através da membrana plasmática, o movimento das fibras musculares em um braço ou a organização de moléculas complexas como o DNA (Figura 1). Essas transformações de energia podem ser divididas em três fases principais: (1) oxidação de substratos energéticos (gordura, carboidratos e proteínas), (2) conversão de energia a partir da oxidação em ligações de fosfato do ATP ricas em energia e (3) utilização da energia de ligações de fosfato do ATP para realizar os processos que necessitam de energia.

As duas primeiras fases da transformação de energia são parte da respiração celular, o processo geral de utilização de O_2 e energia derivada da oxidação de substratos energéticos para a produção de ATP. A respiração é necessária principalmente porque as células precisam de O_2 para produzir quantidades adequadas de ATP a partir da oxidação de substratos energéticos a CO_2. A respiração celular utiliza mais de 90% do O_2 respirado.

Na fase 1 da respiração, a energia é conservada a partir da oxidação de substratos energéticos por enzimas que transferem elétrons dos substratos para co-enzimas aceptoras de elétrons NAD^+ e FAD, as quais são reduzidas a NADH e FAD(2H), respectivamente (Figura 2). As rotas de oxidação da maioria dos substratos (glicose, ácidos graxos, corpos cetônicos e muitos aminoácidos) convergem na produção do grupo acetila de 2 carbonos acetil-CoA. A oxidação completa do grupo acetila a CO_2 ocorre no ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), o qual armazena a energia principalmente como NADH e FAD(2H).

Na fase 2 da respiração celular, a energia derivada da oxidação de substratos energéticos é convertida em ligações de fosfato ricas em energia do ATP pelo processo de fosforilação oxidativa (ver Figura 2). Os elétrons são transferidos do NADH e do FAD(2H) para O_2 pela cadeia de transporte de elétrons, uma série de proteínas de transferência de elétrons que estão localizadas na membrana mitocondrial interna. A oxidação de NADH e FAD(2H) por O_2 produz um potencial eletroquímico através da membrana mitocondrial interna na forma de um gradiente de prótons transmembrana (Δp). Esse potencial eletroquímico impulsiona a síntese de ATP a partir de ADP e P_i por uma enzima transmembrana chamada de ATP-sintase (ou F_0F_1ATPase).

Na fase 3 da respiração celular, as ligações de fosfato ricas em energia do ATP são utilizadas para processos como contração muscular (trabalho mecânico), manutenção de baixas concentrações intracelulares de Na^+ (trabalho de transporte), síntese de moléculas maiores, como o DNA, em rotas anabólicas (trabalho biossintético) ou detoxicação (trabalho bioquímico). Como conseqüência desses processos, o ATP é direta ou indiretamente hidrolisado a ADP e fosfato inorgânico (P_i), ou a AMP e pirofosfato (PP_i).

A respiração celular ocorre na mitocôndria (Figura 3). A matriz mitocondrial, a qual é o compartimento englobado pela membrana mitocondrial interna, contém quase todas as enzimas para o ciclo do TCA e a oxidação de ácidos graxos, corpos cetônicos e a maioria dos aminoácidos. A membrana mitocondrial interna contém os complexos protéicos da cadeia de transporte de elétrons e ATP-sintase, o complexo enzimático que produz ATP a partir de ADP e P_i. Algumas das subunidades desses complexos são

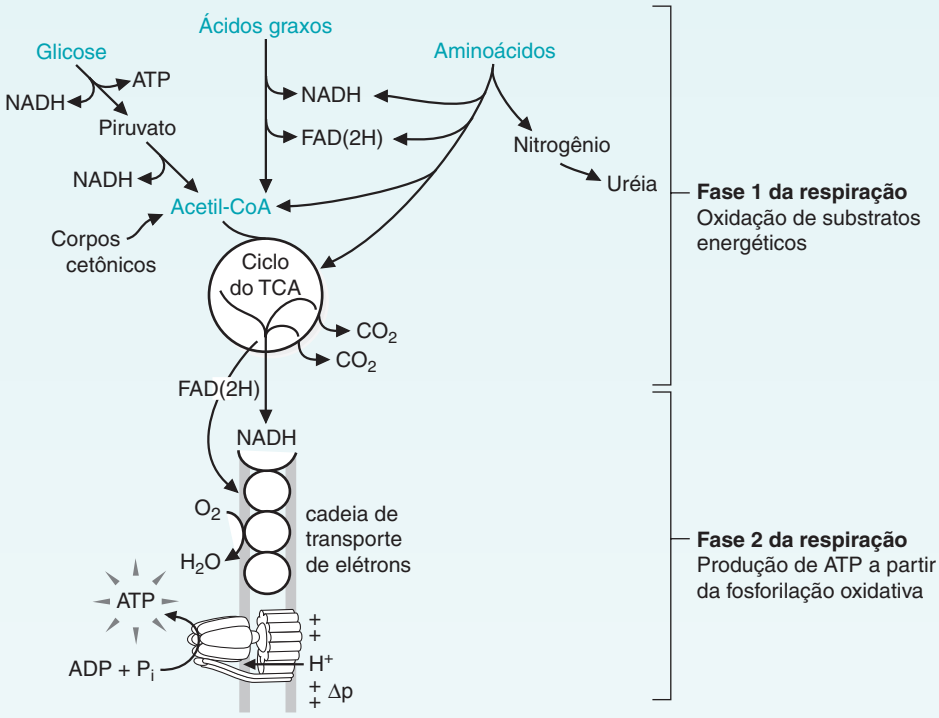


Figura 2 Respiração celular. Δp = gradiente de prótons.

Definições de prefixos e sufixos utilizados na descrição de condições clínicas:

an-:	sem
-emia:	sangue
hiper-:	excessivo, acima do normal
hipo-:	deficiente, abaixo do normal
-ose:	anormal ou doença
-úria:	urina

codificadas por DNA mitocondrial, o qual se localiza na matriz. O ATP é produzido na matriz, mas a maioria dos processos na célula que necessitam de energia ocorre fora da mitocôndria. Como conseqüência, o ATP recentemente produzido deve ser transportado de forma contínua para o citosol por proteínas transportadoras na membrana mitocondrial interna impermeável e pela difusão através de poros na membrana mitocondrial externa mais permeável.

As velocidades de oxidação de substratos energéticos e a utilização de ATP são bastante coordenadas por meio de regulação por retroalimentação da cadeia de transporte de elétrons e das rotas de oxidação de substratos energéticos. Assim, se menos energia é necessária para o trabalho, mais substrato energético é armazenado como glicogênio ou gordura no tecido adiposo. A taxa de metabolismo basal (TMB), o balanço calórico e o ΔG (a alteração da energia livre de Gibbs, a qual é a quantidade de energia disponível para realizar trabalho útil) são maneiras quantitativas de descrever as necessidades de energia e a energia que pode ser obtida a partir da oxidação de substratos. Os vários tipos de regulação de enzimas descritos no Capítulo 9 são todos utilizados para regular a velocidade de oxidação de diferentes substratos energéticos para corresponder às necessidades energéticas.

Um dos principais substratos energéticos do corpo é o ácido graxo. Após a alimentação, o ser humano armazena, como gordura (triacilgliceróis) no tecido adiposo, o excesso de ácidos graxos e carboidratos que não são oxidados. Entre as refeições, esses ácidos graxos são liberados e circulam no sangue ligados à albumina. No músculo, no fígado e em outros tecidos, os ácidos graxos são oxidados a acetil-CoA na rota da β-oxidação. NADH e FAD(2H) formados na β-oxidação são reoxidados por O_2 na cadeia de transporte de elétrons, produzindo, assim, ATP (ver Figura 2). Pequenas quantidades de certos ácidos graxos são oxidadas por outras rotas que as convertem a substratos energéticos oxidáveis ou produtos de excreção urinária (p. ex., β-oxidação peroxissomal).

Nem toda acetil-CoA produzida a partir de β-oxidação entra no ciclo do TCA. No fígado, a acetil-CoA produzida por β-oxidação de ácidos graxos pode ser convertida

a corpos cetônicos acetoacetato e β-hidroxibutirato. Os corpos cetônicos são captados pelos músculos e outros tecidos, os quais os convertem novamente em acetil-CoA para a oxidação no ciclo do TCA. Eles se tornam os principais substratos energéticos do cérebro durante jejum prolongado.

Os aminoácidos derivados de proteínas da dieta ou do corpo também são substratos energéticos potenciais que podem ser oxidados a acetil-CoA ou convertidos a glicose e, então, oxidados (ver Figura 2). Essas rotas de oxidação, como a dos ácidos graxos, produzem NADH ou FAD(2H). A amônia, a qual pode ser formada durante a oxidação de aminoácidos, é tóxica. Ela é, portanto, convertida a uréia no fígado e excretada na urina. Existem mais de 20 aminoácidos diferentes, cada um com uma rota diferente para a oxidação do esqueleto de carbono e a conversão de seu nitrogênio a uréia. Devido à complexidade do metabolismo de aminoácidos, a sua utilização como substratos energéticos é considerada na Parte Sete, Metabolismo do Nitrogênio.

A glicose é o substrato energético universal utilizado para produzir ATP em cada célula no corpo (Figura 4). Na glicólise, um mol de glicose é convertido em dois moles de piruvato e dois moles de NADH por enzimas citosólicas. Pequenas quantidades de ATP são produzidas quando intermediários ricos em energia das rotas metabólicas transferem fosfato para ADP em um processo chamado de fosforilação em nível de substrato. Na glicólise aeróbica, o NADH produzido a partir da glicólise é reoxidado por O_2 através da cadeia de transporte de elétrons, e o piruvato entra no ciclo do TCA. Na glicólise anaeróbica, o NADH é reoxidado pela conversão de piruvato a lactato, o qual entra no sangue. Embora a glicólise anaeróbica tenha uma baixa formação de ATP, ela é importante para os tecidos com um baixo suprimento de oxigênio e com poucas mitocôndrias (p. ex., a medula renal) ou os tecidos em que está ocorrendo fluxo sangüíneo diminuído (isquemia).

Todas as células utilizam continuamente ATP e necessitam de um fornecimento constante de suprimentos para fornecer energia para a produção de ATP. Os Capítulos 1 a 3 deste livro destacam os padrões básicos da utilização de substratos energéticos em humanos e fornecem informação sobre os componentes da dieta.

As conseqüências patológicas de problemas metabólicos na oxidação de substratos energéticos podem ser agrupadas em duas categorias: (1) falta de um produto necessário ou (2) excesso de um substrato ou rota intermediária. O produto da oxidação é ATP, e uma taxa inadequada de produção de ATP ocorre sob uma ampla variedade de condições médicas. Condições extremas que interferem com a produção de ATP a partir da fosforilação oxidativa, como privação completa de oxigênio (anoxia) ou envenenamento por cianeto, são fatais. Um infarto do miocárdio é causado por uma falta de fluxo sangüíneo adequado para regiões do coração (isquemia), privando, assim, os cardiomiócitos de oxigênio e substratos energéticos. O hipertireoidismo está associado à geração excessiva de calor a partir da oxidação de substratos energéticos, e no hipotireoidismo a produção de ATP pode diminuir a um nível fatal. Condições como má nutrição, anorexia nervosa ou consumo excessivo de álcool podem diminuir a disponibilidade de tiaminas, Fe^{2+} e outras vitaminas e minerais necessários pelas enzimas da oxidação de substratos energéticos. Mutações no DNA mitocondrial ou DNA nuclear resultam em deficiência de produção de ATP a partir do metabolismo oxidativo.

Em contraste, problemas causados por um excesso de substrato ou substratos energéticos são vistos no diabetes melito, o qual pode resultar em uma cetoacidose potencialmente fatal. A acidose lática ocorre com problemas do metabolismo oxidativo.

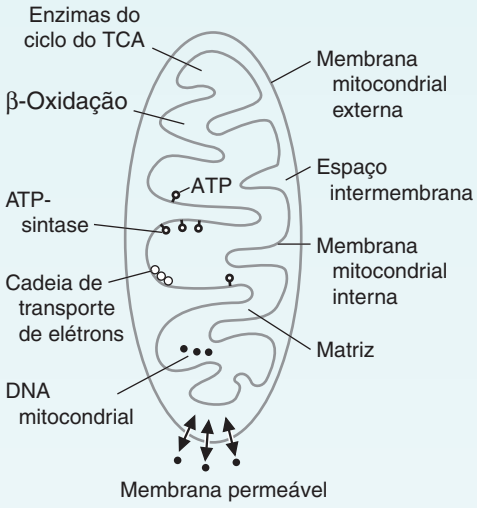


Figura 3 Metabolismo oxidativo na mitocôndria. A membrana mitocondrial interna forma dobras internas chamadas de cristas, as quais envolvem a matriz mitocondrial. A maioria das enzimas do ciclo do TCA, da β-oxidação de ácidos graxos e da síntese mitocondrial de DNA é encontrada na matriz. A ATP-sintase e os complexos de proteínas da cadeia de transporte de elétrons estão localizados na membrana mitocondrial interna. A membrana mitocondrial externa é permeável a pequenos íons, mas a interna é impermeável.

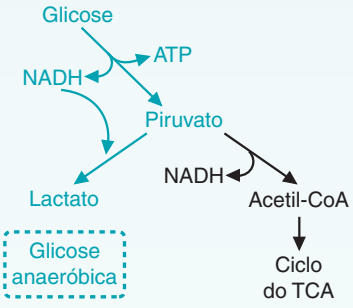


Figura 4 Glicólise. Na glicólise, a glicose é convertida a piruvato. Se o piruvato é reduzido a lactato, a rota não necessita de O_2 e é chamada de glicólise anaeróbica. Contudo, se esse piruvato é convertido a acetil-CoA e oxidado no ciclo do TCA, a glicólise necessita de O_2 e é aeróbica.

Esta página foi deixada em branco intencionalmente,

19 Bioenergética Celular: ATP e O_2

Bioenergética *se refere às* ***transformações de energia celular***.

O ciclo do ATP e ADP. *Nas células, a energia das* ***ligações químicas dos substratos energéticos*** *é transformada em respostas fisiológicas necessárias para a vida. O papel central das* ***ligações de fosfato ricas em energia do ATP*** *nesses processos está resumido no ciclo* ***ATP-ADP*** *(Figura 19.1). Para produzir ATP por meio de respiração celular, os substratos energéticos são degradados por reações oxidativas que transferem a maioria de sua* ***energia de ligação química*** *para NAD^+ e FAD para produzir a forma reduzida dessas enzimas,* ***NADH*** *e* ***FAD(2H)***. *Quando NADH e FAD(2H) são oxidados por O_2 na cadeia de transporte de elétrons, a energia é utilizada para regenerar ATP no processo de* ***oxidação fosforilativa***. *A energia disponível da quebra de ligações de fosfato de alta energia do ATP pode ser utilizada diretamente para o* ***trabalho mecânico*** *(p. ex., contração muscular) ou para o* ***trabalho de transporte*** *(p. ex., um gradiente de Na^+ gerado pela* ***Na^+/K^+-ATPase***). *Ela pode também ser utilizada para o* ***trabalho bioquímico*** *(reações químicas que necessitam de energia), como* ***rotas anabólicas*** *(biossíntese de grandes moléculas como proteínas) ou reações de destoxificação. As reações de* ***transferência de grupos fosforila***, *as* ***alterações conformacionais em proteínas*** *e a formação de* ***intermediários ativados*** *contendo* ***ligações ricas em energia*** *(p. ex., glicídeos UDP) facilitam essas transformações de energia. A energia liberada de alimentos que não é utilizada para o trabalho contra o ambiente é transformada em* ***calor***.

Homeostase do ATP. *A oxidação de substratos energéticos é regulada para manter a* ***homeostase do ATP*** (homeo, *mesmo;* stasis, *estado). Independentemente de o nível celular de utilização de substratos energéticos ser alto (com consumo aumentado de ATP) ou baixo (com diminuição do consumo de ATP), a disponibilidade de ATP dentro da célula é mantida em um nível constante por aumentos ou diminuições apropriados na velocidade de oxidação de substratos energéticos. Problemas na homeostase do ATP e no equilíbrio de energia ocorrem na obesidade, no hipertireoidismo e no infarto do miocárdio.*

Energia da oxidação de substratos energéticos. *A oxidação de substratos energéticos é* ***exoergônica***; *ela libera energia. A quantidade máxima de energia liberada que é disponível para trabalho útil (p. ex., síntese de ATP) é chamada de $\Delta G^{0'}$, a* ***alteração na energia livre de Gibbs*** *em pH 7,0 sob certas condições. A oxidação de substratos energéticos tem um* ***$\Delta G^{0'}$ negativo***, *isto é, os produtos têm uma energia de ligação química mais baixa do que os reagentes, e sua formação é energeticamente favorecida. A síntese de ATP a partir de ADP e fosfato inorgânico é* ***endoergônica***; *ela requer energia e tem um $\Delta G^{0'}$ positivo. Para ocorrerem nas células humanas, todas as rotas devem ter um $\Delta G^{0'}$ negativo. Como isso é conseguido para rotas anabólicas como a síntese de glicogênio? Essas rotas metabólicas incorporam reações que gastam ligações ricas em energia para compensar as etapas que necessitam de energia. Devido ao fato de os* ***$\Delta G^{0'}$s serem aditivos***, *para uma seqüência de reações, a rota geral se torna energeticamente favorável.*

Os substratos energéticos são oxidados principalmente pela doação de elétrons para NAD^+ e FAD, os quais, então, doam elétrons para O_2 na cadeia de transporte de elétrons. O ***valor calórico*** *de um substrato energético está relacionado com seu $\Delta G^{0'}$ para a transferência de elétrons para O_2 e seu* ***potencial de redução, $E^{0'}$*** *(uma medida*

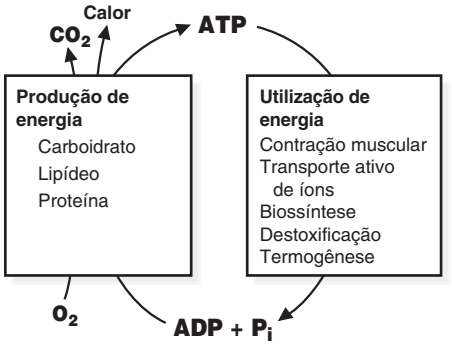
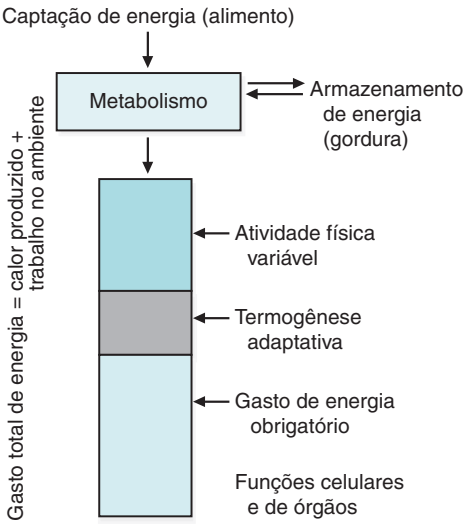


Figura 19.1 Ciclo ATP-ADP.

Na perspectiva termodinâmica do gasto de energia, em que a captação de energia pelo corpo excede o que é gasto, a diferença é armazenada como gordura.



A porção dos alimentos que é metabolizada é regulada para corresponder ao gasto total de energia do corpo. Uma certa quantidade de energia é obrigatória (a quantidade de energia gasta para realizar o trabalho das células, a TMB). Alguma energia também é gasta para termogênese adaptativa, produção de calor em resposta ao frio ou dieta. Uma quantidade adicional de energia é utilizada para exercício físico (trabalho contra o ambiente). Para armazenar voluntariamente menos energia como gordura, pode-se variar a ingesta calórica da dieta ou o gasto de energia por alterações no programa de exercício físico.

Cora Nari teve um ataque cardíaco há oito meses e teve uma perda significante de músculo cardíaco funcional. A dor que ela está sentindo é chamada de *angina pectoris*, a qual é uma dor em aperto ou constrição localizada no centro do peito, com freqüência irradiando para o pescoço ou os braços (ver Ann Jeina, Capítulos 6 e 7). A causa mais comum de *angina pectoris* é o bloqueio parcial de artérias coronárias por aterosclerose. As células do músculo cardíaco distais ao bloqueio recebem fluxo sangüíneo e oxigênio inadequado, morrendo quando a produção de ATP fica baixa demais.

da sua disposição em doar, ou aceitar, elétrons). Devido ao fato de os ácidos graxos serem mais reduzidos do que os carboidratos, eles têm um valor calórico mais alto. A alta afinidade do oxigênio por elétrons (um potencial de redução positivo alto) faz avançar a oxidação de substratos energéticos, com liberação de energia que pode ser utilizada para a síntese de ATP na fosforilação oxidativa. Contudo, quantidades menores de ATP podem ser geradas sem o uso de O_2 na **glicólise anaeróbica**.

A oxidação de substratos energéticos também pode produzir NADPH, o qual em geral doa elétrons para as rotas biossintéticas e as reações de detoxicação. Por exemplo, em algumas reações catalisadas por oxigenases, o NADPH é o doador de elétron, e o O_2 é o aceptor de elétron.

SALA DE ESPERA

Otto Shape é um estudante de medicina de 26 anos que completou o primeiro ano na Faculdade de Medicina. Ele mede 1,78 m e iniciou o curso pesando 69,8 kg, dentro de sua faixa de peso ideal (ver Capítulo 1). Quando terminou seu último exame no primeiro ano, pesava 84,8 kg. Ele calculou sua TMB em aproximadamente 1.680 kcal e seu gasto de energia para exercício físico em 30% de sua TMB. Ele planejou retornar ao peso que tinha antes de ingressar na Faculdade de Medicina em seis semanas durante o verão comendo 576 kcal a menos e jogando sete horas de tênis todos os dias. Contudo, ele realizou um estágio de férias no verão em vez de jogar tênis. Quando Otto iniciou o segundo ano na Faculdade de Medicina, ele pesava 95,3 kg.

X. S. Teefore (excesso de T_4) é um homem de 26 anos que apresentou intolerância ao calor, com sudorese intensa, palpitações cardíacas e tremores. Nos últimos quatro meses, ele perdeu peso apesar de ter um bom apetite. Ele tem dormido mal e relata estar se sentindo "nervoso por dentro".

Ao exame físico, a freqüência cardíaca apresenta-se acelerada (116 bpm) e ele parece agitado e nervoso. A pele está quente, e ele está respirando profusamente. Um tremor fino nas mãos é observado quando ele estende os braços na frente do peito. A glândula tireóide parece estar difusamente aumentada e, à palpação, está aproximadamente três vezes seu tamanho normal. Testes de função tireoidiana confirmam que a tireóide do Sr. Teefore está secretando quantidades excessivas dos hormônios tireóideos T_4 (tetraiodotironina) e T_3 (triiodotironina), os principais hormônios tireóideos presentes no sangue.

Cora Nari é uma mulher de 64 anos que teve um infarto do miocárdio há oito meses. Embora tenha conseguido perder 2,7 kg desde então, ela permanece com sobrepeso e não reduziu de forma adequada o conteúdo de gordura da dieta. O programa graduado de exercício que ela iniciou cinco semanas após o infarto do miocárdio é agora realizado irregularmente, estando longe da intensidade de condicionamento cardíaco prescrito pelo cardiologista. Ela foi hospitalizada novamente na unidade de cuidado cardíaco (UCC) do hospital após sentir uma "pressão como em um torno" (pressão como se estivesse sendo apertada [amassada] numa prensa ou torno) grave na área média do peito enquanto retirava gelo do pára-brisa de seu carro. O eletrocardiograma (ECG) mostra evidência de um novo infarto na parede miocárdica posterior. Sinais e sintomas de insuficiência ventricular esquerda estão presentes.

I. ENERGIA DISPONÍVEL PARA TRABALHO

O princípio básico do ciclo ATP-ADP é que a oxidação de substratos energéticos produz ATP, e a hidrólise de ATP a ADP fornece a energia para realizar a maior parte do

trabalho necessário na célula. O ATP tem, portanto, sido chamado de "moeda corrente" das células humanas. Como a nota de um dólar, ele tem um valor definido, é necessário para obter bons serviços e desaparece antes que seja visto. Para acompanhar a demanda, o abastecimento de ATP deve ser constantemente refeito pelo uso de O_2 para a oxidação de substratos energéticos.

A quantidade de energia da quebra de ATP disponível para realizar o trabalho útil está relacionada com a diferença em níveis de energia entre os produtos e os substratos da reação e é chamada de alteração na energia livre de Gibbs, ΔG (Δ, diferença; G, energia livre de Gibbs). Nas células, o ΔG para a produção de energia a partir da oxidação de substratos energéticos deve ser maior do que o ΔG de processos que necessitam de energia, como a síntese de proteínas e a contração muscular, para que a vida continue.

O coração é um especialista na transformação da ligação química rica em energia do ATP em trabalho mecânico. Cada batida cardíaca utiliza 2% do ATP do coração. Se o coração não fosse capaz de regenerar ATP, todo o seu ATP seria hidrolisado em menos de um minuto. Devido ao fato de a quantidade de ATP necessária pelo coração ser tão alta, ele deve depender de uma rota de fosforilação oxidativa para a produção desse ATP. No coração de **Cora Nari**, a hipoxia está afetando a sua habilidade de produzir ATP.

A. As Ligações de Fosfato Ricas em Energia do ATP

A quantidade de energia liberada ou necessária para a quebra de ligação ou formação é determinada pelas propriedades químicas dos substratos e dos produtos. As ligações entre os grupos fosfato do ATP são chamadas de ligações anidrido-fosfóricas (Figura 19.2). Quando essas ligações são hidrolisadas, a energia é liberada, pois os produtos da reação (ADP e fosfato) são mais estáveis, com ligações de energia mais baixas do que os reagentes (ATP e H_2O). A instabilidade das ligações anidrido-fosfóricas se origina de seus grupos fosfato negativamente carregados, os quais repelem uns aos outros e tencionam as ligações entre eles. É preciso energia para fazer os grupos fosfato permanecerem juntos. Em contraste, existem menos cargas negativas no ADP para repelir umas às outras. O grupo fosfato como um ânion livre é mais estável do que no ATP devido a um aumento nas estruturas ressonantes (ou seja, os elétrons da ligação dupla do oxigênio são compartilhados por todos os átomos de oxigênio). Como conseqüência, a hidrólise do ATP é energeticamente favorável e ocorre com liberação de energia como calor.

Na célula, o ATP não é diretamente hidrolisado. A energia liberada como calor a partir da hidrólise de ATP não pode ser transferida de forma eficiente para processos que requerem energia, como reações biossintéticas ou manutenção de um gradiente de íons. Em vez disso, as enzimas celulares transferem diretamente o grupo fosfato para um intermediário metabólico ou proteína que é parte do processo que requer energia (uma reação de transferência de fosforila).

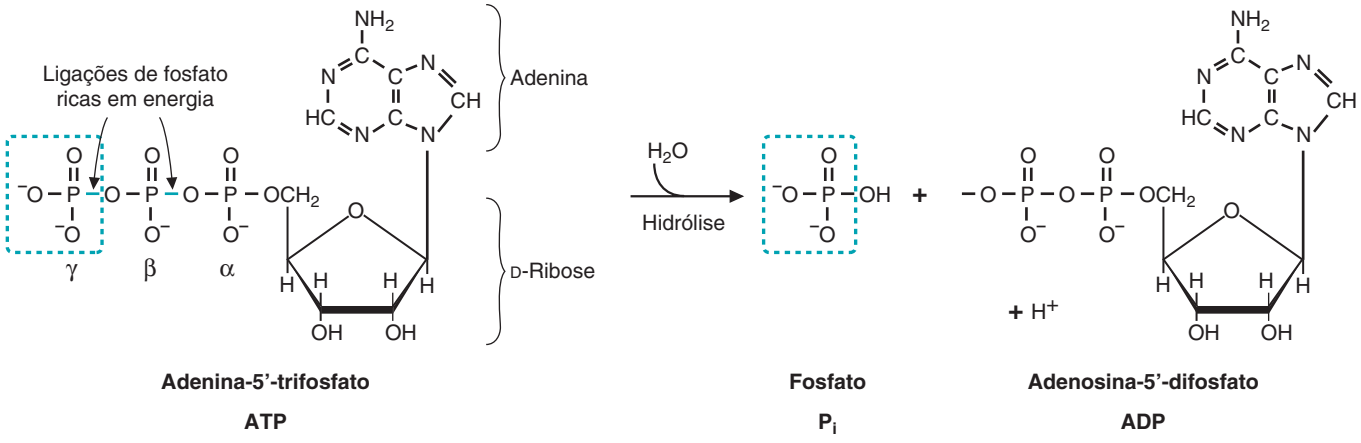


Figura 19.2 Hidrólise de ATP a ADP e fosfato inorgânico (P_i). A quebra das ligações anidrido-fosfóricas entre os fosfatos β e γ ou os fosfatos α e β libera a mesma quantidade de energia, aproximadamente -7,3 kcal/mol. Contudo, a hidrólise da ligação fosfoadenosina (uma ligação fosfoéster) libera menos energia (-3,4 kcal/mol), e, conseqüentemente, essa ligação não é considerada uma ligação de fosfato de alta energia. Durante a hidrólise do ATP, a alteração na desordem durante a reação é pequena, e, assim, os valores de ΔG em temperaturas fisiológicas (37°C) são similares àqueles da temperatura-padrão (25°C). O ΔG é afetado pelo pH, o qual altera o estado de ionização dos grupos fosfato do ATP, e pela concentração intracelular de íons Mg^{2+}, os quais ligam os grupos fosfato β e γ do ATP.

B. Alteração na Energia Livre (ΔG) Durante uma Reação

Quanta energia pode ser obtida a partir da hidrólise de ATP para realizar o trabalho necessário na célula? A quantidade máxima de energia útil que pode ser obtida de uma reação é chamada de ΔG, a variação da energia livre de Gibbs. O valor de ΔG para uma reação pode ser influenciado por concentração inicial de substratos e produtos, temperatura, pH e pressão. O ΔG^0 se refere à variação de energia de uma reação iniciando com concentrações de 1 M de substrato e produto até atingir o equilíbrio (equilíbrio, por definição, ocorre quando não há alteração nas concentrações de substratos e produtos com o tempo). $\Delta G^{0'}$ é o valor de ΔG^0 sob condições-padrão (pH = 7,0, $[H_2O]$ = 55 M e 250C), bem como concentrações-padrão (Tabela 19.1).

O $\Delta G^{0'}$ é equivalente à energia das ligações químicas dos produtos menos as dos reagentes, corrigido para a energia gasta com a entropia (um aumento na quantidade de desordem molecular). Essa correção para a mudança na entropia é muito pequena para a maioria das reações que ocorrem nas células, e, assim, o $\Delta G^{0'}$ para a hidrólise de várias ligações químicas reflete na quantidade de energia disponível daquela ligação.

O valor de -7,3 kcal/mol (-30,5 kJ/mol) que é o $\Delta G^{0'}$ da hidrólise do ATP é, assim, a quantidade de energia disponível a partir da hidrólise de ATP sob condições-padrão que pode ser utilizada em processos que necessitam de energia; ela define o "valor monetário" da "moeda ATP". Embora a diferença entre as condições celulares (pH 7,3, 370C) e as condições-padrão seja muito pequena, a diferença entre as concentrações de ATP, ADP e P_i e as concentrações-padrão 1-M é enorme e afeta bastante a disponibilidade de energia na célula.

C. Reações Exotérmicas e Endotérmicas

O valor de $\Delta G^{0'}$ indica se a reação requer ou libera energia, a quantidade de energia envolvida e a razão entre produtos e substratos no equilíbrio. O valor negativo de $\Delta G^{0'}$ para a hidrólise de ATP indica que, iniciando-se com concentrações equimolares (1 M)

Q: A reação catalisada pela fosfoglicomutase (PGM, do inglês *phosphoglucomutase*) é reversível e funciona na síntese de glicogênio a partir de glicose bem como na degradação de glicogênio novamente em glicose. Se o $\Delta G^{0'}$ para a conversão de glicose-6-P a glicose-1-P é +1,65 kcal/mol, qual é o $\Delta G^{0'}$ da reação reversa?

Tabela 19.1 Expressões, Leis e Constantes Termodinâmicas

Definições	
ΔG	Variação da energia livre ou energia livre de Gibbs
ΔG^0	Variação-padrão de energia livre, ΔG em concentrações de 1 M de substratos e produtos
$\Delta G^{0'}$	Variação-padrão de energia livre a 25°C, pH 7,0
ΔH	Variação da entalpia ou conteúdo de calor
ΔS	Variação da entropia ou aumento na desordem
K'_{eq}	Constante de equilíbrio a 25°C, pH 7,0 incorporando $[H_2O]$ = 55,5 M e $[H^+] = 10^{-7}$ M na constante
$\Delta E^{0'}$	Variação do potencial de redução
~P	Símbolo bioquímico para uma ligação de fosfato rica em energia, ou seja, uma ligação que é hidrolisada com a liberação de mais do que 7 kcal/mol de calor
Leis da termodinâmica	
Primeira lei da termodinâmica: a conservação de energia. Em qualquer variação física ou química, a energia total do sistema, incluindo os arredores, permanece constante.	
Segunda lei da termodinâmica: o universo tende à desordem. Em todos os processos naturais, a entropia total de um sistema sempre aumenta.	
Constantes	
Unidades de ΔG e ΔH = cal/mol ou J/mol: 1 cal = 4,18 J	
T, temperatura absoluta: K, Kelvin = 273 + °C (25°C = 298°K)	
R, constante universal dos gases: 1,99 cal/mol • K ou 8,31 J/mol • K	
F, constante de Faraday: F = 23 kcal/mol-volt ou 96.500 J/V • mol	
Unidades de E_0', volts	
Fórmulas	
$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$	
$\Delta G^{0'} = -RT \ln K'_{eq}$	
$\Delta G^{0'} = -nF\Delta E^{0'}$	
$\ln = 2{,}303 \log_{10}$	

Tabela 19.2 Uma Expressão Geral para ΔG

Para generalizar a expressão para ΔG, considere a reação na qual

$$aA + bB \rightleftarrows cC + dD$$

As letras pequenas indicam que a moles de A se combinaram com b moles de B para produzir c moles de C e d moles de D.

$$\Delta G^{0'} = -RT \ln K'_{eq} = -RT \ln \frac{[C]^c_{eq}[D]^d_{eq}}{[A]^a_{eq}[B]^b_{eq}}$$

e

$$\Delta G = \Delta G^{0'} + RT \ln \frac{[C]^C[D]^d}{[A]^a[B]^b}$$

de substratos e produtos, a reação prossegue na direção de formação do produto, com liberação de energia. A partir das concentrações iniciais de 1 M, a concentração de ATP diminui, e ADP e P_i aumentam até que o equilíbrio seja alcançado.

Para uma reação na qual um substrato S é convertido em um produto P, a razão da concentração do produto pela concentração do substrato no equilíbrio é dada por:

Equação 1:

$$\Delta G^{0'} = -RT \ln [P]/[S]$$

(ver Tabela 19.2 para uma fórmula mais geral dessa equação, R é igual à constante de gás (1,98 calorias/mol-grau Kelvin), e T é igual à temperatura (em graus Kelvin).

Assim, a diferença nas energias das ligações químicas dos substratos e produtos ($\Delta G^{0'}$) determina a concentração de cada um no equilíbrio.

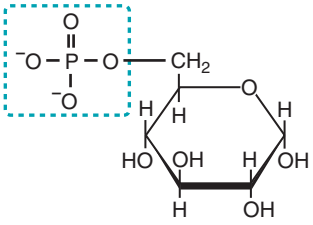
Reações como a hidrólise do ATP são exoergônicas (liberam energia) ou exotérmicas (liberam calor). Elas têm um $\Delta G^{0'}$ negativo e liberam energia enquanto prosseguem em direção ao equilíbrio. As reações endoergônicas ou endotérmicas têm um $\Delta G^{0'}$ positivo para avançar (a direção mostrada), e a direção inversa é favorecida. Por exemplo, na rota da síntese de glicogênio, a fosfoglicomutase converte glicose-6-P a glicose-1-P. A glicose-1-P tem uma ligação de fosfato com mais energia do que a glicose-6-P, pois o fosfato está no carbono aldeído (Figura 19.3). O $\Delta G^{0'}$ para a direção direta (glicose-1-P → glicose-6-P) é, portanto, positivo. Iniciando com concentrações equimolares de ambos os compostos, há uma conversão líquida de glicose-1-fosfato de volta a glicose-6-fosfato, e, no equilíbrio, a concentração de glicose-6-fosfato é maior do que a de glicose-1-fosfato. A razão exata é determinada por $\Delta G^{0'}$ para a reação.

Com freqüência é dito que uma reação com um $\Delta G^{0'}$ negativo ocorre de forma espontânea na direção direta, significando que os produtos se acumulam às custas dos reagentes. Contudo, o $\Delta G^{0'}$ não é um indicador da velocidade da reação, ou da porcentagem na qual o equilíbrio pode ser alcançado. Na célula, a velocidade da reação depende da eficiência e da quantidade de enzima disponível para catalisar a reação (ver Capítulo 9), e, portanto, "de forma espontânea" nesse contexto pode ser enganoso.

II. TRANSFORMAÇÕES DE ENERGIA PARA REALIZAR O TRABALHO MECÂNICO E DE TRANSPORTE

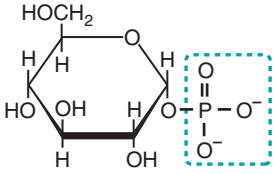
Para a realização de trabalho na célula, um mecanismo deve estar disponível para converter a energia de ligações químicas do ATP em outra forma, como um gradiente de Na^+ através de uma membrana. Essas transformações de energia em geral envolvem etapas intermediárias nas quais o ATP é ligado a uma proteína, e a quebra do ATP ligado resulta em uma alteração conformacional da proteína.

R: O $\Delta G^{0'}$ para a reação reversa é -1,65 kcal. A variação da energia livre é a mesma para as direções direta e inversa, mas tem sinais opostos. Devido ao fato de valores de $\Delta G^{0'}$ negativos indicarem reações favoráveis, essa reação sob condições-padrão favorece a conversão de glicose-1-P a glicose-6-P.



Glicose-6-fosfato (G6P)

PGM



Glicose-1-fosfato (G1P)

Para a reação G6P ⟶ G1P:

$\Delta G^{0'} = +1{,}6$ kcal/mol

$$\Delta G^{0'} = -RT \ln \frac{[G1P]}{[G6P]}$$

Figura 19.3 A reação da fosfoglicomutase. A direção direta está envolvida na conversão da glicose a glicogênio, e a direção inversa está envolvida em converter glicogênio em glicose-6-P.

Q: O $\Delta G^{0'}$ para a conversão de glicose-6-P a glicose-1-P é ±1,65 kcal/mol. Qual é a razão entre [glicose-1-P] e [glicose-6-P] no equilíbrio?

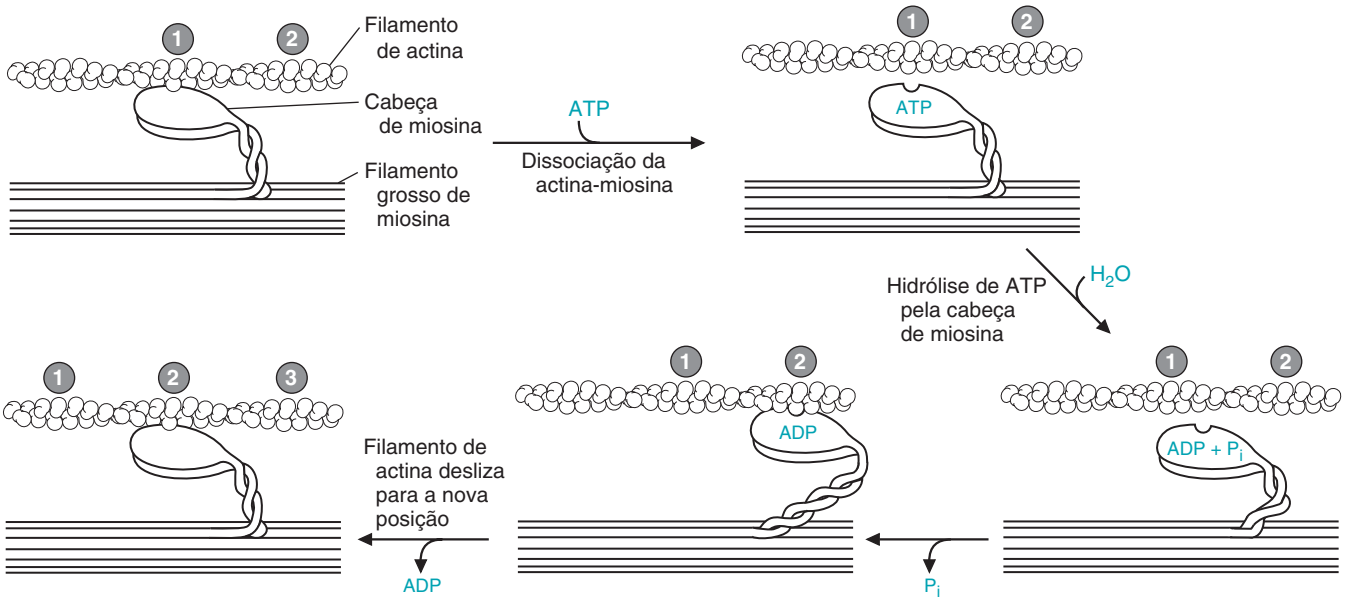


Figura 19.4 Um diagrama simplificado da miosina-ATPase. A fibra muscular é constituída por filamentos grossos, compostos por feixes da proteína miosina, e por filamentos finos, compostos pela proteína actina (a qual é ativada pela ligação de Ca^{2+}). Em muitas posições ao longo do filamento de actina, um domínio terminal de uma molécula de miosina, referido como "cabeça", liga-se a um sítio específico na actina. A cabeça de miosina tem um sítio de ligação para ATP e é uma ATPase; ela pode hidrolisar ATP em ADP e P_i. (1) Quando o ATP se liga à miosina, a conformação da miosina se altera, e ela se dissocia da actina. (2) A miosina hidrolisa o ATP, novamente alterando a conformação. (3) Quando P_i se dissocia, a cabeça de miosina se reassocia com a actina ativada em uma nova posição. (4) À medida que o ADP se dissocia, a miosina novamente altera a conformação ou se estica. Essa alteração de conformação em múltiplos pontos de associação entre actina e miosina desliza o filamento de actina para a frente (5).

R: Na equação 1 da Tabela 19.2, $\Delta G^{0\prime} = RT \ln K_{eq}$. Para essa reação, K_{eq} = [glicose-1-fosfato]/[glicose-6-fosfato]. A constante R é 1,99 x 10^{-3} kcal/mol– °K, e T é (273 + 25) °K, de tal maneira que RT é igual a 0,593 kcal/mol. Substituindo na equação 1, então se obtém 1,65 = -0,593 ln [glicose-1-P]/[glicose-6-P]. Assim, ln[glicose 1-P]/[glicose 6-P]= -2,78, e [glicose-1-P]/[glicose-6-P] = $e^{-2,78}$, ou 0,062. Assim, a razão entre [glicose-1-P] e [glicose-6-P] no equilíbrio é 0,062.



Otto Shape não seguiu a dieta e os exercícios propostos e tem ganhado peso. Ele tem um balanço calórico positivo, pois seu gasto diário de energia é menor do que sua ingesta diária de energia (ver Capítulo 2). Embora o gasto de energia por exercício físico seja de apenas aproximadamente 30% da TMB (taxa metabólica basal) em um indivíduo sedentário, ela pode ser de 100% ou mais da TMB em uma pessoa que se exercita intensamente por várias horas. O grande aumento da utilização de ATP para a contração muscular durante o exercício é responsável por sua contribuição para o gasto diário de energia.

A. Trabalho Mecânico

No trabalho mecânico, a ligação de fosfato rica em energia do ATP é convertida em movimento por alteração na conformação de uma proteína (Figura 19.4.). Por exemplo, na contração de fibras musculares, a hidrólise de ATP enquanto ele está ligado à miosina-ATPase altera a conformação da miosina de tal modo que ela é "fixada" em uma posição pronta para se associar ao filamento deslizante de actina. Assim, exercitar as fibras musculares tem um taxa de utilização de ATP e necessidades calóricas cem vezes mais altas do que as fibras musculares em repouso. As proteínas motoras, como as cinesinas que transportam substâncias ao longo das fibras, fornecem outro exemplo de trabalho mecânico em uma célula.



As equações para calcular ΔG são fundamentadas na primeira lei da termodinâmica (ver Tabela 19.1). A variação de energia da ligação química que ocorre durante a reação é ΔH, a variação na entalpia da reação. A temperatura e pressão constantes, ΔH é equivalente à energia da ligação química dos produtos menos a dos reagentes. ΔG, a quantidade máxima de trabalho útil disponível para a reação, é igual a ΔH menos $T\Delta S$. $T\Delta S$ é uma correção para a quantidade de energia correspondente a um aumento na entropia (desordem na organização das moléculas) do sistema.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

onde ΔH é a alteração da entalpia, T é a temperatura do sistema em Kelvin, e ΔS é a alteração da entropia ou desordem aumentada do sistema. O ΔS com frequência é desprezível em reações como a hidrólise de ATP, na qual o número de substratos (H_2O, ATP) e produtos (ADP, P_i) é igual, e não é formada nenhuma substância no estado gasoso. Sob essas condições, os valores de ΔG em temperatura fisiológica (37°C) são similares àqueles em temperatura-padrão (25°C).

B. Trabalho de Transporte

No trabalho de transporte, chamado de transporte ativo, a ligação de fosfato rica em energia do ATP é utilizada para transportar compostos contra um gradiente de concentração (ver Capítulo 10, Figura 10.12). Nas P-ATPases (ATPases da membrana plasmática) e V-ATPases (ATPases vesiculares), a energia de ligação química do ATP é utilizada para fosforilar de forma reversível a proteína transportadora e alterar sua conformação. Por exemplo, à medida que a Na^+/K^+-ATPase se liga e quebra o ATP, ela se torna fosforilada e altera sua conformação para liberar 3 íons Na^+ para o lado de fora da célula, tornando, assim, a concentração de Na^+ extracelular mais elevada do que a intracelular. O Na^+ entra novamente na célula por proteínas co-transportadoras que realizam a captação de aminoácidos e muitos outros compostos na célula. Assim, o Na^+ deve ser continuamente transportado para fora da célula. O gasto de ATP para o transporte de Na^+ em seres humanos ocorre mesmo durante o sono e é estimado em 10 a 30% da TMB.

Um grande número de outros transportadores ativos também converte a energia de ligação química do ATP em gradiente de íons (potencial de membrana). As ATPases vesiculares bombeiam prótons para dentro dos lisossomas. As Ca^{2+}-ATPases na membrana plasmática movem Ca^{2+} para fora da célula contra um gradiente de concentração. As Ca^{2+}-ATPases similares bombeiam Ca^{2+} para dentro do lúmem do retículo endoplasmático e do retículo sarcoplasmático (no músculo). Assim, uma quantidade considerável de energia é gasta para manter os níveis citoplasmáticos de Ca^{2+} baixos.

III. TRABALHO BIOQUÍMICO

As ligações de fosfato ricas em energia do ATP também são utilizadas para o trabalho bioquímico. O trabalho bioquímico ocorre em rotas anabólicas, as quais são rotas que sintetizam grandes moléculas (p. ex., DNA, glicogênio, triacilgliceróis e proteínas) a partir de compostos menores. O trabalho bioquímico ocorre quando compostos tóxicos são convertidos a compostos não-tóxicos que podem ser excretados (p. ex., o fígado converte íons NH_4^+ em uréia no ciclo da uréia). Em geral, a formação de ligações químicas entre duas moléculas orgânicas (p. ex., ligações C-C na síntese de ácidos graxos ou ligações C-N na síntese de proteínas) necessita de energia e é, portanto, trabalho bioquímico. Como as células humanas conseguem que essas reações que requerem energia ocorram?

Para responder a essa questão, as próximas seções consideram como a energia é utilizada para a síntese de glicogênio a partir de glicose (Figura 19.5). O glicogênio é um polissacarídeo de armazenamento constituído de unidades glicosil unidas por ligações glicosídicas. Se uma rota anabólica, como a síntese de glicogênio, tivesse um $\Delta G^{0'}$ total positivo, a célula ficaria cheia de glicose e intermediários da rota, mas muito



Aproximadamente 70% da necessidade humana de energia diária em repouso se originam dos órgãos maiores: coração, cérebro, rins e fígado. Utilizando sua taxa de consumo de oxigênio e uma razão P/O de 2,5, pode ser estimado que cada um desses órgãos está utilizando e produzindo várias vezes o seu próprio peso em ATP a cada dia. O coração, o qual contrai ritmicamente, utiliza esse ATP para o trabalho mecânico. Em contraste, o músculo esquelético em um indivíduo em repouso utiliza muito menos ATP por grama de tecido. Os rins têm um consumo de ATP por grama de tecido similar àquele do coração e utilizam esse ATP principalmente para o trabalho de transporte para recuperar nutrientes e manter o pH e o balanço de eletrólitos. O cérebro, de maneira semelhante, utiliza a maior parte de seu ATP para o trabalho de transporte, mantendo os gradientes de íons necessários para a condução do impulso nervoso. O fígado, em contraste, tem uma alta taxa de consumo e utilização de ATP para realizar o trabalho metabólico (biossíntese e detoxicação).

Uso Diário Estimado de ATP (g ATP/g tecido)	
Coração	16
Cérebro	6
Rins	24
Fígado	6
Músculo esquelético (repouso)	0,3
Músculo esquelético (correndo)	23,6



X. S. Teefore tem níveis sangüíneos elevados de hormônios tireóideos, os quais aceleram os processos metabólicos basais que utilizam o ATP nos órgãos (p. ex., Na^+/K^+-ATPase), aumentando, assim, a TMB. Uma TMB aumentada foi utilizada para um possível diagnóstico de hipertireoidismo antes do desenvolvimento de testes para medir T_3 e T_4. Uma vez que **X. S. Teefore** não compensou completamente essas suas necessidades aumentadas de ATP com uma ingesta calórica aumentada, ele ficou em balanço calórico negativo e perdeu peso.

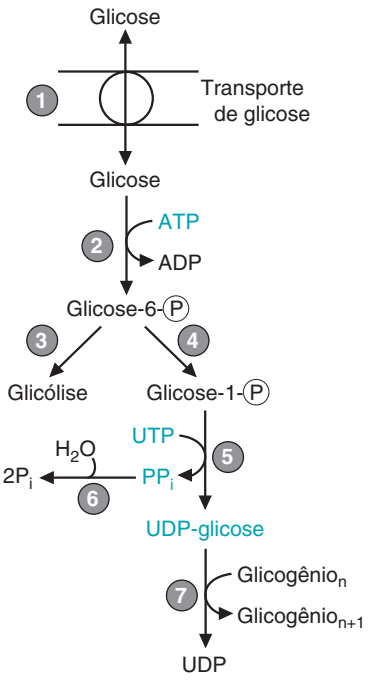


Figura 19.5 Energética da síntese de glicogênio. Os compostos contendo ligações ricas em energia são mostrados em azul. (1) A glicose é transportada para dentro da célula. (2) A fosforilação de glicose utiliza a ligação de fosfato rica em energia (~P) do ATP em uma etapa de transferência de fosforila. (4) Conversão de glicose-6-fosfato pela fosfoglicomutase. (5) A UDP-glicose-pirofosforilase quebra uma ligação ~P no UTP, liberando pirofosfato e formando UDP-glicose, um intermediário ativado. (6) O pirofosfato é hidrolisado, liberando energia adicional. (7) A ligação fosfoéster da UDP-glicose é quebrada durante a adição de uma unidade glicosil à extremidade de uma cadeia polissacarídica de glicogênio. A UDP-glicose funciona como o grupo transferidor de glicose nessa reação. A glicose-6-fosfato também pode ser metabolizada pela glicólise (3) quando energia é necessária.

pouco glicogênio seria formado. Para evitar isso, as células realizam trabalho bioquímico e gastam o suficiente de seu ATP para propiciar que as rotas anabólicas tenham um $\Delta G^{0'}$ total negativo.

A. Valores de ΔG^0 são Aditivos

As reações nas quais ligações químicas são formadas entre duas moléculas orgânicas são em geral **catalisadas** por enzimas que transferem a energia da quebra de ATP em uma reação de transferência de fosfato ou por enzimas que quebram uma ligação rica em energia de um intermediário ativado da rota. Devido aos valores de $\Delta G^{0'}$ em uma seqüência de reação serem aditivos, a rota adquire um $\Delta G^{0'}$ total negativo, e as reações na rota ocorrerão em direção a um estado de equilíbrio em que a concentração dos produtos finais é maior do que a dos reagentes iniciais.

1. REAÇÕES DE TRANSFERÊNCIA DE FOSFORILA

Uma das características da energia livre de Gibbs é que os valores de ΔG^0 para etapas consecutivas ou reações em uma seqüência podem ser adicionados uns aos outros para se obter um valor único para o processo total. Assim, as ligações de fosfato ricas em energia do ATP podem ser utilizadas para levar adiante uma reação que de outra forma seria altamente desfavorável energeticamente. Considere, por exemplo, a síntese de glicose-6-P a partir de glicose, a primeira etapa na glicólise, e a síntese de glicogênio (ver Figura 19.5, círculo 2). Se a reação fosse proceder pela adição de fostato inorgânico à glicose, a síntese de glicose-6-P teria um valor de $\Delta G^{0'}$ de 3,3 kcal/mol (Tabela 19.3). Contudo, quando essa reação é acoplada à quebra da ligação de ATP rica em energia pela reação de transferência de fosfato, o $\Delta G^{0'}$ para a síntese de glicose-6-P adquire um valor total negativo de menos 4,0 kcal/mol, o qual pode ser calculado a partir da soma das duas reações. A glicose-6-P não pode ser transportada de volta para fora da célula, e, portanto, o $\Delta G^{0'}$ total negativo para a síntese de glicose-6-P auxilia a aprisionar a glicose para suas próprias necessidades metabólicas.

Q: Dado um $\Delta G^{0'}$ de ± 1,65 kcal/mol para a conversão de glicose-6-P a glicose-1-P, e um $\Delta G^{0'}$ de – 4,0 kcal/mol para a conversão de glicose + ATP a glicose-6-P + ADP, qual é o valor de $\Delta G^{0'}$ para a conversão de glicose a glicose-1-P?

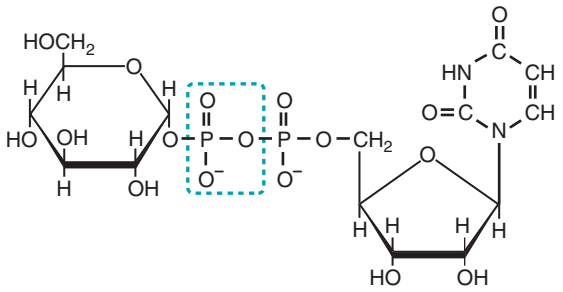
O valor líquido para a síntese de glicose-6-P e ATP seria o mesmo se as duas reações fossem ou não catalisadas pela mesma enzima, por enzimas separadas ou não fossem catalisadas por uma enzima, pois ele é determinado pela quantidade de energia das ligações químicas sendo quebradas e formadas.

2. INTERMEDIÁRIOS ATIVADOS NA SÍNTESE DE GLICOGÊNIO

Para sintetizar glicogênio a partir de glicose, a energia é fornecida pela quebra de três ligações de fosfato ricas em energia no ATP, UTP e pirofosfato (PP_i) (ver Figura 19.5, Etapas 2, 5 e 6). A transferência de energia é facilitada pela transferência de grupo fosfato e pela formação de um intermediário ativado (UDP-glicose). A Etapa 4, a conversão de glicose-6-fosfato a glicose-1-fosfato, tem um $\Delta G^{0'}$ positivo. Essa etapa é impulsionada e arrastada na direção desejada pelo acúmulo de substrato e pela remoção de produto nas reações que têm um $\Delta G^{0'}$ negativo a partir da quebra das ligações ricas em energia. Na Etapa 5, a ligação de fosfato rica em energia do UTP é quebrada para formar o açúcar ativado, UDP-glicose (Figura 19.6). Essa reação é ainda facilitada pela quebra de ligação rica em energia no pirofosfato (Etapa 6) que é liberado na Etapa 5 (aproximadamente –7,7 kcal). Na Etapa 7, a quebra da ligação entre UDP e glicose no intermediário ativado fornece a energia para a ligação da glicose à extremidade da molécula de glicogênio (aproximadamente –3,3 kcal). Em geral, a quantidade de energia da ligação de fosfato do ATP utilizada em uma rota anabólica, ou rota de detoxicação, deve fornecer um $\Delta G^{0'}$ total negativo para a rota, de tal maneira que a concentração de produtos é favorecida em relação à dos reagentes.

Tabela 19.3 $\Delta G^{0'}$ para a Transferência de um Fosfato do ATP para a Glicose

Glicose + P_i → glicose-6-P + H_2O	$\Delta G^{0'}$ = +3,3 kcal/mol
ATP + H_2O → ADP + P_i	$\Delta G^{0'}$ = –7,3 kcal/mol
Soma: glicose + ATP → glicose-6-P + ADP	$\Delta G^{0'}$ = –4,0 kcal/mol



Uridina-difosfato-glicose (UDP-glicose)

Figura 19.6 A UDP-glicose contém uma ligação de pirofosfato rica em energia, mostrada em azul.

B. ΔG Depende da Concentração de Substrato e Produto

O $\Delta G^{0'}$ reflete a diferença de energia entre reagentes e produtos em concentrações específicas (cada uma a 1 M) e condições-padrão (pH 7,0, 250C). Contudo, essas não são as condições que prevalecem na célula, onde variações das "condições-padrão" são relevantes para determinar as alterações reais na energia livre e, assim, a direção na qual é provável que as reações ocorram. Um aspecto das alterações da energia livre que contribui para o avanço das rotas metabólicas é a dependência de ΔG, a alteração da energia livre de uma reação, das concentrações iniciais de substrato e produto. As reações na célula com $\Delta G^{0'}$ positivo podem ocorrer na direção direta se a concentração de substrato é elevada para níveis altos suficientes, ou se a concentração de produto é diminuída para níveis muito baixos. As concentrações de produto podem ser muito baixas se, por exemplo, o produto é utilizado de forma rápida em uma reação subseqüente energeticamente favorável, ou se o produto difunde ou é transportado para outro local.

1. A DIFERENÇA ENTRE ΔG E $\Delta G^{0'}$

A força motriz em direção ao equilíbrio a partir de qualquer concentração de substrato e produto é expressa por ΔG, e não por $\Delta G^{0'}$, o qual é a alteração de energia livre para alcançar o equilíbrio iniciando com concentrações de 1 M de substrato e produto. Para uma reação na qual o substrato S é convertido no produto P:

Equação 2

$$\Delta G = \Delta G^{0'} + RT \ln [P]/[S]$$

(Ver Tabela 19.2, para a fórmula geral dessa equação.)

A expressão para ΔG tem dois termos: $\Delta G^{0'}$, a variação de energia para alcançar o equilíbrio iniciando com concentrações iguais e de 1 M de substratos e produtos, e o segundo termo, a variação de energia para alcançar o equilíbrio iniciando a partir de qualquer concentração inicial de substrato e produto. (Quando [P] = [S] e [P]/[S] = 1, o ln de [P]/[S] é 0, e $\Delta G = \Delta G^{0'}$.) O segundo termo será negativo para todas as concentrações de substratos maiores do que as dos produtos, e, quanto maior a concentração de substrato, mais negativo será o valor. Assim, se a concentração de substrato é subitamente elevada o suficiente ou a concentração de produto é diminuída o suficiente, ΔG (a soma do primeiro e do segundo termo) também será negativo, e a transformação do substrato em produto se torna termodinamicamente favorável.

2. A REVERSIBILIDADE DA REAÇÃO DA FOSFOGLICOMUTASE NA CÉLULA

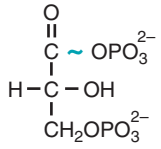
O efeito da concentração de substrato e produto sobre o ΔG e a direção de uma reação na célula pode ser ilustrados com a conversão de glicose-6-P a glicose-1-P, a reação catalisada pela fosfoglicomutase na rota da síntese de glicogênio (ver Figura 19.3). A

R: O $\Delta G^{0'}$ para a reação total é a soma das reações individuais e é de –2,35 kcal. As reações individuais são:
Glicose + ATP → glicose-6-P + ADP
$\Delta G^{0'}$ = –4,0 kcal/mol
Glicose-6-P → glicose-1-P
$\Delta G^{0'}$ = +1,65 kcal/mol
Soma: Glicose + ATP → glicose-1-P + ADP
$\Delta G^{0'}$= –2,35 kcal/mol

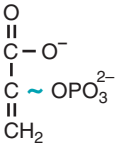
Assim, a quebra de ATP tornou energeticamente favorável a síntese de glicose-1-P a partir de glicose.

reação tem um $\Delta G^{0'}$ pequeno positivo para a síntese de glicose-1-P (+ 1,65 kcal/mol) e no equilíbrio, a razão [glicose-1-P]/[glicose-6-P] é de aproximadamente 6 para 94 (calculada na Questão 2). Contudo, se outra reação utiliza glicose-1-P de tal modo que a razão subitamente se torne 3 para 94, há uma nova força motriz para converter mais glicose-6-P a glicose-1-P e restaurar a razão de equilíbrio. Substituição na equação 2 dá ΔG, a força motriz que direciona ao equilíbrio, de + 1,65 + RT In [G1P]/[G6P] = 1,65 + (–2,06) = –0,41, que é um valor negativo. Assim, uma diminuição na razão do produto em relação ao substrato converteu a síntese de glicose-1-P de uma reação termodinamicamente desfavorável em uma reação termodinamicamente favorável que progredirá até que o equilíbrio seja atingido.

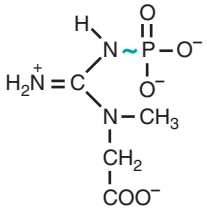
O ΔG da hidrólise de ATP nas células pode ser muito diferente de $\Delta G^{0'}$. A síntese de ATP, mais do que sua hidrólise, torna a direção energeticamente favorável se a [ATP] diminui apenas um pouco ou a [ADP] ou [P_i] aumenta um pouco acima dos valores de equilíbrio. Assim, à medida que o ATP é hidrolisado nas reações que necessitam de energia, a alteração no sinal de ΔG promove a síntese de ATP.



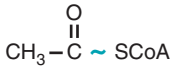
1,3-Bisfosfoglicerato



Fosfoenolpiruvato



Creatina-fosfato



Acetil-CoA

Figura 19.7 Alguns compostos com ligações ricas em energia. O 1,3-bisfosfoglicerato e o fosfoenolpiruvato são intermediários da glicólise. O creatina-fosfato é uma reserva de fosfato rica em energia e lançadeira no cérebro, no músculo e no espermatozóide. A acetil-CoA é um precursor do ciclo do TCA. As ligações ricas em energia são mostradas em azul.

C. Intermediários Ativados com Ligações Ricas em Energia

Muitas rotas bioquímicas formam intermediários ativados contendo ligações ricas em energia para facilitar o trabalho bioquímico. O termo "ligação rica em energia" é um termo biológico definido pelo $\Delta G^{0'}$ para a hidrólise de ATP; qualquer ligação que pode ser hidrolisada com a liberação de aproximadamente tanta ou mais energia do que o ATP é chamada de rica em energia. A ligação rica em energia em intermediários ativados, como a UDP-glicose na síntese de glicogênio, facilita a transferência de energia.

1. ATP, UTP, GTP E CTP

As células utilizam GTP e CTP, bem como UTP e ATP, para formar intermediários ativados. Rotas anabólicas diferentes em geral utilizam nucleotídeos distintos como sua fonte direta de ligações de fosfato ricas em energia: o UTP é utilizado para combinar açúcares, o CTP, na síntese de lipídeos, e o GTP, na síntese de proteínas.

As ligações de fosfato ricas em energia de UTP, GTP e CTP são energeticamente equivalentes ao ATP e são sintetizadas por nucleosídeo-difosfoquinases e nucleosídeo-monofosfoquinases. Por exemplo, o UTP é formado por uma nucleosídeo-difosfoquinase na reação:

$$ATP + UDP \leftrightarrow UTP + ADP$$

O ADP é convertido de volta a ATP pelo processo de fosforilação oxidativa, utilizando energia fornecida pela oxidação de substrato energético.

As reações que necessitam de energia com freqüência geram o nucleosídeo-difosfato ADP. A adenilato-quinase, uma enzima importante no balanço de energia celular, é uma nucleosídeo-monofosfato-quinase que transfere um fosfato de um ADP para outro ADP para formar ATP e AMP:

$$ADP + ADP \leftrightarrow AMP + ATP$$

Dessa forma, essa enzima pode regenerar o ATP sob condições nas quais a utilização de ATP é necessária.

2. OUTROS COMPOSTOS COM LIGAÇÕES RICAS EM ENERGIA

Além de nucleosídeo-trifosfatos, outros compostos contendo ligações ricas em energia são formados para facilitar a transferência de energia nas rotas anabólicas e catabólicas (p. ex., 1,3-bisfosfoglicerato na glicólise e acetil-CoA no ciclo do TCA) (Figura 19.7). O creatina-fosfato contém uma ligação de fosfato rica em energia que permite que ele sirva de reservatório para a síntese e o transporte de ATP no músculo, nos neurônios e no espermatozóide. Todas essas ligações ricas em energia são "instáveis", e sua hidrólise libera uma quantidade substancial de energia, pois os produtos são muito mais estáveis, como um resultado da ressonância de elétrons dentro de suas estruturas.

IV. TERMOGÊNESE

De acordo com a primeira lei da termodinâmica, a energia não pode ser destruída. Assim, a energia da oxidação de um substrato energético (seu conteúdo calórico) deve ser igual à quantidade de calor liberada, ao trabalho realizado contra o ambiente e ao aumento na ordem das moléculas no corpo. Uma parte da energia da oxidação de um substrato energético é convertida em calor à medida que o substrato energético é oxidado, e o calor é gerado à medida que o ATP é utilizado para realizar o trabalho. Se o corpo humano se tornar menos eficiente em converter energia a partir da oxidação de substrato energético em ATP, ou se utilizar uma quantidade adicional de ATP para a contração muscular, uma quantidade adicional de substratos energéticos será oxidada para manter a homeostase do ATP (níveis constantes de ATP celular). Com a oxidação de substratos energéticos adicionais, o corpo humano libera calor adicional. Assim, a produção de calor é uma conseqüência natural da "queima de substratos energéticos".

Termogênese se refere à energia gasta com o propósito de gerar calor em adição àquela que é gasta para a produção de ATP. Para manter o corpo em 37°C, apesar de alterações na temperatura ambiente, é necessário regular a oxidação de substratos energéticos e sua eficiência (bem como a dissipação do calor). Na termogênese por tremores, o corpo responde ao frio súbito com contrações musculares assincrônicas (tremores) que aumentam a utilização de ATP e, portanto, a oxidação de substratos energéticos e a liberação de energia como calor. Na termogênese sem tremores (termogênese adaptiva), a eficiência da conversão de energia a partir da oxidação de substratos energéticos em ATP está diminuída. Mais substratos energéticos precisam ser oxidados para manter os níveis de ATP constantes, e, assim, mais calor é gerado.



X.S. Teefore tem níveis de hormônios tireóideos elevados que aumentam a taxa de utilização de ATP e a oxidação de substrato energético. Um excesso de hormônios tireóideos também pode afetar a eficiência da produção de ATP, resultando em menos ATP produzido para um dado consumo de O_2. A taxa aumentada de utilização de ATP e a eficiência diminuída estimulam o metabolismo oxidativo, resultando em uma taxa muito maior de produção de calor. O paciente hipertireóideo, portanto, queixa-se de se sentir constantemente com calor (intolerância ao calor) e apresenta sudorese. (A perspiração permite a dissipação de excesso de calor por evaporação pela superfície da pele.)

V. ENERGIA DA OXIDAÇÃO DE SUBSTRATOS ENERGÉTICOS

A oxidação de substratos energéticos fornece energia para processos corporais principalmente pela produção de coenzimas reduzidas, NADH e FAD(2H). Elas são utilizadas principalmente para produzir ATP na fosforilação oxidativa. Contudo, a oxidação de substratos energéticos também produz NADPH, o qual é utilizado com mais freqüência diretamente nos processos que necessitam de energia. Os carboidratos também podem ser utilizados para produzir ATP por uma rota não-oxidativa, chamada de glicólise anaeróbica.

A. Transferência de Energia a partir de Substratos Energéticos por meio de Fosforilação Oxidativa

A oxidação de substratos energéticos é a maior fonte de ATP do corpo humano e a maior maneira de transferir energia a partir de ligações químicas de substratos energéticos para processos celulares que necessitam de energia. A quantidade de energia disponível a partir de substratos energéticos é equivalente à quantidade de calor que é produzida quando um substrato é queimado. Para conservar essa energia para a produção de ATP, o processo celular de respiração transforma a energia das ligações químicas dos substratos energéticos na redução das coenzimas aceptoras de elétrons, NAD^+ e FAD (círculo 1, Figura 19.8). À medida que esses compostos transferem elétrons para O_2 na cadeia de transporte de elétrons, a maioria dessa energia é transformada em um gradiente eletroquímico através da membrana interna da mitocôndria (círculo 2, Figura 19.8). Grande parte da energia no gradiente eletroquímico é utilizada para regenerar ATP a partir de ADP na fosforilação oxidativa (fosforilação que requer O_2).



Oxidação é a perda de elétrons, e redução é o ganho de elétrons. Lembre PEO GER:
Perda de Elétrons = Oxidação
Ganho de Elétrons = Redução
Os compostos são oxidados no corpo essencialmente de três modos: (1) a transferência de elétrons a partir de um composto como um átomo de hidrogênio ou um íon anidrido, (2) a adição direta de oxigênio a partir de O_2 e (3) a doação direta de elétrons (p. ex., $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$) (ver Capítulo 5). A oxidação de substrato energético envolve a transferência de elétrons como um átomo de hidrogênio ou um íon anidrido, e, assim, os compostos reduzidos têm mais hidrogênios em relação ao oxigênio do que os compostos oxidados. Conseqüentemente, os aldeídos são mais reduzidos do que os ácidos, e os alcoóis são mais reduzidos do que os aldeídos.

1. REAÇÕES DE OXIRREDUÇÃO

As reações de oxirredução sempre envolvem um par de elementos químicos: um doador de elétrons, o qual é oxidado nas reações, e um aceptor de elétrons, o qual é reduzido na reação. No metabolismo, o substrato energéticos doa elétrons e é oxidado, e NAD^+ e FAD captam elétrons e são reduzidos.

Quando o NAD^+, e não o FAD, é utilizado em uma reação de oxirredução? Depende das propriedades químicas do doador de elétrons e da enzima que catalisa a reação. Nas reações de oxidação, o NAD^+ recebe dois elétrons como um íon anidrido para

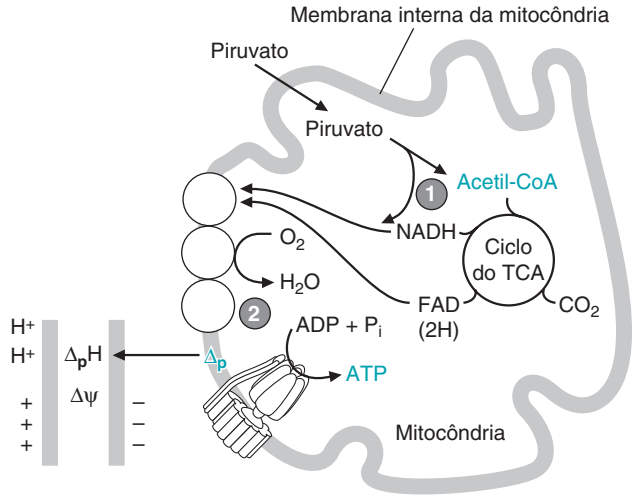


Figura 19.8 Visão geral das transformações de energia na fosforilação oxidativa. O gradiente de potencial eletroquímico através da membrana mitocondrial é representado por ΔpH, o gradiente de prótons, e ΔΨ, o potencial de membrana. O papel do potencial eletroquímico na fosforilação oxidativa é discutido em mais detalhes no Capítulo 21.

formar NADH, e um próton (H^+) é liberado para o meio (Figura 19.9). Ele em geral é utilizado para reações metabólicas envolvendo oxidação de alcoóis e aldeídos. Em contraste, o FAD recebe dois elétrons como átomos de hidrogênio, os quais são doados individualmente de átomos separados (p. ex., a formação de uma ligação dupla ou de dissulfeto) (Figura 19.10).

Quando as coenzimas reduzidas doam esses elétrons para O_2, pela cadeia de transporte de elétrons, elas são reoxidadas. A energia derivada a partir da reoxidação de NADH e FAD(2H) está disponível para a produção de ATP por fosforilação oxidativa. Na analogia do ATP como moeda do corpo humano, as coenzimas reduzidas são os "cheques" para os substratos energéticos oxidantes. Devido ao fato de as células hu-

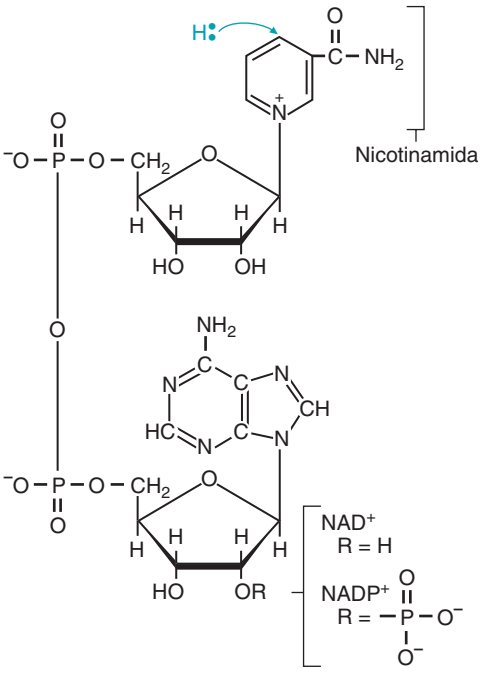


Figura 19.9 Redução de NAD^+ e $NADP^+$. Essas coenzimas estruturalmente relacionadas são reduzidas aceitando dois elétrons como H^+, o íon hidrido.

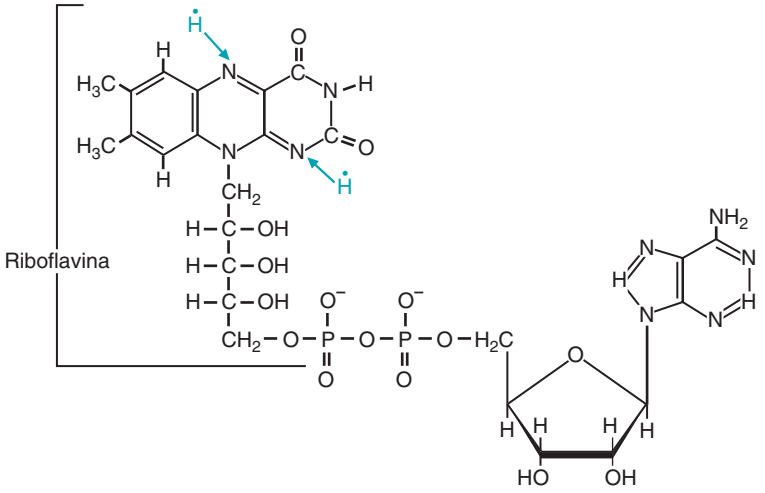


Figura 19.10 Redução de FAD. O FAD aceita dois elétrons como átomos de hidrogênio e é reduzido. A coenzima reduzida é indicada neste texto como FAD(2H) devido ao fato de ela aceitar um total de dois elétrons por vez, nunca chegando à forma totalmente reduzida, $FADH_2$. O FMN (flavina-mononucleotídeo) consiste em riboflavina com um grupo fosfato ligado.

manas gastarem ATP de forma tão rápida, os cheques devem ser convertidos imediatamente em dinheiro ATP.

2. POTENCIAL DE REDUÇÃO

Cada reação de oxirredução produz ou utiliza uma quantidade fixa de energia ($\Delta G^{0'}$), a qual é diretamente proporcional ao $\Delta E^{0'}$ (a diferença nos potenciais de redução de um par de oxidação-redução). O potencial de redução de um composto, $E^{0'}$, é uma medida em volts da variação de energia quando o composto aceita elétrons (se torna reduzido); menos $E^{0'}$ é a variação de energia quando o composto doa elétrons (se torna oxidado). O $E^{0'}$ pode ser considerado uma expressão da afinidade do composto em aceitar elétrons. Alguns exemplos de potenciais de redução são mostrados na Tabela 19.4. O oxigênio, o qual é o melhor aceptor de elétrons, tem o maior potencial de redução positivo (ou seja, é o que mais quer aceitar elétrons e ser reduzido). Como conseqüência, a transferência de elétrons de todos os compostos para O_2 é energeticamente favorável e ocorre com a liberação de energia.

Quanto mais negativo o potencial de redução de um composto, maior é a energia disponível para a produção de ATP quando o composto passa seu elétron para o oxigênio. O $\Delta G^{0'}$ para a transferência de elétrons de NADH para O_2 é maior do que a transferência de FAD(2H) para O_2 (ver valores de potencial de redução para NADH e FAD(2H) na Tabela 19.4). Assim, a energia disponível para a síntese de ATP a partir de

Tabela 19.4 Potenciais de Redução de Algumas Meias-Reações de Oxirredução

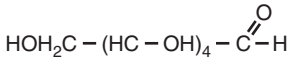
Meias-Reações de Oxirredução	$E^{0'}$ a pH 7,0
$1/2\ O_2 + 2H^+ + 2\ e^- \rightarrow H_2O$	0,816
Citocromo a-Fe^{3+} + 1 $e^- \rightarrow$ citocromo a-Fe^{2+}	0,290
$CoQ + 2H^+ + 2\ e^- \rightarrow CoQH_2$	0,060
Fumarato + $2H^+$ + 2 $e^- \rightarrow$ succinato	0,030
Oxalacetato + $2H^+$ + 2 $e^- \rightarrow$ malato	– 0,102
Acetaldeído + $2H^+$ + 2 $e^- \rightarrow$ etanol	– 0,163
Piruvato + $2H^+$ + 2 $e^- \rightarrow$ lactato	– 0,190
Riboflavina + $2H^+$ + 2 $e^- \rightarrow$ riboflavina-H_2	– 0,200
$NAD^+ + 2H^+ + 2\ e^- \rightarrow NADH + H^+$	– 0,320
Acetato + $2H^+$ + 2 $e^- \rightarrow$ acetaldeído	– 0,468

Para calcular a alteração de energia livre de uma reação de oxirredução, o potencial de redução do doador de elétrons (NADH) é adicionado ao do aceptor (O_2). O $\Delta E^{0'}$ para a reação total é calculado a partir da soma das meias-reações. Para a doação de elétrons do NADH, ele é de +0,320 volts, o oposto do que é mostrado na Tabela 19.4 (a Tabela 19.4 mostra $E^{0'}$ para receber elétrons), e para receber O_2, ele é de +0,816. O número de elétrons que está sendo transferido é 2 (assim, n = 2). A relação direta entre as variações de energia nas reações de oxirredução e $\Delta G^{0'}$ é expressa pela equação

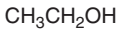
$$\Delta G^{0'} = -n\ F\ \Delta E^{0'}$$

onde n é o número de elétrons transferido, e F é a constante de Faraday (23 kcal/mol – volt). Assim, um valor de aproximadamente –53 kcal/mol é obtido para a energia disponível para a síntese de ATP pela transferência de dois elétrons a partir de NADH para o oxigênio.

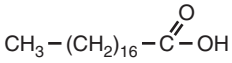
Q: **Otto Shape** decidiu perder peso diminuindo sua ingesta de gordura e álcool (etanol) e aumentando seu conteúdo de carboidratos. Compare a estrutura do etanol com a da glicose e dos ácidos graxos (a seguir). Com base em seus estados oxidativos, qual composto fornece mais energia (calorias) por grama?



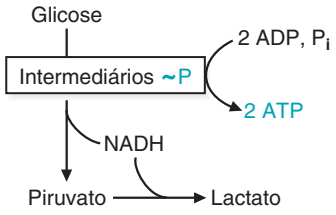
Glicose



Etanol



Um ácido graxo



Glicólise anaeróbica

Figura 19.11 Glicólise anaeróbica. O fosfato é transferido a partir de intermediários ricos em energia da rota do ADP. Devido ao fato de o NADH da rota ser reoxidado por redução de piruvato a lactato, não é necessário oxigênio.

Oxidases

$O_2 + 4e^-, 4H^+ \longrightarrow 2H_2O$

$O_2 + SH_2 \longrightarrow S + H_2O_2$

Monoxigenases

$O_2 + S +$ Doador de elétrons – $XH_2 \longrightarrow$

$H_2O +$ Doador de elétrons – X $+ S-OH$

Dioxigenases

$S + O_2 \longrightarrow SO_2$

Figura 19.12 Oxidases e oxigenases. O destino do O_2 é mostrado em azul. S representa um substrato orgânico.

NADH é de aproximadamente –53 kcal, e cerca de –41 kcal a partir de flavoproteínas contendo FAD na cadeia de transporte de elétrons.

3. VALORES CALÓRICOS DE SUBSTRATOS ENERGÉTICOS

O valor calórico de um alimento está diretamente relacionado ao seu estado de oxidação, o qual é uma medida de $\Delta G^{0'}$ para a transferência de elétrons do substrato energético para O_2. Os elétrons doados pelo substrato energético são de suas ligações C-H e C-C. Os ácidos graxos, como o palmitato ($CH_3(CH_2)_{14}COOH$), têm um valor calórico de aproximadamente 9 kcal/g. A glicose já é parcialmente oxidada e tem um valor calórico em torno de apenas 4 kcal/g. Os carbonos, em média, contêm menos ligações C-H a partir das quais possam doar elétrons.

O valor calórico de um alimento é aplicável em humanos apenas se as células têm enzimas que oxidem o substrato energético transferindo elétrons do substrato para NAD^+, $NADP^+$ ou FAD. Quando madeira é queimada em uma lareira, elétrons são transferidos da celulose e de outros carboidratos para O_2, liberando energia como calor. Contudo, a madeira não tem conteúdo calórico para humanos; ela não pode ser digerida, e a celulose não pode ser convertida em uma forma que possa ser oxidada pelas enzimas. O colesterol, embora seja um lipídeo, não tem valor calórico para os humanos, pois não podem oxidar os carbonos na sua estrutura de anel complexa em reações que produzam NADH, FAD(2H) ou NADPH.

B. NADPH em Reações de Oxirredução

$NADP^+$ é semelhante a NAD^+ e tem o mesmo potencial de redução. Contudo, o $NADP^+$ tem um grupo fosfato extra na ribose, o qual afeta a ligação de sua enzima (ver Figura 19.9). Conseqüentemente, a maioria das enzimas utiliza NAD^+ ou $NADP^+$, mas raramente ambos. Em certas reações, os substratos energéticos são oxidados pela transferência de elétrons do $NADP^+$ para formar NADPH. Por exemplo, a glicose-6-P desidrogenase, na rota da pentose-fosfato, transfere elétrons a partir de glicose-6-P para $NADP^+$ em vez de NAD^+. O NADPH em geral doa elétrons para reações biossintéticas, como a síntese de ácidos graxos, e para reações de detoxificação que utilizam diretamente oxigênio. Como conseqüência, a energia em seu potencial de redução em geral é utilizada em reações que necessitam de energia sem serem primeiro convertidas em "moeda" ATP.

C. Glicólise Anaeróbica

Nem todo o ATP é gerado pela oxidação de substrato energético. Na glicólise anaeróbica, a glicose é degradada em reações que formam intermediários fosforilados ricos em energia da rota (Figura 19.11). Esses intermediários ricos em energia ativados fornecem a energia para a produção de ATP a partir de ADP sem envolver a transferência de elétrons para o O_2. Portanto, essa rota é chamada de glicólise anaeróbica, e o ATP é gerado a partir de fosforilação no nível do susbstrato e não por fosforilação oxidativa (ver Capítulo 22). A glicólise anaeróbica é uma fonte crucial de ATP para as células que têm um suprimento de O_2 diminuído, porque são determinadas fisiologicamente dessa maneira (p. ex., células na medula renal), ou porque seu fornecimento de O_2 foi patologicamente diminuído (p. ex., doença arterial coronariana).

VI. OXIGENASES E OXIDASES NÃO-ENVOLVIDAS NA PRODUÇÃO DE ATP

Aproximadamente 90 a 95% do oxigênio consumido pelos humanos são utilizados pela oxidase terminal na cadeia de transporte de elétrons para a produção de ATP por meio da fosforilação oxidativa. O restante do O_2 é utilizado por oxigenases e outras oxidases, enzimas que oxidam um composto no corpo por transferir elétrons diretamente para o O_2 (Figura 19.12). O grande potencial de redução positivo do O_2 torna todas essas reações bastante favoráveis termodinamicamente, mas a estrutura eletrônica do O_2 diminui a velocidade de transferência de elétrons. Essas enzimas, portanto, contêm um íon metal que facilita a redução de O_2.

A. Oxidases

As oxidases transferem elétrons de um substrato para O_2, o qual é reduzido a água (H_2O) ou peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O complexo de proteína terminal na cadeia de transporte de elétrons, chamado de citocromo-oxidase, é uma oxidase, pois aceita elétrons doados pela cadeia por NADH e FAD(2H) e os utiliza para reduzir O_2 a água. As outras oxidases na célula em sua maioria formam peróxido de hidrogênio (H_2O_2), em vez de H_2O, e são chamadas de peroxidases. As peroxidases em geral são confinadas aos peroxissomas para proteger o DNA e outros componentes celulares de radicais livres tóxicos (compostos contendo elétron livre em um orbital externo) produzidos por peróxido de hidrogênio.

B. Oxigenases

As oxigenases, em contraste com as oxidases, incorporam um ou ambos os átomos de oxigênio no substrato orgânico (ver Figura 19.12). As monoxigenases, enzimas que incorporam um átomo de oxigênio no substrato e outro na H_2O, com freqüência chamadas de hidroxilases (p. ex., fenilalanina-hidroxilase, a qual adiciona um grupo hidroxila a fenilalanina para formar tirosina) ou oxidases de função mista. As monoxigenases necessitam de um substrato doador de elétrons, como o NADPH; uma coenzima, como o FAD, que transfere elétrons individuais (*single*), e um metal ou composto similar que pode formar um complexo reativo com o oxigênio (Figura 19.13). Elas em geral são encontradas no retículo endoplasmático e, ocasionalmente, na mitocôndria. As dioxigenases, enzimas que incorporam ambos os átomos de oxigênio no substrato, são utilizadas nas rotas para converter arquidonato em prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos.

VII. BALANÇO DE ENERGIA

O gasto total de energia humano é equivalente ao consumo de oxigênio (Figura 19.14). A taxa metabólica em repouso (gasto de energia de uma pessoa em repouso, a 25°C, após uma noite de jejum) corresponde a aproximadamente 60 a 70% do gasto de ener-

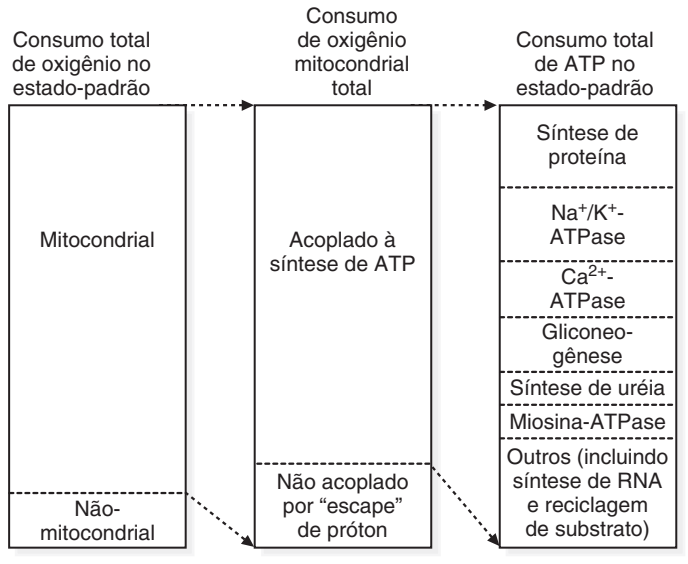


Figura 19.14 Contribuição estimada de processos para a utilização de energia no estado-padrão. Copiada, com permissão, de Rolfe DFS, Brown GC. Cellular energy utilization and molecular origin of standard metabolic rate in mammals. Physiol Rev 1997;77:731-758.

R: No palmitato e em outros ácidos graxos, a maioria dos carbonos é mais reduzida do que aqueles na glicose ou no etanol (mais carbonos têm elétrons em ligações carbono-hidrogênio). Portanto, os ácidos graxos têm o maior conteúdo calórico/grama, 9 kcal. Na glicose, os carbonos já têm ligações formadas com o oxigênio, e menos elétrons nas ligações estão disponíveis para produzir energia. Assim, a oxidação completa da glicose fornece aproximadamente 4 kcal/g. No etanol, um carbono é um grupo metila com ligações C-H, e outro tem um grupo OH. Portanto, o estado de oxidação é intermediário entre a glicose e os ácidos graxos, e o etanol, assim, tem 7 kcal/g.

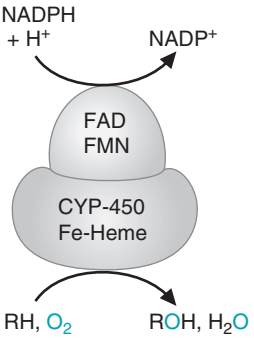


Figura 19.13 Citocromo-P450-mono-oxigenases. Os elétrons são doados pelo NADPH para O_2 e substrato. As coenzimas flavina FAD e FMN em uma subunidade transferem elétrons individuais (*single*) para o citocromo P450, o qual é uma proteína contendo Fe-heme que absorve luz em um comprimento de 450 nm. A enzima está inserida em uma membrana, em geral do retículo endoplasmático.

gia e consumo de O_2, e o exercício físico corresponde ao restante. Da taxa metabólica em repouso, aproximadamente 90 a 95% do consumo de O_2 são utilizados pela cadeia de transporte de elétrons mitocondrial, e apenas 5 a 10% são necessários para oxidases e oxigenases não-mitocondriais e não estão relacionados com a síntese de ATP. Cerca de 20 a 30% da energia desse consumo de energia mitocondrial são perdidos por escape de prótons que retornam através da membrana mitocondrial, que dissipa o gradiente eletroquímico sem a síntese de ATP. O restante do consumo humano de O_2 é utilizado por ATPases que mantêm gradientes de íon e por rotas biossintéticas.

A homeostase de ATP se refere à habilidade das células humanas de manterem níveis constantes de ATP apesar de flutuações na taxa de utilização. Assim, a utilização aumentada de ATP para o exercício ou para reações biossintéticas aumenta a taxa de oxidação de substrato energético. O principal mecanismo empregado é a regulação por retroalimentação (*feedback*); todas as rotas de oxidação de substrato energético para a produção de ATP são reguladas por retroalimentação por níveis de ATP, ou por compostos relacionados com a concentração de ATP. Em geral, quanto menos ATP é utilizado, menos substrato de energia será oxidado para produzir ATP.

De acordo com a primeira lei da termodinâmica, a energia (cal) no substrato energético humano nunca pode ser perdida. O substrato energético consumido é oxidado para corresponder às necessidades de energia da taxa metabólica basal + exercício, ou é armazenado como gordura. Assim, uma ingesta de calorias em excesso com relação às calorias gastas resulta em ganho de peso. A frase simples "se você come demais e não pratica exercícios, você ficará gordo" é na verdade um resumo da bioenergética do ciclo ATP-ADP.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Otto Shape. Otto Shape consultou seu médico, que observou o aumento de peso. Ele recomendou várias modificações na dieta de Otto que diminuiriam o conteúdo calórico de sua dieta e destacou a importância da prática de exercícios para a redução de peso. Ele lembrou Otto que a *American Heart Association* e a *American Cancer Society* recomendam 45 a 60 minutos de exercícios moderados a vigorosos 5 a 7 dias por semana. Ele também falou a Otto que gostaria de ser um modelo para seus pacientes. Otto decidiu iniciar um programa de exercícios que inclui uma hora de corrida todos os dias.

X. S. Teefore. O Sr. Teefore exibiu os sinais e sintomas clássicos de hipertireoidismo (secreção aumentada de hormônios tireóideos, T_3 e T_4), incluindo um bócio (glândula tireóide aumentada). Os testes de função tireoidiana confirmaram esse diagnóstico.

Os hormônios tireóideos (principalmente T_3) modulam a produção e a utilização celular de energia por sua habilidade de aumentar a transcrição gênica de muitas proteínas envolvidas no metabolismo intermediário, incluindo as enzimas no ciclo do TCA e na fosforilação oxidativa. Eles aumentam a taxa de utilização de ATP pela Na^+/K^+-ATPase e outras enzimas. Eles também afetam a eficiência de transformações de energia, de tal modo que mais substrato energético deve ser oxidado para manter um dado nível de ATP, ou mais ATP deve ser gasto para alcançar a resposta fisiológica desejada. A perda de peso de **X. S. Teefore**, apesar de apresentar um apetite muito bom, reflete suas necessidades calóricas aumentadas e uma utilização de substratos energéticos menos eficiente. O resultado é uma oxidação aumentada de reservas de tecido adiposo, bem como um efeito catabólico sobre o músculo e outros tecidos contendo proteínas. Por meio de mecanismos que não são bem compreendidos, os níveis elevados de hormônio tireóideo no sangue também aumentam a atividade ou o "tônus" do sistema nervoso simpático (adrenérgico). Um sistema nervoso simpático ativado leva a batimentos cardíacos mais rápidos e fortes (taquicardia e palpitações), nervosismo aumentado (ansiedade e insônia), tremores (uma sensação de tremores) e outros sintomas.

A glândula tireóide secreta os hormônios tireóideos tetraiodotironina (T_4) e triiodotironina (T_3) (ver Figura 11.8 para a estrutura do T_3). O T_3 é a forma mais ativa do hormônio. O T_4 é sintetizado e secretado em quantidades aproximadamente 10 vezes maiores do que o T_3. Os hepatócitos (células hepáticas) e outras células contêm uma deiodinase que remove um dos iodos do T_4, convertendo em T_3. O T_3 exerce seu efeito sobre os tecidos pela regulação da transcrição de genes específicos envolvidos no metabolismo energético (ver Capítulo 16, Seção III.C.2., Figura 16.14).

Cora Nari. Cora Nari teve uma insuficiência cardíaca ventricular esquerda (IVE) quando foi ao hospital com seu segundo infarto do miocárdio em oito meses. O diagnóstico de IVE foi fundamentado, em parte, em sua freqüência cardíaca rápida (104 bpm) e freqüência respiratória. Ao exame dos pulmões, seu médico ouviu estertores respiratórios, causados por ar inspirado formando bolhas no líquido que preenche os espaços aéreos dos pulmões secundários à IVE. Essa condição é chamada de insuficiência cardíaca congestiva.

A freqüência cardíaca rápida (taquicardia) de **Cora Nari** resultou de uma capacidade reduzida de seu músculo ventricular esquerdo isquêmico de ejetar uma quantidade normal de sangue nas artérias que saem do coração a cada contração. A queda resultante na pressão intra-arterial sinalizou uma resposta reflexa no sistema nervoso central que, por sua vez, causou um aumento na freqüência cardíaca em uma tentativa de manter a quantidade de sangue que sai do ventrículo esquerdo a cada minuto (o débito cardíaco) em um nível mais apropriado para manter a pressão sangüínea sistêmica.

O tratamento da insuficiência cardíaca congestiva de Cora incluirá esforços para reduzir a carga de trabalho do coração com diuréticos e outros "redutores de carga", tentativas para melhorar a força da contração ventricular esquerda, com digitálico e outros "inotropos", e a administração de oxigênio por cânula basal para reduzir a lesão causada por falta de fluxo sangüíneo (isquemia) para o tecido cardíaco viável nas vizinhanças do infarto.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Transporte ativo e morte celular. A maioria de nós não lembra quando aprendemos pela primeira vez que morreríamos se parássemos de respirar. Contudo, exatamente como as células morrem por falta de oxigênio é uma questão intrigante. Patologistas em geral descrevem dois tipos distintos de morte celular: necrose e apoptose (morte celular programada). A morte celular por uma falta de O_2, tal como ocorre durante um infarto do miocárdio, pode ser muito rápida e é considerada necrose. A falta de ATP para o transporte ativo de Na^+ e Ca^{2+} dispara algumas cascatas de sinalizadoras de morte que levam à necrose (Figura 19.15).

A entrada de Na^+ e a perda do gradiente de Na^+ através da membrana plasmática são eventos precoces que acompanham a depleção de ATP durante a interrupção de fornecimento de O_2. Uma conseqüência da concentração intracelular aumentada de Na^+ é que os processos movidos pelo gradiente de Na^+ são prejudicados. Por exemplo, o trocador de Na^+/H^+, o qual normalmente bombeia para fora o H^+ gerado a partir do metabolismo em troca de Na^+ extracelular, não pode mais funcionar, e o pH intracelular pode diminuir. O H^+ intracelular aumentado pode diminuir a produção de ATP a partir de glicólise anaeróbica. Como conseqüência das concentrações intracelulares aumentadas de íons, água entra nas células, e ocorre edema hidrópico. O edema é acompanhado de liberação de subunidades MB da creatina-quinase, troponina I e troponina C para o sangue. Essas enzimas são medidas no sangue como indicadores de um infarto do miocárdio (ver Capítulos 6 e 7). O edema é um evento precoce e é considerado um estágio reversível de lesão celular.

Normalmente, a concentração intracelular de Ca^{2+} é cuidadosamente regulada para flutuar em níveis baixos (a concentração intracelular de Ca^{2+} é menor do que 10^{-7} M, comparada com aproximadamente 10^{-3} M no líquido extracelular). As flutuações de concentração de Ca^{2+} nesses níveis baixos regulam a contração miofibrilar, o metabolismo de energia e outros processos celulares. Contudo, quando a concentração de Ca^{2+} está aumentada acima desse espectro normal, ela dispara a morte celular (necrose). Altas concentrações de Ca^{2+} ativam uma fosfolipase que aumenta a permeabilidade da membrana, resultando em mais perda de gradientes de íons através da membrana celular. Elas também disparam a abertura de poros de permeabilidade transitória na mitocôndria, o que resulta em perda da função mitocondrial e prejudica a fosforilação oxidativa.

Insuficiência cardíaca congestiva ocorre quando a ação de bomba enfraquecida do músculo ventricular esquerdo cardíaco aumenta a pré-carga nos vasos que levam sangue oxigenado dos pulmões para o lado esquerdo do coração. A pressão dentro desses vasos pulmonares eventualmente chega a um nível crítico acima do qual a água dos vasos se move ao longo de um "gradiente de pressão" do lúmen capilar para os espaços aéreos alveolares dos pulmões (transudação). O paciente sente falta de ar à medida que o líquido nos espaços aéreos interfere na troca de oxigênio do ar inspirado para o sangue arterial, causando hipoxia. A hipoxia, então, estimula o centro respiratório no sistema nervoso central, levando a uma freqüência respiratória mais rápida em um esforço para aumentar o conteúdo de oxigênio no sangue. Quando o paciente inspira profundamente, o médico escuta sons borbulhantes (conhecidos como estertores inspiratórios) com um estetoscópio colocado sobre a base pulmonar posterior. Esses sons representam o borbulhamento do ar inspirado à medida que ele entra nos espaços aéreos alveolares pulmonares cheios de líquidos.

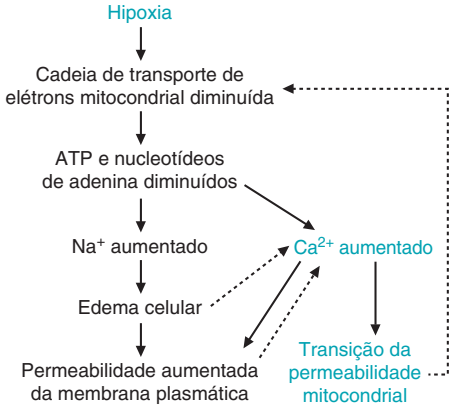


Figura 19.15 Hipoxia, Ca^{2+}, Na^+ e morte celular. Sem o fornecimento adequado de O_2, a síntese diminuída de ATP a partir da fosforilação oxidativa resulta em íons Na^+ e Ca^{2+} aumentados no citoplasma. Os níveis elevados de íons podem disparar "cascatas de morte" que envolvem permeabilidade aumentada da membrana plasmática, perda de gradientes de íons, pH citosólico diminuído, sobrecarga mitocondrial de Ca^{2+} e uma alteração na permeabilidade mitocondrial, chamada de transição da permeabilidade mitocondrial. As linhas sólidas mostram a primeira seqüência de eventos; as linhas tracejadas mostram como esses eventos aceleram por retroalimentação a deterioração mitocondrial, tornando impossível a recuperação da fosforilação oxidativa.

Os níveis intracelulares de Ca^{2+} podem aumentar, como resultado de edema celular, a falta de ATP para bombas de Ca^{2+} dependentes de ATP ou a perda do gradiente de Na^{+}. Normalmente, Ca^{2+}-ATPases localizadas na membrana plasmática bombeiam Ca^{2+} para fora da célula. As Ca^{2+}-ATPases no retículo endoplasmático, e no retículo sarcoplasmático do coração e outros músculos, seqüestram Ca^{2+} para dentro das membranas, onde ele é ligado a uma proteína de ligação de baixa afinidade. O Ca^{2+} é liberado do retículo sarcoplasmático em resposta a um impulso nervoso, o qual sinaliza a contração; o aumento de Ca^{2+} estimula a contração muscular e a oxidação de substratos energéticos. Dentro do coração, outra proteína transportadora de Ca^{2+}, o transportador/trocador Na^{+}/Ca^{2+}, coordena a entrada de Ca^{2+} em troca por Na^{+}, de tal modo que ocorre a extrusão de Ca^{2+} a cada contração.

Leitura Sugeridas

Nelson DL, Lehninger AL, Cox MM. Lehninger Principles of biochemistry. Chapter 14. In: Principles of Bioenergetics. New York: Worth, 2000:490-526.

Hanson RW. The role of ATP in metabolism. Biochem Educ 1989;17:86-92.

Rolfe DES, Brown GC. Cellular energy utilization and molecular origin of standard metabolic rate in mammals. Physiol Rev 1997;77:731-758.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 19

1. A ligação de fosfato mais rica em energia no ATP está localizada entre qual dos seguintes grupos?

   (A) Adenosina e fosfato
   (B) Ribose e fosfato
   (C) Ribose e adenina
   (D) Dois grupos hidroxila e o anel na ribose
   (E) Dois grupos fosfato

2. Qual dos seguintes termos ou frases sobre bioenergética está corretamente definido?

   (A) A primeira lei da termodinâmica afirma que o universo tende a um estado de desordem aumentada.
   (B) A segunda lei da termodinâmica afirma que a energia total de um sistema permanece constante.
   (C) A alteração na entalpia de uma reação é uma medida da quantidade total de calor que pode ser liberada nas ligações químicas.
   (D) $\Delta G^{0'}$ de uma reação é a alteração da energia livre padrão medida a 37°C e um pH de 7,4.
   (E) Uma ligação rica em energia é uma ligação que libera mais do que 3 kcal/mol de calor quando é hidrolisada.

3. Qual afirmação melhor descreve a direção que uma reação química seguirá?

   (A) Uma reação com uma energia livre positiva ocorrerá na direção direta se a concentração do substrato for aumentada o suficiente.
   (B) Sob condições-padrão, uma reação ocorrerá na direção direta se a energia livre $\Delta G^{0'}$ for positiva.
   (C) A direção de uma reação é independente das concentrações iniciais de substrato e produto, pois a direção é determinada pela variação na energia livre.
   (D) A concentração de todos os substratos deve ser maior do que todos os produtos para a reação ocorrer na direção direta.
   (E) A enzima para a reação deve estar trabalhando melhor do que 50% de sua eficiência máxima para a reação ocorrer na direção direta.

4. Um paciente, o Sr. Perkins, acabou de sofrer um infarto do miocárdio. Como conseqüência, seu coração apresentará qual das seguintes alterações?

   (A) Uma concentração intracelular aumentada de O_2
   (B) Uma concentração intracelular aumentada de ATP
   (C) Uma concentração aumentada de H^{+}
   (D) Uma concentração intracelular diminuída de Ca^{2+}
   (E) Uma concentração intracelular diminuída de Na^{+}

5. Qual das afirmações seguintes descreve corretamente a redução de um dos carreadores de elétrons, NAD^+ ou FAD?

   (A) NAD^+ aceita dois elétrons como átomos de hidrogênio para formar $NADH_2$.
   (B) NAD^+ aceita dois elétrons que são, cada um, doados de um átomo separado do substrato.
   (C) NAD^+ aceita dois elétrons como íon anidrido para formar NADH.
   (D) FAD libera um próton quando aceita dois elétrons.
   (E) FAD deve aceitar dois elétrons por vez.

20 Ciclo do Ácido Tricarboxílico

O ciclo do TCA com freqüência é chamado de ciclo de Krebs, pois Sir Hans Krebs foi o primeiro a formular suas reações em um ciclo. Ele também é chamado de "ciclo do ácido cítrico", pois o citrato foi um dos primeiros compostos identificados como participantes. O nome mais comum para essa rota, o ciclo do ácido tricarboxílico ou ciclo do TCA, indica o envolvimento dos ácidos tricarboxílicos citrato e isocitrato.

As principais rotas para a oxidação de substrato energéticos produzem acetil-CoA, a qual é o substrato para o ciclo do TCA. Na primeira etapa do ciclo do TCA, a porção acetila da acetil-CoA se combina com o intermediário de 4 carbonos oxaloacetato para formar citrato (6 carbonos), o qual é rearranjado para formar isocitrato. Nas próximas duas reações de descarboxilação oxidativa, elétrons são transferidos para NAD^+ para formar NADH, e 2 moléculas de CO_2 depletadas de elétrons são liberadas. Subseqüentemente, uma ligação de fosfato rica em energia do GTP é produzida a partir de fosforilação no nível de substrato. Na porção restante do ciclo do TCA, o succinato é oxidado a oxaloacetato com produção de um FAD(2H) e um NADH. A reação total do ciclo do TCA, que é a soma das equações das etapas individuais, mostra que os dois carbonos do grupo acetila foram oxidados a duas moléculas de CO_2, com conservação de energia como três moléculas de NADH, uma de FAD(2H) e uma de GTP.

*O **ciclo do TCA** (ciclo do ácido tricarboxílico, do inglês* tricarboxylic acid*) é responsável por mais de dois terços do ATP produzido a partir da oxidação de substratos energéticos. As rotas para a oxidação de ácidos graxos, glicose, aminoácidos, acetato, e corpos cetônicos, todas produzem **acetil-CoA**, a qual é o substrato para o ciclo do TCA. Quando o grupo acetila de 2 carbonos ativado é oxidado a duas moléculas de **CO_2**, energia é conservada como **NADH**, **FAD(2H)** e **GTP** (Figura 20.1). O NADH e o FAD(2H) subseqüentemente doam elétrons para o O_2 através da cadeia de transporte de elétrons, com a produção de ATP a partir da fosforilação oxidativa. Assim, o ciclo do TCA é central para a produção de energia a partir da **respiração celular**.*

*Dentro do ciclo do TCA, a descarboxilação oxidativa de um α-cetoglutarato é catalisada pelo **complexo de múltiplas subunidades da α-cetoglutarato-desidrogenase**, a qual contém as coenzimas **tiamina-pirofosfato, lipoato** e **FAD**. Um complexo similar, o complexo da **piruvato-desidrogenase (CPD)**, catalisa a oxidação de piruvato a acetil-CoA, fornecendo, assim, uma conexão entre as rotas da glicólise e do ciclo do TCA (ver Figura 20.1)*

*O grupo acetila de dois carbonos é a fonte final de elétrons que são transferidos para o NAD^+ e o FAD e também do carbono nas duas moléculas de CO_2 que são produzidas. O oxaloacetato é utilizado e regenerado a cada volta do ciclo (ver Figura 20.1). Contudo, quando as células utilizam intermediários do ciclo do TCA para reações de biossíntese, os carbonos do oxaloacetato devem ser substituídos por reações **anapleróticas** (de preenchimento), como a **reação da piruvato-carboxilase.***

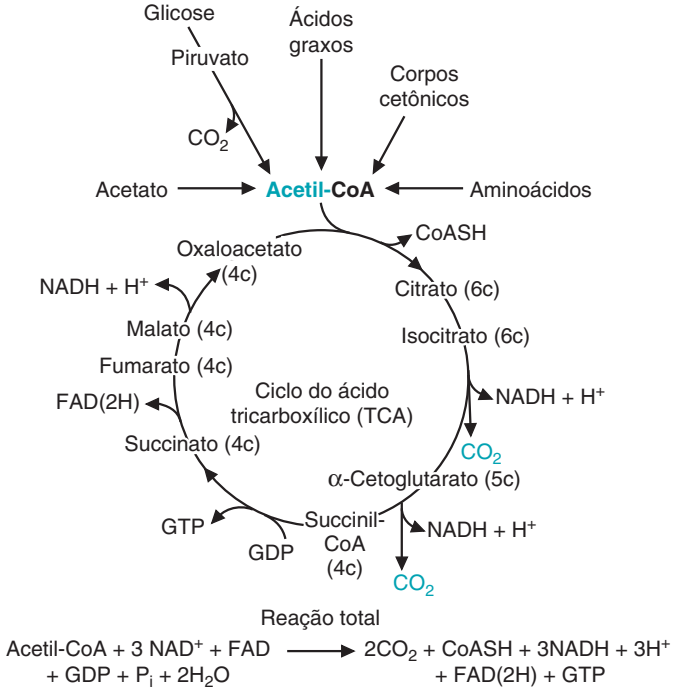


Figura 20.1 Resumo do ciclo do TCA.

O ciclo do TCA ocorre na mitocôndria, onde seu fluxo é fortemente coordenado com a velocidade da cadeia de transporte de elétrons e fosforilação oxidativa por meio de regulação por ***retroalimentação que reflete a demanda de ATP****. A velocidade do ciclo do TCA está aumentada quando a utilização de ATP nas células é aumentada pela resposta de várias enzimas aos* ***níveis de ADP****, à* ***razão NADH/NAD$^+$****, à velocidade de oxidação de FAD(2H) ou à* ***concentração de Ca^{2+}****. Por exemplo, a* ***isocitrato-desidrogenase é ativada alostericamente por ADP****.*

Há duas conseqüências gerais para o funcionamento inadequado do ciclo do TCA: (1) uma inabilidade de produzir ATP a partir da oxidação de substrato energético e (2) um acúmulo de precursores do ciclo do TCA. Por exemplo, a inibição da oxidação de piruvato no ciclo do TCA resulta em sua redução a lactato, o que pode causar uma ***acidose lática****. A situação mais comum levando a uma função diminuída do ciclo de Krebs é uma falha relativa do oxigênio em aceitar elétrons na cadeia de transporte de elétrons.*

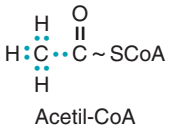
SALA DE ESPERA

Otto Shape, um estudante de medicina de 26 anos, seguiu corretamente a dieta e o programa de exercícios aeróbicos de jogar tênis e correr diariamente (ver Capítulo 19). Ele perdeu um total de 15 kg e está apenas a 10,5 kg do peso de 68,9 kg que tinha quando estava no início da faculdade. Sua capacidade de exercício melhorou bastante: ele pode correr por um tempo maior, com um ritmo mais rápido antes de ficar com falta de ar ou ter palpitações no coração. Até mesmo as notas em suas disciplinas melhoraram.

Ann O'Rexia sofre de anorexia nervosa (ver Capítulos 1, 3 e 9). Além de um baixo peso corporal, diminuição de massa muscular, glicogênio e reservas de gordura, ela tem anemia por deficiência de ferro (ver Capítulo 16). Ela começou a ganhar peso novamente e está realizando um programa diário de exercícios. Contudo, ela se sente constantemente fraca e cansada. Quando caminha, sente dor nos músculos das panturrilhas. Nessa consulta à nutricionista, elas discutiram o conteúdo de vitaminas de sua dieta e seu papel no metabolismo.

Al Martini esteve hospitalizado por insuficiência cardíaca congestiva (ver Capítulo 8) e por lesões na cabeça obtidas enquanto dirigia alcoolizado (Capítulos 9 e 10). Ele completou seu programa de desintoxicação, inscreveu-se no grupo de alcoólatras anônimos (AA) local e passou a ter consultas com um psicólogo. Durante esse tempo, suas manifestações neurológicas e cardíacas de deficiência de tiamina relacionadas ao álcool melhoraram. Contudo, apesar do apoio que estava recebendo, começou a beber quantidades excessivas de álcool e a se alimentar mal novamente. Três semanas mais tarde, foi reinternado com sintomas de insuficiência cardíaca de "alto débito".

Vitaminas e minerais necessários para o ciclo do TCA e reações anapleróticas
Niacina (NAD$^+$)
Riboflavina (FAD)
Pantotenato (CoA)
Tiamina
Biotina
Mg^{2+}
Ca^{2+}
Fe^{2+}
Fosfato



Acetil-CoA

Figura 20.2 O grupo acetila da acetil-CoA. A acetil-CoA doa oito elétrons para o ciclo do TCA, os quais são mostrados em azul, e dois carbonos. A ligação de alta energia é mostrada por ~. O grupo acetila é a fonte final dos carbonos nas duas moléculas de CO_2 que são produzidas e a fonte de elétrons em uma molécula de FAD(2H) e três moléculas de NADH, as quais aceitaram cada uma dois elétrons. Contudo, dentro da mesma volta do ciclo, não são os mesmos átomos de carbono e elétrons que entram a partir de uma molécula de acetil-CoA que saem como CO_2, NADH ou FAD(2H).

I. REAÇÕES DO CICLO DO TCA

No ciclo do TCA, o grupo acetila de 2 carbonos da acetil-CoA é oxidado a duas moléculas de CO_2 (ver Figura 20.1). A função do ciclo é conservar energia a partir dessa oxidação, o que ele consegue principalmente pela transferência de elétrons a partir de intermediários do ciclo para NAD$^+$ e FAD. Os oito elétrons doados para o grupo acetila eventualmente terminam em três moléculas de NADH e uma de FAD(2H) (Figura 20.2). Como conseqüência, o ATP pode ser produzido a partir da fosforilação oxidativa quando o NADH e o FAD(2H) doam esses elétrons para o O_2 por meio da cadeia de transporte de elétrons.

As sintases, como a citrato-sintase, catalisam a condensação de duas moléculas orgânicas para formar uma ligação carbono-carbono. As desidrogenases, como a isocitrato-desidrogenase, são enzimas que removem hidrogênios contendo elétrons ou átomos hidretos de um substrato e os transferem para coenzimas aceptoras de elétrons, como NAD^+ ou FAD. A aconitase é uma isomerase, uma enzima que catalisa um rearranjo interno de átomos ou elétrons. Na aconitase, um grupo hidroxila é transferido de um carbono para outro. Um co-fator ferro na enzima facilita essa transferência.

Inicialmente, o grupo acetila é incorporado ao citrato, um intermediário do ciclo do TCA (Figura 20.3). À medida que o citrato prossegue através do ciclo para oxaloacetato, ele é oxidado por quatro desidrogenases (isocitrato-desidrogenase, α-cetoglutarato, succinato-desidrogenase e malato-desidrogenase), as quais transferem elétrons para NAD^+ ou FAD. A aconitase-isomerase rearranja elétrons no citrato, formando, assim, isocitrato, para facilitar uma transferência de elétrons para NAD^+.

Embora nenhum O_2 seja introduzido no ciclo do TCA, as duas moléculas de CO_2 produzidas têm mais oxigênio do que o grupo acetila. Esses átomos de oxigênio são derivados do grupo carbonila da acetil-CoA, duas moléculas de água adicionadas por fumarase e citrato-sintase e o PO_4^{2-} adicionado ao GDP.

A liberação total de compostos contendo energia a partir do ciclo do TCA é produzida a partir de fosforilação no nível de substrato catalisada pela succinato-tioquinase (succinil-CoA-sintetase). Quando o NADH e o FAD(2H) são reoxidados na cadeia de transporte de elétrons, aproximadamente 2,5 ATPs são produzidos para cada NADH,

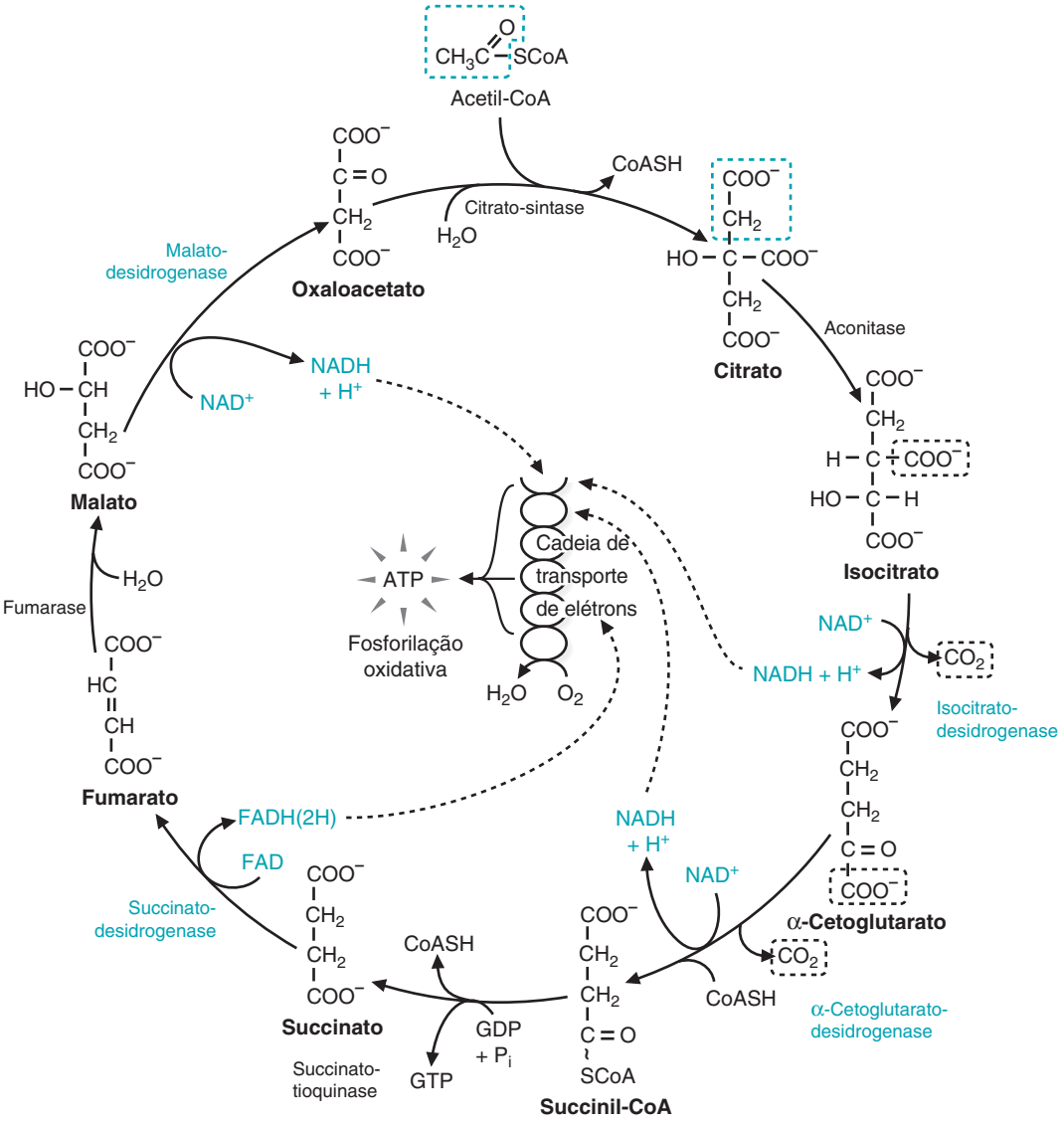


Figura 20.3 Reações do ciclo do TCA. As enzimas de oxirredução e as coenzimas são mostradas em azul. A entrada dos dois carbonos da acetil-CoA no ciclo do TCA é indicada com caixas azuis tracejadas. Os carbonos liberados como CO_2 são mostrados com caixas pretas tracejadas.

e 1,5 ATP para o FAD(2H). Conseqüentemente, a energia total liberada pelo ciclo do TCA e pela fosforilação oxidativa é cerca de 10 ligações de fosfato ricas em energia para cada grupo acetila oxidado.

A. Formação e Oxidação de Isocitrato

O ciclo do TCA inicia com a condensação do grupo acetila e oxaloacetato para formar o intermediário citrato de 6 carbonos, uma reação catalisada pela enzima citrato-sintase (ver Figura 20.3). Devido ao fato de o oxaloacetato ser regenerado a cada volta do ciclo, ele não é considerado um substrato do ciclo, ou uma fonte de elétrons ou carbonos.

Na etapa seguinte do ciclo do TCA, o grupo hidroxila (álcool) do citrato é movido para um carbono adjacente, de tal forma que ele pode ser oxidado para formar um grupo α-carbonila. A isomerização de citrato a isocitrato é catalisada pela enzima aconitase, a qual é nomeada a partir de um intermediário da reação. A enzima isocitrato-desidrogenase catalisa a oxidação do grupo álcool e a queda subseqüente do grupo carboxila para liberar CO_2 (uma descarboxilação oxidativa).

B. α-Cetoglutarato a Succinil-CoA

A próxima etapa do ciclo do TCA é a descarboxilação oxidativa do α-cetoglutarato a succinil-CoA, catalisada pelo complexo da α-cetoglutarato-desidrogenase (ver Figura 20.3). O complexo da desidrogenase contém as coenzimas tiamina-pirofosfato, ácido lipóico e FAD.

Nessa reação, um dos grupos carboxila do α-cetoglutarato é liberado como CO_2, e o grupo carbonila adjacente é oxidado para o nível de um ácido, o qual, então, se combina com CoASH para formar succinil-CoA (ver Figura 20.3). A partir dessa reação, a energia é conservada principalmente no estado de redução de NADH e em uma quantidade menor presente na ligação tioéster rica em energia da succinil-CoA.

C. Produção de GTP

A energia da ligação tioéster da succinil-CoA é utilizada para produzir GTP a partir de GDP e P_i na reação catalisada pela succinato-tioquinase (ver Figura 20.3). Essa reação é um exemplo de fosforilação no nível de substrato. Por definição, a fosforilação no nível de substrato é a formação de uma ligação de fosfato rica em energia em que não existia nenhuma previamente sem a utilização de O_2 molecular (em outras palavras, não por fosforilação oxidativa). A ligação de fosfato rica em energia do GTP é energeticamente equivalente àquela do ATP e pode ser utilizada diretamente para reações que necessitam de energia como síntese de proteínas.

D. Oxidação de Succinato a Oxaloacetato

Até essa etapa do ciclo do TCA, dois carbonos tiveram seus elétrons disponíveis retirados e foram liberados como CO_2. Dois pares desses elétrons foram transferidos para 2 NAD^+, e um GTP foi produzido. Contudo, dois pares adicionais de elétrons originados a partir da acetil-CoA ainda permanecem no ciclo do TCA como parte do succinato. As etapas restantes do ciclo do TCA transferem esses dois pares de elétrons para FAD e NAD^+ e adicionam H_2O, regenerando, assim, o oxaloacetato.

A seqüência de reações convertendo succinato a oxaloacetato começa com a oxidação de succinato a fumarato (ver Figura 20.3). Elétrons *single* são transferidos a partir de dois grupos metileno $–CH_2–$ do succinato para um FAD ligado à succinato-desidrogenase, formando, assim, a ligação dupla do fumarato. A partir da redução do FAD ligado à enzima, os elétrons passam para a cadeia de transporte de elétrons. Um grupo –OH e um próton da água são adicionados à ligação dupla do fumarato, convertendo-o a malato. Na última reação do ciclo do TCA, o grupo álcool do malato é oxidado a um grupo carbonila pela doação de elétrons para NAD^+.



O programa de exercício de **Otto Shape** aumenta sua utilização de ATP e sua velocidade de oxidação de substrato energético no ciclo do TCA. O ciclo do TCA produz NADH e FAD(2H), e a cadeia de transporte de elétrons transfere elétrons a partir de NADH e FAD(2H) para O_2, criando, assim, o potencial eletroquímico que induz a síntese de ATP em ADP. Quando o ATP é utilizado na célula, a velocidade da cadeia de transporte de elétrons aumenta. O ciclo do TCA e outras rotas de oxidação de substrato energético respondem aumentando suas velocidades de produção de NADH e FAD(2H).



A succinato-tioquinase também é conhecida como succinil-CoA-sintetase. Ambos os nomes se referem à direção reversa da reação, ou seja, a conversão de succinato a tioéster-succinil-CoA, utilizando energia do GTP. As sintases, como a citrato-sintase, diferem-se de sintetases porque essas quebram uma ligação de fosfato rica em energia no ATP, UTP, CTP ou GTP, e as sintases não o fazem.



Na Figura 20.3, quais enzimas no ciclo do TCA liberam CO_2? Quantos moles de oxaloacetato são consumidos no ciclo do TCA para cada mol de CO_2 produzido?



A seqüência de reações de oxidação de succinato a oxaloacetato pela formação de ligação dupla, adição de água à ligação dupla e oxidação do álcool resultando em uma cetona é encontrada em muitas rotas oxidativas na célula, como as rotas de oxidação de ácidos graxos e oxidação de aminoácidos de cadeia ramificada.



Ann O'Rexia tem estado desnutrida por algum tempo e desenvolveu deficiências subclínicas de muitas vitaminas, incluindo riboflavina. As coenzimas FAD (flavina-adenina-dinucleotídeo) e FMN (flavina-mononucleotídeo) são sintetizadas a partir da vitamina riboflavina. A riboflavina é ativamente transportada para dentro das células, onde a enzima flavoquinase adiciona um fosfato para formar FMN. A FAD-sintetase, então, adiciona AMP para formar FAD. O FAD é a principal coenzima em tecidos e em geral é encontrada fortemente ligada a proteínas, com cerca de 10% sendo ligadas de forma covalente. Sua renovação no corpo é muito lenta, e algumas pessoas podem viver por longos períodos com ingestas baixas sem apresentarem sinais de uma deficiência de riboflavina.

R: A isocitrato-desidrogenase libera o primeiro CO_2, e a α-cetoglutarato-desidrogenase libera o segundo CO_2. Não há consumo de oxaloacetato no ciclo do TCA – a primeira etapa utiliza um, e a última etapa produz um oxaloacetato. A utilização e a regeneração de oxaloacetato são a parte "cíclica" do ciclo do TCA.

Q: Um dos parceiros de **Otto Shape** lhe disse que ouviu sobre um alimento saudável para atletas que contém succinato. O anúncio declarava que o succinato forneceria uma fonte excelente de energia durante exercício porque pode ser metabolizado diretamente sem oxigênio. Você vê algo errado com essa afirmação?

Com a regeneração de oxaloacetato, o ciclo do TCA está completo; a energia da ligação química, o carbono e os elétrons doados pelo grupo acetila foram convertidos a CO_2, NADH, FAD(2H), GTP e calor.

II. COENZIMAS DO CICLO DO TCA

As enzimas do ciclo do TCA dependem muito de coenzimas para suas funções catalíticas. A isocitrato-desidrogenase e a malato-desidrogenase utilizam NAD^+ como uma coenzima, e a succinato-desidrogenase utiliza FAD. A citrato-sintase catalisa uma reação que utiliza um derivado de CoA, acetil-CoA. O complexo α-cetoglutarato-desidrogenase utiliza tiamina-pirofosfato, lipoato e FAD como coenzimas ligadas e NAD^+ e CoASH como substratos. Cada uma dessas coenzimas tem características estruturais próprias que permitem que elas desempenhem suas funções no ciclo do TCA.

A. FAD e NAD^+

FAD e NAD^+ são ambas coenzimas aceptoras de elétrons. Por que FAD é utilizado em algumas reações e NAD^+ em outras? Suas características estruturais próprias permitem a FAD e a NAD^+ agirem como aceptores de elétrons em diferentes tipos de reações e desempenharem diferentes papéis fisiológicos na célula. O FAD é capaz de receber elétrons *single* (H•) e formar um intermediário semi-reduzido (Figura 20.4). Ele, então, participa em reações nas quais elétrons *single* são transferidos, independentemente, a partir de dois átomos distintos, o que ocorre na formação de ligação dupla (p. ex., succinato a fumarato) e na formação de ligações dissulfídicas (p. ex., lipoato a lipoato dissulfeto em uma reação da α-cetoglutarato-desidrogenase). Em contraste, NAD^+ re-

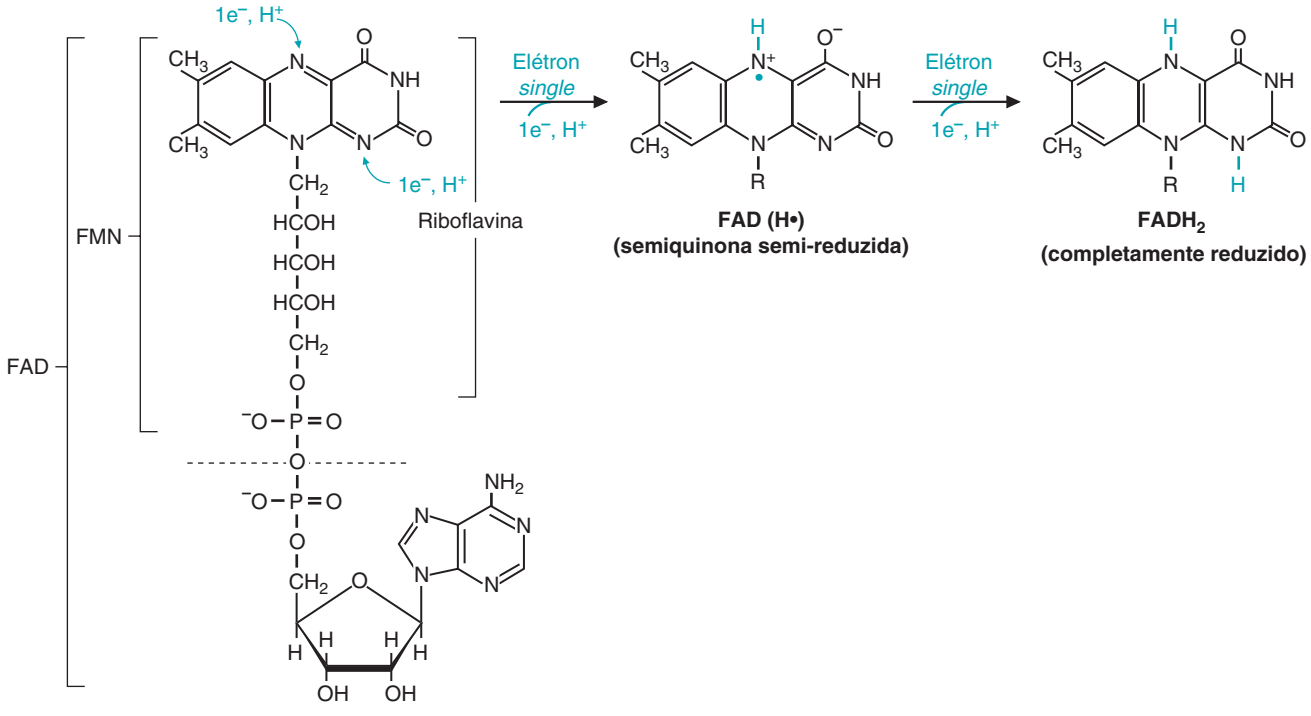


Figura 20.4 Etapas de um elétron na redução de FAD. Quando FAD e FNM recebem elétrons *single*, eles são convertidos em uma quinona semi-reduzida, uma forma livre semi-estável. Eles também podem receber dois elétrons para formar a forma completamente reduzida, $FADH_2$. Contudo, na maioria das desidrogenases, $FADH_2$ nunca é formado. Em vez disso, o primeiro elétron é compartilhado com um grupo na proteína quando o próximo elétron é transferido. Portanto, neste texto, a aceitação geral de dois elétrons por FAD foi indicada pela abreviatura mais geral, FAD(2H).

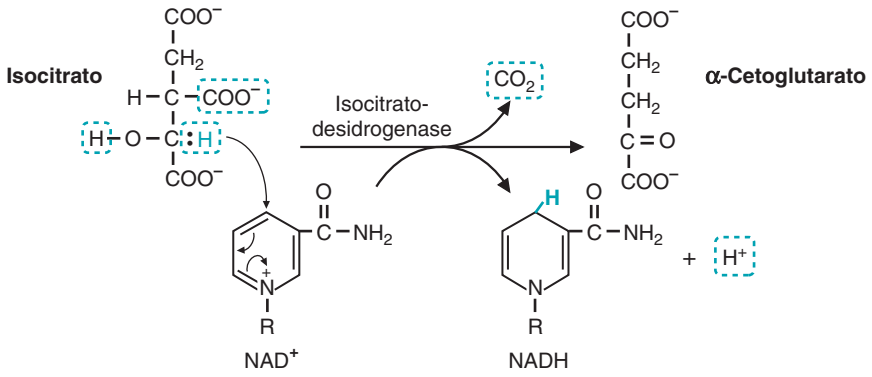


Figura 20.5 Oxidação e descarboxilação de isocitrato. O grupo álcool (C-OH) é oxidado a uma cetona, com os elétrons do C-H doados para NAD^+ como o íon hidreto. Subseqüentes alterações de elétrons no anel de piridina removem a carga positiva. O H do grupo OH se dissocia na água como um próton, H^+• o NAD^+, o aceptor de elétrons, é reduzido.

cebe um par de elétrons como o íon hidreto (H^-), o qual é atraído para o carbono oposto ao anel de piridina carregado positivamente (Figura 20.5). Isso ocorre, por exemplo, na oxidação de alcoóis a cetonas pela malato-desidrogenase e isocitrato-desidrogenase. O anel de nicotinamida recebe um íon hidreto da ligação C-H, e o hidrogênio alcoólico é liberado no meio como um próton carregado positivamente, H^+.

As formas de radical livre de elétron *single* do FAD são muito reativas, e o FADH pode perder seus elétrons pela exposição à água ou pelo início das reações em cadeia. Como conseqüência, o FAD deve permanecer bem ligado, algumas vezes de forma covalente, à sua enzima, enquanto recebe e transfere elétrons para outros grupos ligados à enzima (Figura 20.6). Devido ao fato de o FAD interagir com muitos grupos funcionais nas cadeias laterais dos aminoácidos no sítio ativo, o $E^{0,}$ para o FAD ligado à enzima varia muito e pode ser maior ou muito menor do que o para o NAD^+. Em contraste, NAD^+ e NADH são muito mais semelhantes ao substrato e ao produto do que a coenzimas.

O NADH tem um papel regulatório no balanço do metabolismo de energia que o FAD(2H) não tem, pois o FAD(2H) permanece ligado à sua enzima. O NAD^+ livre se liga a uma desidrogenase e é reduzido a NADH, o qual é, então, liberado no meio, onde pode se ligar a uma desidrogenase diferente. Conseqüentemente, enzimas oxidativas são controladas pela razão $NADH/NAD^+$ e não produzem NADH mais rápido do que ele pode ser reoxidado na cadeia de transporte de elétrons. A regulação do ciclo do TCA e de outras rotas de oxidação de substrato energético pela razão $NADH/NAD^+$ é parte do mecanismo para a coordenação da velocidade de oxidação de substrato energético com a velocidade de utilização de ATP.

B. Papel da CoA no Ciclo do TCA

A CoASH, a coenzima de acilação, participa nas reações pela formação de uma ligação tioéster entre o enxofre (S) da CoASH e um grupo acila (p. ex., acetil-CoA, succinil-CoA) (Figura 20.7). A estrutura completa de CoASH e sua vitamina precursora, pan-

O FAD tem sido referido como uma coenzima casada, e o NAD^+ é seu primo promíscuo. O FAD recebe fielmente apenas elétrons de um substrato que esteja ligado à mesma enzima (ou complexo enzimático) e doa esses elétrons sem deixar a enzima. Ele faz isso repetidamente enquanto ligado à sua enzima. O NAD^+, inversamente, pode receber elétrons quando ligado a qualquer desidrogenase e deixa a enzima imediatamente após. Ele doa esses elétrons enquanto ligado a uma desidrogenase diferente, como a NADH-desidrogenase na cadeia de transporte de elétrons. Ele se diverte muito por aí!

R: A declaração de que a oxidação de succinato produz energia sem oxigênio é errada. Ela provavelmente foi fundamentada no fato de que succinato é oxidado a fumarato pela doação de elétrons para FAD. Contudo, o ATP só pode ser produzido por esse processo quando elétrons são doados para o oxigênio na cadeia de transporte de elétrons. A energia produzida pela cadeia de transporte de elétrons é utilizada para a síntese de ATP no processo de fosforilação oxidativa. Após o FAD(2H) covalentemente ligado ser oxidado de novo a FAD pela cadeia de transporte de elétrons, a succinato-desidrogenase pode oxidar outra molécula de succinato.

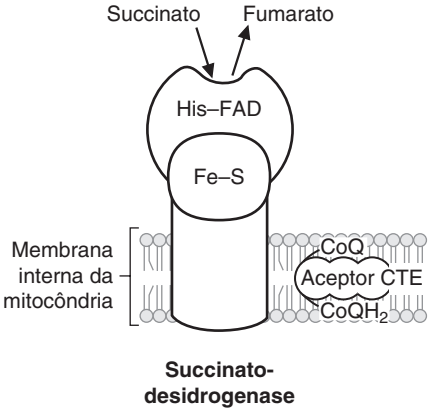


Figura 20.6 A succinato-desidrogenase contém FAD covalentemente ligado. Como conseqüência, a succinato-desidrogenase e as flavoproteínas similares localizam-se na membrana interna da mitocôndria, onde podem transferir diretamente elétrons para a cadeia de transporte de elétrons. Os elétrons são transferidos do FAD covalentemente ligado para um complexo Fe-S na enzima e, então, para a coenzima Q na cadeia de transporte de elétrons (ver Capítulo 21). Assim, o FAD não precisa se dissociar da enzima para transferir seus elétrons. Todas as outras enzimas do ciclo do TCA são encontradas na matriz mitocondrial.

A CoASH é sintetizada a partir da vitamina pantotenato em uma seqüência de reações que fosforilam pantotenato, adicionam a porção sulfidril da CoA da cisteína e, então, adicionam AMP e um grupo fosfato adicional a partir de ATP (ver Figura 8.12). O pantotenato é bastante distribuído em alimentos (*pantos* significa "em todo lugar"); assim, é improvável que **Ann O'Rexia** tenha desenvolvido uma deficiência de pantotenato. Embora a CoA seja necessária em aproximadamente 100 reações diferentes em células de mamíferos, não foram estabelecidas Recomendações Dietéticas Adequadas (RDA) para pantotenato, em parte porque ainda não foram encontrados indicadores que específica e sensivelmente reflitam uma deficiência dessa vitamina nos humanos. Os sintomas relatados para deficiência de pantotenato (fadiga, náusea e perda de apetite) são características de deficiência de vitaminas em geral.

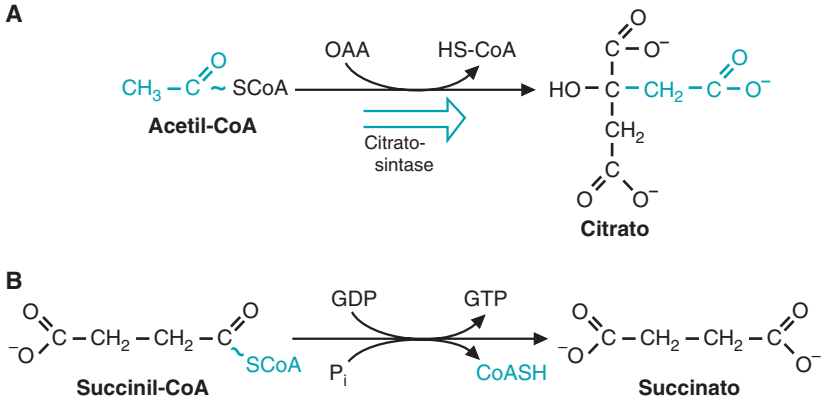


Figura 20.7 Utilização da ligação rica em energia de acil-CoA. As transformações de energia são mostradas em azul. **A**. A energia liberada pela hidrólise da ligação tioéster da acetil-CoA na reação da citrato-sintase contribui com um $\Delta G^{0'}$ muito negativo, para a direção direta do ciclo do TCA. **B**. A energia da ligação tioéster da succinil-CoA é utilizada para a síntese da ligação de fosfato rica em energia do GTP.

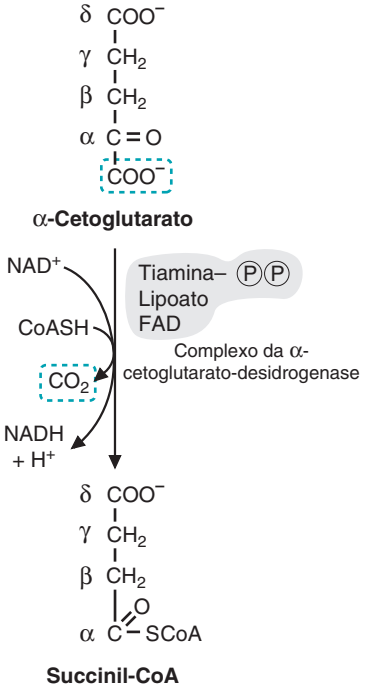


Figura 20.8 Descarboxilação oxidativa de α-cetoglutarato. O complexo α-cetoglutarato-desidrogenase oxida α-cetoglutarato a succinil-CoA. O grupo carboxila é liberado como CO_2. O grupo carbonila do carbono α é oxidado e, então, forma o acil-CoA-tioéster, succinil-CoA. α, β, γ e δ se referem à seqüência de átomos no α-cetoglutarato.

totenato, é mostrada na Figura 8.12. Uma ligação tioéster se diferencia de uma ligação éster de oxigênio típica, pois S, diferentemente de O, não compartilha seus elétrons e participa na formação de ressonâncias. Uma das conseqüências dessa característica da química do enxofre é que o carbono carbonílico, o carbono α e o carbono β do grupo acila em uma tioéster-CoA podem ser ativados para participação em diferentes tipos de reações (p. ex., na reação da citrato-sintase, o grupo metila do carbono α é ativado pela condensação com oxaloacetato, ver Figuras. 20.3 e 20.7A). Outra conseqüência é que a ligação tioéster é uma ligação rica em energia que tem um $\Delta G^{0'}$ de hidrólise muito negativo (aproximadamente –13 kcal/mol).

A energia da quebra das ligações tioéster ricas em energia da succinil-CoA e da acetil-CoA é utilizada em duas rotas diferentes do ciclo do TCA. Quando a ligação tioéster da succinil-CoA é quebrada pela succinato-tioquinase, a energia é utilizada diretamente para ativar um fosfato ligado à enzima que é transferido para GDP (ver Figura 20.7B). Em contraste, quando a ligação tioéster da acetil-CoA é quebrada na reação da citrato-sintase, a energia é liberada, dando à reação um $\Delta G^{0'}$ muito negativo de –7,7 kcal/mol. O $\Delta G^{0'}$ muito negativo para a formação de citrato auxilia a manter o ciclo do TCA na direção direta.

C. Os Complexos da α-Cetoácido-Desidrogenase

O complexo da α-cetoglutarato-desidrogenase é um de uma família de três membros de complexos α-cetoácido-desidrogenases similares. Os outros membros dessa família são o complexo da piruvato-desidrogenase e o complexo de α-cetoácido-desidrogenase de aminoácidos de cadeia ramificada. Cada um desses complexos é específico para uma estrutura α-cetoácido diferente. Na seqüência de reações catalisadas pelos complexos, o α-cetoácido é descarboxilado (ou seja, libera o grupo carboxila como CO_2) (Figura 20.8). O grupo carbonila é oxidado para o nível de ácido carboxílico e, então, combinado com CoASH para formar um acil-CoA-tioéster (p. ex., succinil-CoA).

Todos os complexos da α-cetoácido-desidrogenase são grandes complexos de enzima compostos por múltiplas subunidades de três enzimas diferentes, E_1, E_2 e E_3 (Figura 20.9). E_1 é uma α-cetoácido-descarboxilase que contém tiamina-pirofosfato (TPP); ela quebra o grupo carboxila do α-cetoácido. E_2 é uma transacilase contendo lipoato; ela transfere a porção α-cetoácido da tiamina para a CoASH. E_3 é diidrolipoil-desidrogenase, a qual contém FAD; ela transfere elétrons do lipoato reduzido para NAD^+. O agrupamento de três enzimas em um grande complexo permite que o produto

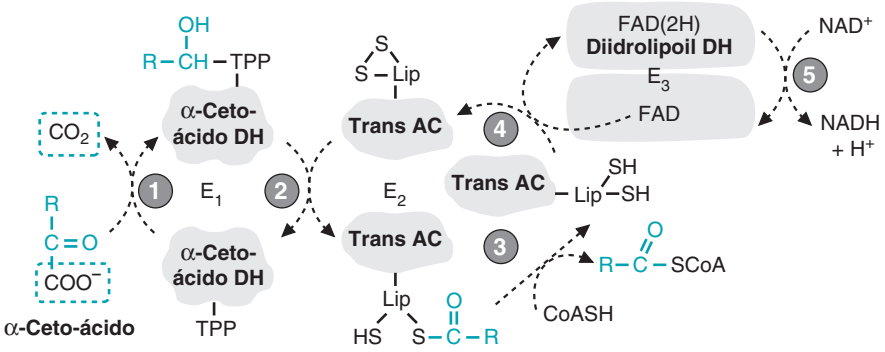


Figura 20.9 Mecanismo de complexos de α-cetoácido-desidrogenase (incluindo α-cetoglutarato-desidrogenase, piruvato-desidrogenase e o complexo de α-cetoácido-desidrogenase de cadeia ramificada). R representa a porção do α-cetoácido que inicia com o carbono β. No α-cetoglutarato, R é CH_2-CH_2-COOH. No piruvato, R é CH_3. As etapas individuais na descarboxilação oxidativa de α-cetoácidos são catalisadas por três subunidades diferentes: E_1, α-cetoácido-descarboxilase (α-cetoglutarato-desidrogenase); E_2, transacilase (transuccinilase), e E_3, diidrolipoil-desidrogenase. Círculo 1: O tiamina-pirofosfato (TPP) na E_1 descarboxila o α-cetoácido e forma um intermediário covalente com a porção remanescente. Círculo 2: A porção acil do α-cetoácido é transferida por TPP em E_1 para lipoato em E_2, a qual é uma transacilase. Círculo 3: A E_2 transfere o grupo acil do lipoato para CoASH. Esse processo reduziu as pontes dissulfeto do lipoil a grupos sulfidrila (diidrolipoil). Círculo 4: A E_3, diidrolipoil-desidrogenase (DH), transfere os elétrons do lipoato reduzido para sua molécula FAD fortemente ligada, oxidando, assim, lipoato novamente para sua forma dissulfeto original. Círculo 5: Os elétrons são, então, transferidos de FAD(2H) para NAD^+ para formar NADH.

de uma enzima seja transferido para a próxima sem perda de energia. A formação de complexo também aumenta a velocidade de catálise, pois os substratos E_2 e E_3 permanecem ligados ao complexo enzimático.

1. TIAMINA-PIROFOSFATO NO COMPLEXO α-CETOGLUTARATO-DESIDROGENASE

O tiamina-pirofosfato é sintetizado a partir da vitamina tiamina pela adição de pirofosfato (ver Figura 8.11). O grupo pirofosfato liga magnésio, o qual se liga a cadeias laterais da enzima. Essa ligação é relativamente fraca para uma coenzima; assim, a tiamina é metabolizada rapidamente no corpo, e uma deficiência pode se desenvolver rapidamente em indivíduos com uma dieta sem tiamina ou com pouca tiamina.

A função geral do tiamina-pirofosfato é a quebra de uma ligação carbono-carbono próxima a um grupo cetônico. Nos complexos desidrogenase de α-cetoglutarato, piruvato e α-cetoácido de cadeia ramificada, o carbono funcional no anel tiazólico forma uma ligação covalente com o carbono α-carbonílico, quebrando, assim, a ligação entre esse carbono e o grupo ácido carboxílico adjacente (ver Figura 8.11 para o mecanismo dessa reação). O tiamina-pirofosfato também é uma coenzima para a transcetolase na rota do pentose-fosfato, onde ele quebra de forma similar a ligação carbono-carbono próxima a um grupo α-carbonila. Na deficiência de tiamina, α-cetoglutarato, piruvato e outros α-cetoácidos se acumulam no sangue.

2. LIPOATO

O lipoato é uma coenzima encontrada apenas nos complexos da α-cetoácido-desidrogenase. Ele é sintetizado nos humanos a partir de carboidratos e aminoácidos e não necessita de uma vitamina precursora. O lipoato é ligado à enzima transacilase por seu grupo carboxila, o qual é covalentemente ligado ao grupo terminal -NH_2 de uma lisina



O $E^{0'}$ para o FAD receber elétrons é –0,20 (ver Tabela 19.4). O $E^{0'}$ para o NAD^+ receber elétrons é –0,32. Assim, a transferência de elétrons de FAD(2H) para NAD^+ é energeticamente desfavorável. Como os complexos da α-cetoácido-desidrogenase permitem que essa transferência de elétrons ocorra?



Na insuficiência cardíaca de **Al Martini**, que é causada por uma deficiência nutricional da vitamina tiamina, os complexos de piruvato-desidrogenase, α-cetoglutarato-desidrogenase e α-cetoácido-desidrogenase ramificada são menos funcionais do que o normal. Devido ao fato de o músculo cardíaco, o músculo esquelético e o tecido nervoso terem uma alta velocidade de produção de ATP a partir de NADH produzido pela oxidação de piruvato a acetil-CoA e de acetil-CoA a CO_2 no ciclo do TCA, esses tecidos se apresentam com os sinais mais óbvios de deficiência de tiamina.

Em sociedades ocidentais, a grande deficiência de tiamina é associada com mais freqüência ao alcoolismo. O mecanismo para a absorção ativa de tiamina é diretamente e bastante inibido por álcool. A deficiência subclínica de tiamina por desnutrição ou anorexia pode ser comum na população geral e com freqüência é associada a deficiências de múltiplas vitaminas.

Envenenamento por arsênio é causado pela presença de um grande número de diferentes compostos contendo arsênio que são inibidores metabólicos efetivos. Envenenamento agudo acidental ou intencional necessita de altas doses e envolve arsenato (AsO_4^{2-}) e arsenito (AsO^{2-}). O arsenito, que é 10 vezes mais tóxico do que o arsenato, liga-se a grupos sulfidrila vizinhos, como aqueles no diidrolipoato e em pares de cisteína próximos (vicinais) encontrados nos complexos α-cetoácido-desidrogenase. O arsenato inibe pouco as reações enzimáticas envolvendo fosfato, incluindo a enzima gliceraldeído-3-P-desidrogenase na glicólise (ver Capítulo 22). Assim, ambas as produções aeróbica e anaeróbica de ATP podem ser inibidas. As baixas doses de compostos de arsênio encontrados em depósitos de água são uma preocupação principal da saúde pública, mas estão associadas mais ao risco aumentado de câncer do que à toxicidade direta.

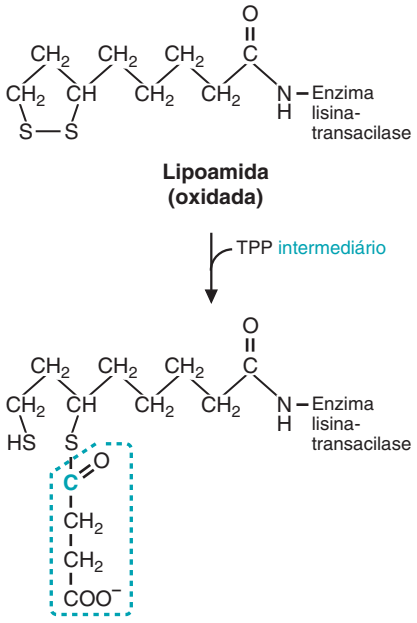


Figura 20.10 Função do lipoato. O lipoato é ligado ao grupo ε-amino da cadeia lateral da lisina da enzima transacilase (E_2). A forma oxidada do lipoato dissulfeto está reduzida quando ele recebe o grupo acila do tiamina-pirofosfato (TPP) ligado à E_2. O exemplo mostrado é para o complexo da α-cetoglutarato-desidrogenase.

R: Os valores de $E^{0\prime}$ foram calculados em um tubo de ensaio sob condições-padrão. Quando FAD está ligado a uma enzima, como ele está nos complexos α-cetoácido-desidrogenase, as cadeias laterais dos aminoácidos alteram seu valor de $E^{0\prime}$. Assim, a transferência de elétrons de um FAD(2H) ligado para o NAD^+ na diidrolipoil-desidrogenase realmente é energeticamente favorável.

na proteína (Figura 20.10). Na sua extremidade funcional, o lipoato contém um grupo dissulfeto que recebe elétrons quando se liga ao fragmento acila do α-cetoglutarato. Ele pode, então, agir como um braço longo e flexível de $–CH_2–$ da enzima que alcança a carboxilase para pegar o fragmento acila da tiamina e transferi-lo para o sítio ativo contendo CoASH ligada. Então ele se balança em direção à diidrolipoil-desidrogenase para transferir elétrons dos grupos lipoil-sulfidril para FAD.

3. FAD E DIIDROLIPOIL-DESIDROGENASE

O FAD na diidrolipoil-desidrogenase recebe elétrons a partir de grupos lipoil-sulfidrila e os transfere para o NAD^+ ligado. O FAD, então, recebe e transfere elétrons sem deixar seu sítio de ligação na enzima. A direção da reação é favorecida pelas interações de FAD com grupos da enzima, os quais alteram seu potencial de redução, e pela liberação geral de energia pela quebra e oxidação de α-cetoglutarato.

III. ENERGÉTICA DO CICLO DO TCA

Como todas as rotas metabólicas, o ciclo do TCA funciona com um $\Delta G^{0\prime}$ líquido negativo (Figura 20.11). A conversão de substratos a produtos é, portanto, energeticamente favorável. Contudo, algumas reações, como a reação da malato-desidrogenase, têm um valor positivo.

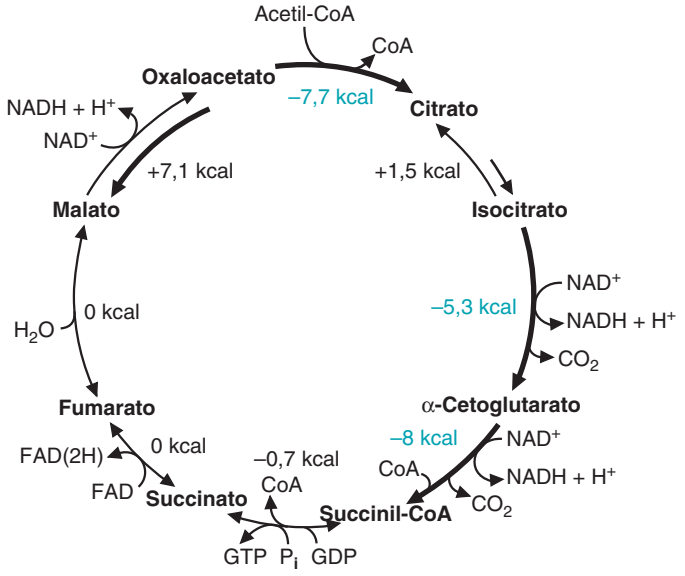


Figura 20.11 Valores aproximados de $\Delta G^{0\prime}$ para reações no ciclo do TCA favorecem a direção direta. As reações com grandes valores de $\Delta G^{0\prime}$ negativos são mostradas em azul. A energia livre-padrão ($\Delta G^{0\prime}$) se refere à variação de energia livre para a conversão de 1 mol de substrato em 1 mol de produto sob condições-padrão (ver Capítulo 19).

A. Eficiência Total do Ciclo do TCA

As reações do ciclo do TCA são extremamente eficientes em converter energia das ligações químicas do grupo acetila em outras formas. A quantidade total de energia disponível do grupo acetila é de cerca de 228 kcal/mol (a quantidade de energia que pode ser liberada pela combustão completa de 1 mol de grupos acetila em CO_2 em um calorímetro). Os produtos do ciclo do TCA (NADH, FAD(2H) e GTP) contêm cerca de 207 kcal (Tabela 20.1). Assim, as reações do ciclo do TCA são capazes de conservar cerca de 90% da energia disponível da oxidação de acetil-CoA.

Tabela 20.1 Limite de Energia do Ciclo do TCA

	kcal/mol
3 NADH: 3 x 53	= 159
1 FAD(2H)	= 41
1 GTP	= 7
Soma	= 207

O Capítulo 19 explica os valores apresentados para a energia liberada a partir de NADH e FAD(2H).

B. Reações Reversíveis Termodinâmica e Cineticamente e Reações Irreversíveis

Três reações no ciclo do TCA têm valores negativos grandes de $\Delta G^{0'}$, que favorecem muito a direção direta: as reações catalisadas por citrato-sintase, isocitrato-desidrogenase e α-cetoglutarato-desidrogenase (ver Figura 20.11). Dentro do ciclo do TCA, essas reações são fisiologicamente irreversíveis por duas razões: os produtos não aumentam as concentrações altas o suficiente sob condições fisiológicas para suplantar os grandes valores negativos de $\Delta G^{0'}$, e as enzimas envolvidas catalisam a reação inversa muito lentamente. Essas reações fazem a principal contribuição para o valor negativo geral de $\Delta G^{0'}$ para o ciclo do TCA e mantêm ele avançando em direção direta.

Em contraste a essas reações irreversíveis, as reações catalisadas por aconitase e malato-desidrogenase têm um $\Delta G^{0'}$ positivo para a direção direta e são termodinâmica e cineticamente reversíveis. Devido ao fato de a aconitase ser rápida em ambas as direções, os valores de equilíbrio para a razão da concentração de produtos e substratos são mantidos, e a concentração do citrato é cerca de 20 vezes a do isocitrato. O acúmulo de citrato em vez de isocitrato facilita o transporte de excesso de citrato para o citosol, onde ele pode fornecer uma fonte de acetil-CoA para as rotas como a síntese de ácidos graxos e colesterol. Ele também permite ao citrato servir como um inibidor da citrato-sintase quando o fluxo através da isocitrato-desidrogenase está diminuído. Da mesma forma, a constante de equilíbrio da reação da malato-desidrogenase favorece o acúmulo de malato em relação a oxaloacetato, resultando em baixa concentração de oxaloacetato, que é influenciada pela razão $NADH/NAD^+$. Assim, há um fluxo total de oxaloacetato em direção a malato no fígado durante o jejum (devido à oxidação de ácidos graxos, a qual aumenta a razão $NADH/NAD^+$), e malato pode ser transportado para fora da mitocôndria para fornecer um substrato para a gliconeogênese.

IV. REGULAÇÃO DO CICLO DO TCA

A oxidação de acetil-CoA no ciclo do TCA e a conservação dessa energia como NADH e FAD(2H) são essenciais para a produção de ATP em quase todos os tecidos no corpo. Apesar das alterações no fornecimento de substratos energéticos, no tipo de substratos energéticos no sangue ou na velocidade de utilização de ATP, as células mantêm homeostasia do ATP (um nível constante de ATP). A velocidade do ciclo do TCA, como a das rotas de oxidação de substrato energético, é regulada principalmente para corresponder à velocidade da cadeia de transporte de elétrons, a qual é regulada pela razão ATP/ADP e pela velocidade de utilização de ATP (ver Capítulo 21). Os principais sítios de regulação são mostrados na Figura 20.12.

Dois mensageiros principais alimentam o ciclo do TCA com informação sobre a utilização de ATP: (a) o estado de fosforilação de ATP, como refletido nos níveis de ATP e ADP, (b) o estado de redução de NAD^+, como refletido na razão $NADH/NAD^+$. Dentro da célula, mesmo dentro da mitocôndria, o fundo comum total do nucleotídeo adenina (AMP, ADP, mais ATP) e o *pool* de NAD (NAD^+ mais NADH) são relativamente constantes. Assim, uma velocidade aumentada da utilização de ATP resulta em uma concentração diminuída de ATP e aumentada de ADP. Da mesma forma, a



A variação de energia livre-padrão total para o ciclo do TCA, $\Delta G^{0'}$, pode ser calculada a partir da soma dos valores de $\Delta G^{0'}$ para as reações individuais. O $\Delta G^{0'}$, -13 kcal, é a quantidade de energia perdida como calor. Ela pode ser considerada a quantidade de energia gasta para garantir que a oxidação do grupo acetila a CO_2 seja completada. Esse valor é muito pequeno. Contudo, a oxidação de NADH e FAD(2H) na cadeia de transporte de elétrons auxilia a tornar a oxidação de acetila energeticamente mais favorável para impulsionar as reações do ciclo do TCA.



Otto Shape teve dificuldade para perder peso, pois a utilização de substrato energético humano é eficiente demais. Seus ácidos graxos do tecido adiposo estão sendo convertidos a acetil-CoA, a qual está sendo oxidada no ciclo do TCA, produzindo, assim, NADH e FAD(2H). A energia nesses compostos é utilizada para a síntese de ATP a partir da fosforilação oxidativa. Se a utilização de substrato energético fosse menos eficiente e sua liberação de ATP fosse mais baixa, ele teria de oxidar quantidades muito maiores de gordura para conseguir o ATP que necessita para se exercitar.



Quando **Otto Shape** se exercita, sua miosina-ATPase hidrolisa ATP para fornecer a energia para o movimento das miofibrilas. A diminuição de ATP e o aumento de ADP estimulam a cadeia de transporte de elétrons a oxidar mais NADH e FAD(2H). O ciclo do TCA é estimulado a fornecer mais NADH e FAD(2H) para a cadeia de transporte de elétrons. A ativação do ciclo do TCA ocorre por uma diminuição da razão $NADH/NAD^+$, um aumento na concentração de ADP e um aumento de Ca^{2+}. Embora a regulação da transcrição de genes para as enzimas do ciclo do TCA seja lenta demais para responder a alterações na demanda de ATP durante o exercício, o número e o tamanho das mitocôndrias aumenta durante o treinamento. Assim, Otto Shape está aumentando sua capacidade para a oxidação de substrato energético à medida que treina.

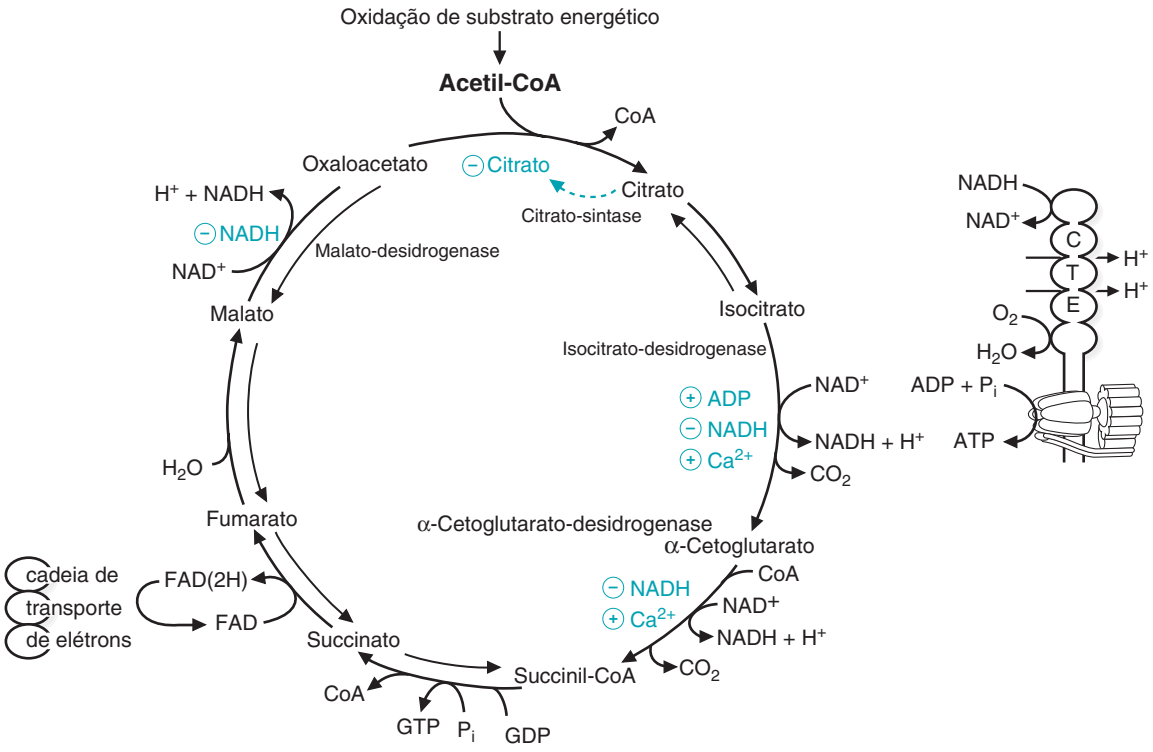


Figura 20.12 Principais interações regulatórias no ciclo do TCA. A velocidade de hidrólise de ATP controla a velocidade de síntese de ATP, que controla a velocidade de oxidação de NADH na cadeia de transporte de elétrons (CTE). Todo o NADH e FAD(2H) produzido pelo ciclo doa elétrons para essa cadeia (mostrada à direita). Assim, a oxidação de acetil-CoA no ciclo do TCA só pode avançar com a mesma velocidade que os elétrons do NADH entram na cadeia de transporte de elétrons, a qual é controlada pelo conteúdo de ATP e ADP das células. As concentrações de ADP e NADH alimentam o ciclo do TCA com informação sobre a velocidade de fosforilação oxidativa. A isocitrato-desidrogenase (DH), a α-cetoglutarato-desidrogenase (DH) e a malato-desidrogenase (DH) são inibidas pela concentração aumentada de NADH. A razão NADH/NAD^+ altera a concentração de oxaloacetato. O citrato é um produto inibidor da citrato-sintase. O ADP é um inibidor alostérico da isocitrato-desidrogenase. Durante a contração muscular, concentrações aumentadas de Ca^{2+} ativam a isocitrato-desidrogenase e a α-cetoglutarato-desidrogenase (bem como a piruvato-desidrogenase).

oxidação aumentada de NADH a NAD^+ pela cadeia de transporte de elétrons aumenta a velocidade das rotas produzindo NADH. Sob condições fisiológicas normais, o ciclo do TCA e outras rotas oxidativas respondem tão rapidamente à demanda aumentada de ATP que as concentrações de ATP não se alteram de forma significativa.

Tabela 20.2 Generalizações sobre a Regulação de Rotas Metabólicas

1. A regulação corresponde à função. O tipo de regulação depende da função da rota. Isoenzimas tecido-específicas são enzimas regulatórias que possuem características necessárias para corresponderem de alguma forma a diferentes funções da rota em tecidos distintos.
2. A regulação de rotas metabólicas ocorre em etapas limitadoras de velocidade (as etapas mais lentas) da rota. Essas são reações nas quais uma pequena alteração na velocidade afetará o fluxo através de toda a rota.
3. A regulação em geral ocorre na primeira etapa de uma rota ou em pontos de ramificação metabólica. Em células humanas, a maioria das rotas é interconectada com outras rotas e tem enzimas regulatórias para cada ramificação.
4. As enzimas regulatórias com freqüência catalisam reações fisiologicamente irreversíveis. Essas também são as etapas que diferem nas rotas de biossíntese e de degradação.
5. Muitas rotas têm regulação por "retroalimentação", isto é, o produto final da rota controla a velocidade de sua própria síntese. A regulação por retroalimentação pode envolver a inibição de um evento anterior na rota (retroalimentação de inibição) ou a regulação da transcrição gênica.
6. As células humanas utilizam compartimentalização para controlar o acesso do substrato e dos ativadores ou inibidores a enzimas diferentes.
7. A regulação hormonal integra respostas nas rotas que requerem mais de um tecido. Os hormônios em geral regulam o metabolismo de substrato energético por:
   a. Alteração no estado de fosforilação de enzimas.
   b. Alteração da quantidade de enzimas presentes pela alteração de sua velocidade de síntese (com freqüência indução ou repressão da síntese de mRNA) ou degradação.
   c. Alteração da concentração de um ativador ou inibidor.

A. Regulação da Citrato-Sintase

Os princípios de regulação de rotas estão revisados na Tabela 20.2. Em rotas metabólicas sujeitas à regulação por retroalimentação, a primeira etapa da rota deve ser regulada de tal modo que os precursores fluam para rotas alternativas se o produto não é necessário. A citrato-sintase, a qual é a primeira enzima do ciclo do TCA, é uma enzima simples que não tem reguladores alostéricos. Sua velocidade é controlada principalmente pela concentração de oxaloacetato, seu substrato, e pela concentração de citrato, um produto inibidor, competitivo com oxaloacetato (ver Figura 20.12). O equilíbrio malato-oxaloacetato favorece o malato, de tal modo que a concentração de oxaloacetato é muito baixa dentro da mitocôndria e está abaixo do $K_{m,ap}$ (ver Capítulo 9, Seção I.A.4) da citrato-sintase. Quando a razão NADH/NAD^+ diminui, a razão de oxaloacetato a malato aumenta. Quando a isocitrato-desidrogenase é ativada, a concentração de citrato diminui, aliviando, assim, a inibição por produto da citrato-sintase. Dessa forma, tanto os níveis aumentados de oxaloacetato como os níveis diminuídos de citrato regulam a resposta da citrato-sintase a condições estabelecidas pela cadeia de transporte de elétrons e fosforilação oxidativa. No fígado, a razão NADH/NAD^+ auxilia a determinar se a acetil-CoA entra no ciclo do TCA ou vai para a rota alternativa para a síntese de corpos cetônicos.

B. Regulação Alostérica da Isocitrato-Desidrogenase

Outra generalização que pode ser feita sobre a regulação de rotas metabólicas é que ela ocorre na enzima que catalisa a etapa limitante de velocidade (mais lenta) em uma rota (ver Tabela 20.2). A isocitrato-desidrogenase é considerada uma das etapas limitantes da velocidade do ciclo do TCA e é alostericamente ativada por ADP e inibida por NADH (Figura 20.13). Na ausência de ADP, a enzima exibe cooperatividade positiva; quando o isocitrato se liga a uma subunidade, outras subunidades são convertidas para uma conformação ativa (ver Capítulo 9, Seção III.A sobre enzimas alostéricas). Na presença de ADP, todas as subunidades estão em sua conformação ativa, e o isocitrato se liga mais prontamente. Como consequência, o $K_{m.,ap}$ (o $S_{0,5}$) muda para um valor muito mais baixo. Assim, na concentração de isocitrato encontrada na matriz mitocondrial, uma pequena alteração na concentração de ADP pode produzir uma grande alteração na velocidade da reação da isocitrato-desidrogenase. Pequenas alterações na concentração do produto, NADH, e do co-substrato, NAD^+, também afetam a velocidade da enzima mais do que faria uma enzima não-alostérica.

C. Regulação da α-Cetoglutarato-Desidrogenase

O complexo da α-cetoglutarato-desidrogenase, embora não sendo uma enzima alostérica, é inibido por produto por NADH e succinil-CoA e também pode ser inibido por GTP (ver Figura 20.12). Assim, ambas α-cetoglutarato-desidrogenase e isocitrato-desidrogenase respondem diretamente a alterações nos níveis relativos de ADP e, assim, na velocidade na qual o NADH é oxidado pelo transporte de elétrons. Ambas as enzimas também são ativadas por Ca^{2+}. No músculo cardíaco em contração, e possivelmente em outros tecidos musculares, a liberação de Ca^{2+} a partir do retículo sarcoplasmático durante a contração muscular pode fornecer uma ativação adicional dessas enzimas quando o ATP está sendo rapidamente hidrolisado.

D. Regulação de Intermediários do Ciclo do TCA

A regulação do ciclo do TCA serve a duas funções: garantir que o NADH seja produzido rápido o suficiente para manter a homeostasia de ATP e regular a concentração de intermediários do ciclo do TCA. Por exemplo, no fígado, uma velocidade diminuída da isocitrato-desidrogenase aumenta a concentração de citrato, a qual estimula a passagem de citrato para o citosol. Diversas interações regulatórias ocorrem no ciclo do TCA, além daquelas mencionadas anteriormente, que controlam os níveis de intermediários do TCA e seu fluxo para as rotas adjacentes ao ciclo do TCA.

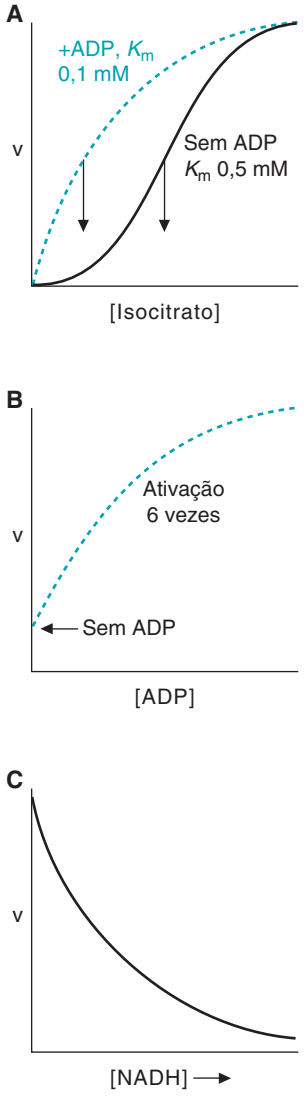


Figura 20.13 Regulação alostérica da isocitrato-desidrogenase (ICDH). A isocitrato-desidrogenase tem oito subunidades e dois sítios ativos. Isocitrato, NAD^+ e NADH se ligam no sítio ativo; ADP e Ca^{2+} são ativadores e se ligam a sítios alostéricos separados. **A**. Um gráfico de velocidade *versus* concentração de isocitrato mostra cooperatividade positiva (curva sigmóide) na ausência de ADP. O ativador alostérico ADP altera a curva para uma mais próxima a uma hipérbole e diminui o K_m ($S_{0,5}$) para o isocitrato. **B**. A ativação alostérica por ADP não é uma resposta do tipo "tudo ou nada". A extensão da ativação por ADP depende de sua concentração. **C**. Aumentos na concentração de produto, NADH, diminuem a velocidade da enzima por efeitos sobre a ativação alostérica.

O acetato (ácido acético) está presente na dieta e pode ser produzido a partir da oxidação de etanol. Os soldados romanos carregavam vinagre, uma forma diluída de ácido acético. A acidez do vinagre o tornava uma fonte relativamente segura de água potável, pois muitos tipos de bactérias patogênicas não crescem bem em soluções ácidas. O acetato, o qual está ativado em acetil-CoA, fornecia um excelente substrato energético para o exercício muscular.

V. PRECURSORES DE ACETIL-COA

Compostos entram no ciclo do TCA como acetil-CoA ou como um intermediário que pode ser convertido a malato ou oxaloacetato. Os compostos que entram como acetil-CoA são oxidados a CO_2. Os compostos que entram no ciclo do TCA como intermediários repõem os que foram utilizados nas rotas de biossíntese, como a gliconeogênese ou a síntese de heme, mas não podem ser completamente oxidados a CO_2.

A. Fontes de Acetil-CoA

A acetil-CoA serve como ponto comum de convergência para as principais rotas de oxidação de substrato energético. Ela em geral é produzida a partir da β-oxidação de ácidos graxos e degradação de corpos cetônicos (Figura 20.14). Ela também é formada a partir de acetato, o qual pode se originar da dieta ou da oxidação do etanol. A glicose e outros carboidratos entram na glicólise, uma rota comum a todas as células, e são oxidados a piruvato. Os aminoácidos alanina e serina também são convertidos a piruvato. O piruvato é oxidado a acetil-CoA pelo complexo piruvato-desidrogenase. Diversos aminoácidos, como leucina e isoleucina, também são oxidados a acetil-CoA. Assim, a oxidação final de acetil-CoA a CO_2 no ciclo do TCA é a última etapa em todas as principais rotas de oxidação de substrato energético.

B. Complexo Piruvato-Desidrogenase

O complexo piruvato-desidrogenase (CPD) oxida piruvato a acetil-CoA, conectando, assim, a glicólise e o ciclo do TCA. No cérebro, que é dependente da oxidação de glicose a CO_2 para corresponder às suas necessidades de ATP, a regulação do CPD é uma questão de vida ou morte.

1. ESTRUTURA DO CPD

O CPD pertence à família da α-cetoácido-desidrogenase e, assim, compartilha características estruturais e catalíticas com o complexo α-cetoglutarato-desidrogenase e com o complexo α-cetoácido-desidrogenase de cadeia ramificada (Figura 20.15). Ele contém os mesmos três tipos básicos de subunidades catalíticas: (1) subunidades de piruvato-descarboxilase que se ligam ao tiamina-pirofosfato (E_1); (2) subunidades transacetilase que se ligam ao lipoato (E_2), e (3) subunidades diidrolipoil-desidrogenase que se ligam

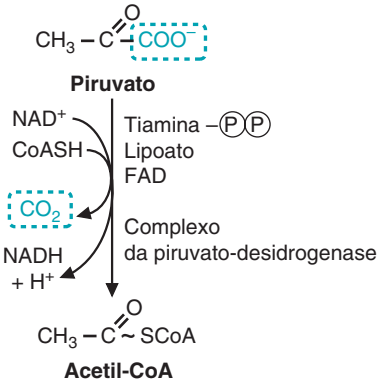


Figura 20.15 O complexo piruvato-desidrogenase (CPD) catalisa a oxidação de α-cetoácido em acetil-CoA.

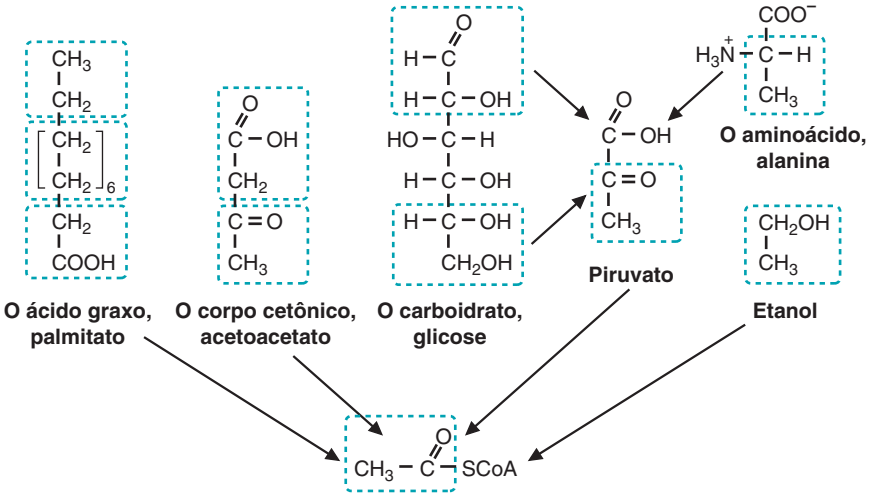


Figura 20.14 Origem do grupo acetila a partir de vários substratos energéticos. A acetil-CoA é derivada da oxidação de substratos energéticos. Os ácidos graxos, os corpos cetônicos, a glicose, o piruvato, o aminoácido alanina e o etanol, convertidos no grupo acetila da acetil-CoA, são mostrados em azul.

ao FAD (E_3) (ver Figura 20.9). Embora as enzimas E_1 e E_2 no CPD sejam relativamente específicas para o piruvato, a mesma diidrolipoil-desidrogenase participa em todos os complexos α-cetoácido-desidrogenase.

Além desses três tipos de subunidades, o complexo CPD contém uma subunidade catalítica adicional, a proteína X, a qual é uma transacetilase. Cada componente funcional do complexo CPD está presente em múltiplas cópias (p. ex., o CPD do coração de bovinos tem 30 subunidades de E_1, 60 subunidades de E_2 e 6 subunidades cada de E_3 e X). A enzima E_1 é um tetrâmero de dois tipos diferentes de subunidades, α e β.

2. REGULAÇÃO DO CPD

A atividade do CPD é controlada principalmente por meio de fosforilação pela piruvato-desidrogenase-quinase, a qual inibe a enzima, e desfosforilação pela piruvato-desidrogenase-fosfatase, a qual ativa enzima (Figura 20.16). A piruvato-desidrogenase-quinase e a piruvato-desidrogenase-fosfatase são subunidades regulatórias dentro do complexo CPD e atuam apenas sobre o complexo. A CPD-quinase transfere um fosfato do ATP para grupos hidroxila de serina específicos (ser-OH) na piruvato-descarboxilase (E_1). A CPD-fosfatase remove esses grupos fosfato por hidrólise. A fosforilação de apenas uma serina da subunidade α da CPD E_1 pode diminuir sua atividade em mais de 99%. A CPD-quinase está presente em complexos com isoenzimas tecido-específicas que variam em suas propriedades regulatórias.

A CPD-quinase é, ela própria, inibida por ADP e piruvato. Assim, quando a utilização rápida de ATP resulta em um aumento de ADP, ou quando a ativação da glicólise aumenta os níveis de piruvato, a CPD-quinase é inibida, e o CPD permanece em uma forma ativa, não-fosforilada. A CPD-fosfatase necessita de Ca^{2+} para a atividade total. No coração, Ca^{2+} intramitocondrial aumentado durante a contração ativa a fosfatase, aumentando, assim, a quantidade de CPD ativo, não-fosforilado.

O CPD também é regulado pela inibição por seus produtos acetil-CoA e NADH. Essa inibição é mais forte do que a inibição por produto regular, pois a sua ligação a

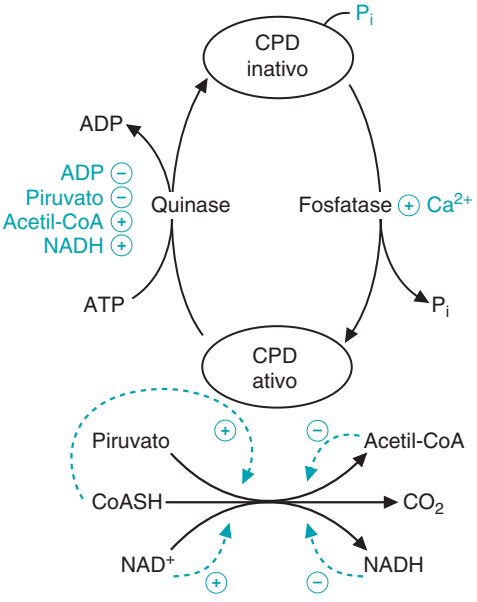


Figura 20.16 Regulação do complexo piruvato-desidrogenase (CPD). A CPD-quinase, uma subunidade da enzima, fosforila CPD em um resíduo específico de serina, convertendo, assim, o CPD em uma forma inativa. A quinase é inibida por ADP e piruvato. A CPD-fosfatase, outra subunidade da enzima, remove o fosfato, ativando, assim, o CPD. A fosfatase é ativada por Ca^{2+}. Quando os substratos, piruvato e CoASH, estão ligados ao CPD, a atividade de quinase é estimulada, e a enzima é fosforilada em sua forma ativa. A E_1 e a quinase existem como isoenzimas tecido-específicas com especificidades teciduais sobrepostas e algumas propriedades regulatórias diferentes.

As deficiências do complexo piruvato-desidrogenase (CPD) estão entre as doenças hereditárias mais comuns levando à lactacidemia e, como a deficiência de piruvato-carboxilase, são agrupadas na categoria de doença de Leigh. Em sua forma grave, a deficiência do CPD se apresenta com acidose láctica devastadora no período neonatal. Em uma segunda forma de apresentação, a lactacidemia é moderada, mas há um retardo psicomotor profundo com o avançar da idade. Em muitos casos, lesão concomitante do tronco cerebral e gânglios da base levam à morte na infância. Os sintomas neurológicos surgem porque o cérebro tem uma habilidade muito limitada para utilizar ácidos graxos como um substrato energético e é, portanto, dependente do metabolismo de glicose para seu suprimento de energia.

Os defeitos genéticos mais comuns do CPD são no gene para a subunidade α de E_1. O gene α de E_1 é ligado ao X. Devido à sua importância no metabolismo do sistema nervoso central, a deficiência de piruvato-desidrogenase é um problema em homens e mulheres, mesmo se a mulher é uma portadora. Por essa razão, ela é classificada como um distúrbio dominante ligado ao X.

CPD estimula sua fosforilação para a forma inativa. Os substratos de enzimas, CoASH e NAD^+, antagonizam essa inibição por produto. Assim, quando um amplo suprimento de acetil-CoA para o ciclo do TCA já está disponível a partir da oxidação de ácidos graxos, acetil-CoA e NADH se desenvolvem e diminuem bastante sua própria síntese pelo CPD.

O CPD pode ser rapidamente ativado por um mecanismo envolvendo insulina, a qual tem um papel importante em adipócitos. Em muitos tecidos, a insulina pode, lentamente ao longo do tempo, aumentar a quantidade do complexo piruvato-desidrogenase presente.

A velocidade de outras rotas de oxidação de substrato energético que alimentam o ciclo do TCA também é aumentada quando a utilização de ATP aumenta. Insulina e outros hormônios e dieta controlam a disponibilidade de substratos energéticos para essas rotas oxidativas.

VI. OS INTERMEDIÁRIOS DO CICLO DO TCA E AS REAÇÕES ANAPLERÓTICAS

A. Intermediários do Ciclo do TCA São Precursores para Rotas de Biossíntese

Os intermediários do ciclo do TCA servem como precursores para uma variedade de rotas diferentes presentes em tipos celulares distintos (Figura 20.17). Isso é particularmente importante no papel metabólico central do fígado. O ciclo do TCA no fígado com freqüência é chamado de "ciclo aberto", pois tem uma grande entrada de intermediários. Após uma refeição rica em carboidratos, a entrada de citrato e a quebra a acetil-CoA fornecem unidades acetil para a síntese citosólica de ácidos graxos. Durante o jejum, os precursores gliconeogênicos são convertidos a malato, o qual deixa a mitocôndria para a gliconeogênese citosólica. O fígado também utiliza os intermediários do ciclo do TCA para sintetizar o esqueleto de carbono de aminoácidos. A succinil-CoA pode ser removida do ciclo do TCA para formar heme na células do fígado e da medula óssea. No cérebro, o α-cetoglutarato é convertido a glutamato e a ácido γ-aminobutírico (GABA), um neurotransmissor. No músculo esquelético, o α-cetoglutarato é convertido em glutamina, a qual é transportada através do sangue para outros tecidos.



Piruvato, citrato, α-cetoglutarato e malato, ADP, ATP e fosfato (bem como muitos outros compostos) têm transportadores específicos na membrana interna da mitocôndria que transportam compostos entre a matriz mitocondrial e o citosol em troca de compostos de carga similar. Em contraste, CoASH, acetil-CoA, outros derivados CoA, NAD^+ e NADH e oxaloacetato não são transportados em uma velocidade metabolicamente significante. Para obter acetil-CoA citosólica, muitas células transportam citrato para o citosol, onde ele é quebrado a acetil-CoA e oxaloacetato pela citrato-liase.

B. Reações Anapleróticas

A remoção de qualquer um dos intermediários do ciclo do TCA remove os quatro carbonos que são utilizados para regenerar oxaloacetato durante cada volta do ciclo. Com

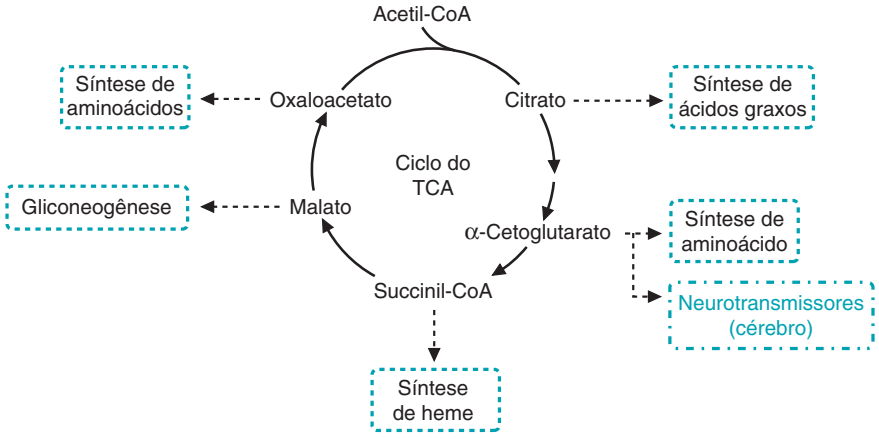


Figura 20.17 Entrada de intermediários no ciclo do TCA. No fígado, os intermediários do ciclo do TCA são continuamente retirados para as rotas de síntese de ácidos graxos, síntese de aminoácido, gliconeogênese e síntese de heme. No cérebro, o α-cetoglutarato é convertido a glutamato e GABA, ambos neurotransmissores.

a depleção de oxaloacetato, é impossível continuar a oxidar acetil-CoA. Para permitir que o ciclo do TCA continue ocorrendo, as células devem fornecer intermediários de quatro carbonos suficientes a partir da degradação de carboidratos ou de certos aminoácidos para compensar a taxa de remoção. Rotas ou reações que repõem os intermediários do ciclo do TCA são referidas como anapleróticas ("de preenchimento").

1. PIRUVATO-CARBOXILASE É UMA ENZIMA ANAPLERÓTICA PRINCIPAL

A piruvato-carboxilase é uma das principais enzimas anapleróticas na célula. Ela catalisa a adição de CO_2 ao piruvato para formar oxaloacetato (Figura 20.18). Como a maioria das carboxilases, a piruvato-carboxilase contém biotina, a qual forma um intermediário covalente com CO_2 em uma reação que requer ATP e Mg^{2+} (ver Figura 8.12, Capítulo 8). O CO_2 ativado é, então, transferido para o piruvato para formar o grupo carboxila do oxaloacetato.

A piruvato-carboxilase é encontrada em muitos tecidos, como fígado, cérebro, adipócitos e fibroblastos, onde sua função é anaplerótica. Sua concentração é alta no fígado e no córtex renal, onde há uma remoção contínua de oxaloacetato e malato do ciclo do TCA para entrar na rota gliconeogênica.

A piruvato-carboxilase é ativada por acetil-CoA e inibida por altas concentrações de muitos derivados de acil-CoA. À medida que a concentração de oxaloacetato é depletada pela saída de intermediários do ciclo do TCA, a velocidade da reação da citrato-sintase diminui, e a concentração de acetil-CoA se eleva. A acetil-CoA ativa, então, a piruvato-carboxilase para sintetizar mais oxaloacetato.

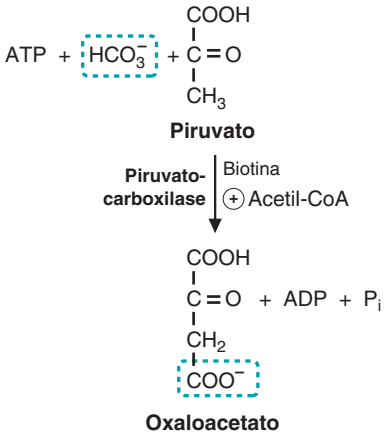


Figura 20.18 Reação da piruvato-carboxilase. A piruvato-carboxilase adiciona um grupo carboxila do bicarbonato (o qual está em equilíbrio com o CO_2) ao piruvato para formar oxaloacetato. A biotina é utilizada para ativar e transferir o CO_2. A energia para formar o complexo covalente biotina-CO_2 é fornecida pela ligação de fosfato rica em energia do ATP, o qual é quebrado na reação. A enzima é ativada por acetil-CoA.

2. DEGRADAÇÃO DE AMINOÁCIDOS FORMA INTERMEDIÁRIOS DO CICLO DO TCA

As rotas para a oxidação de muitos aminoácidos convertem seus esqueletos de carbono em intermediários de 5 e 4 carbonos do ciclo do TCA que podem regenerar oxaloacetato (Figura 20.19). Os carbonos da alanina e serina podem entrar através da piruvato-carboxilase (ver Figura 20.19, círculo 1). Em todos os tecidos com mitocôndria (supreendentemente, exceto para o fígado), a oxidação de dois aminoácidos de cadeia lateral ramificada, isoleucina e valina, a succinil-CoA forma uma rota anaplerótica importante (ver Figura 20.19, círculo 3). No fígado, outros componentes formam propionil-CoA (p. ex., metionina, timina e ácidos graxos de cadeia ímpar ou ramificados) e também entram no ciclo do TCA como succinil-CoA. Na maioria dos tecidos, a glutamina é captada do sangue, convertida a glutamato e, então, oxidada a α-cetoglutarato, formando outra rota anaplerótica importante (ver Figura 20.19, círculo 2). Contudo, os intermediários pela oxidação de ácidos graxos de cadeia par ou pela oxidação de corpos cetônicos não podem fornecer intermediários para o ciclo do TCA, pois formam apenas acetil-CoA. No ciclo do TCA, dois carbonos são perdidos do citrato antes que succinil-CoA seja formada, e, portanto, não há conversão líquida de carbono acetila em oxaloacetato.

A biotina é uma vitamina. Uma deficiência de biotina é muito rara em humanos, pois ela é necessária em quantidades muito pequenas e é sintetizada por bactérias intestinais. Contudo, um caso interessante de deficiência de biotina ocorreu em um homem ingerindo uma dieta composta principalmente de amendoim e clara de ovo crua. A clara de ovo contém uma proteína de ligação da biotina, avidina. Uma vez que ele não desnaturava a avidina pelo cozimento da clara do ovo, ele exauria a biotina da sua dieta.

A deficiência de piruvato-carboxilase é uma das doenças genéticas agrupadas sob as manifestações clínicas da doença de Leigh (encefalopatia necrotizante subaguda). Na forma leve, o paciente se apresenta cedo na vida com retardo no desenvolvimento e acidemia láctica leve a moderada. Os pacientes que sobrevivem apresentam retardo mental grave, e há uma perda de neurônios cerebrais. No cérebro, a piruvato-carboxilase está presente nos astrócitos, os quais utilizam intermediários do ciclo do TCA para sintetizar glutamina. Essa rota é essencial para a sobrevivência neuronal. A principal causa de acidemia láctica é que as células dependentes de piruvato-carboxilase para um fornecimento anaplerótico de oxaloacetato não podem oxidar oxaloacetato no ciclo do TCA (devido a baixos níveis de oxaloacetato), e o fígado não pode converter piruvato a glicose (porque a reação da piruvato-carboxilase é necessária para que essa rota ocorra); assim, o excesso de piruvato é convertido a lactato.

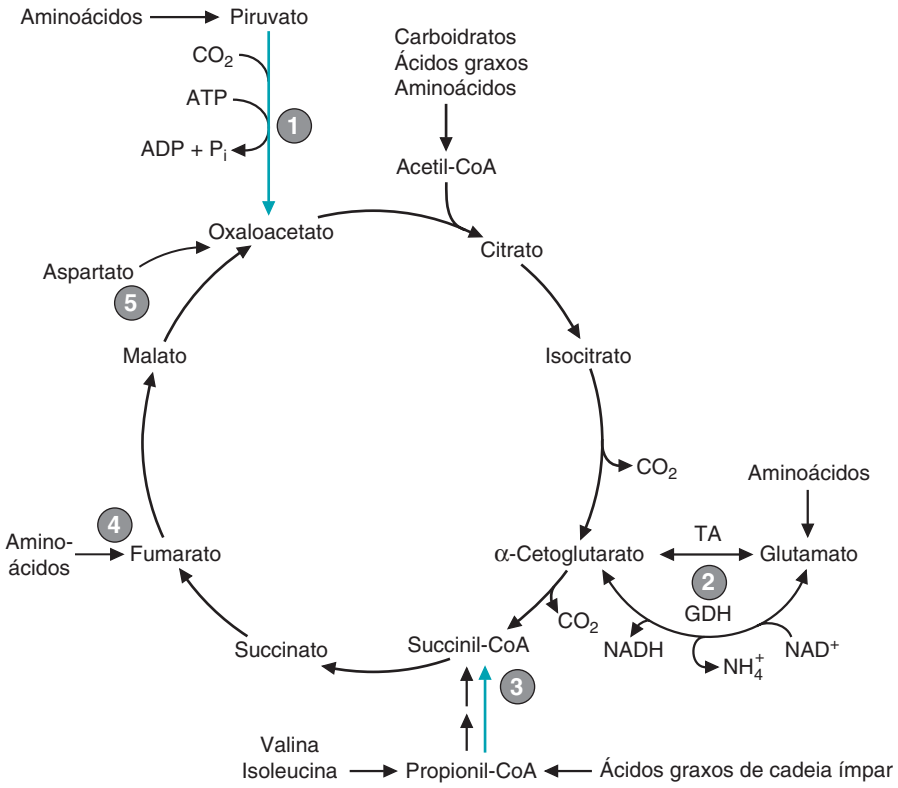


Figura 20.19 Principais rotas anapleróticas do ciclo do TCA. 1 e 3 (flechas azuis) são as duas principais rotas anabólicas. (1) Piruvato carboxilase. (2) O glutamato é reversivelmente convertido a α-cetoglutarato por transaminases (TA) e glutamato-desidrogenase (GDH) em muitos tecidos. (3) Os esqueletos de carbono da valina e da isoleucina, uma unidade de três carbonos da oxidação de ácidos graxos de cadeia ímpar e diversos outros compostos entram no ciclo do TCA no nível da succinil-CoA. Outros aminoácidos também são degradados a fumarato (4) e oxaloacetato (5), principalmente no fígado.

No músculo esquelético e em outros tecidos, o ATP é produzido por glicólise anaeróbica quando a velocidade da respiração aeróbica é inadequada para corresponder à velocidade de utilização de ATP. Sob essas circunstâncias, a velocidade de produção de piruvato excede a capacidade da célula de oxidar NADH na cadeia de transporte de elétrons e, assim, de oxidar piruvato no ciclo do TCA. O excesso de piruvato é reduzido a lactato. Devido ao fato de o lactato ser um ácido, seu acúmulo afeta o músculo e pode causar dor e edema.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Otto Shape. Otto Shape tem vivenciado os benefícios do condicionamento físico. Uma variedade de adaptações funcionais no coração, nos pulmões, no sistema vascular e no músculo esquelético ocorrem em resposta à prática de exercício regular.

A eficiência de bombeamento do coração aumenta, permitindo um débito cardíaco maior com menos batimentos por minuto e com uma taxa de utilização de oxigênio menor. O pulmão extrai uma porcentagem maior de oxigênio do ar inspirado, permitindo menos respirações por unidade de atividade. A capacidade de vasodilatação do leito arterial no músculo esquelético aumenta, promovendo maior oxigenação e substratos energéticos para o músculo em exercício. Ao mesmo tempo, a capacidade de drenagem venosa no músculo está aumentada, garantindo que o ácido láctico não se acumulará nos tecidos em contração. Essas alterações fisiológicas adaptativas são acompanhadas por um aumento no número, no tamanho e na atividade das mitocôndrias no músculo esquelético, junto com o aumento do conteúdo de enzimas do ciclo do TCA e de componentes da cadeia de transporte de elétrons. Essas alterações aumentam bastante a capacidade oxidativa do músculo em exercício.

Ann O′ Rexia. Ann O'Rexia tem sentido fadiga por diversas razões. Ela tem uma anemia por deficiência de ferro, a qual afeta a hemoglobina que contém ferro em suas células sangüíneas vermelhas, ferro na aconitase e succinil-

desidrogenase, bem como ferro nas proteínas heme da cadeia de transporte de elétrons. Ela também pode sofrer as conseqüências de deficiência de múltiplas vitaminas, incluindo tiamina, riboflavina e niacina (a vitamina precursora de NAD^+). É menos provável, mas possível, que ela também tenha deficiência subclínica de pantotenato (o precursor de CoA) ou biotina. Devido a isso, os músculos de Ann devem utilizar glicólise como fonte primária de energia, o que resulta em dores musculares.

A deficiência de riboflavina em geral ocorre em conjunto com deficiências de outras vitaminas hidrossolúveis. Os sintomas clássicos de deficiência são queilose (inflamação dos cantos da boca), glossite (língua de cor roxa) e dermatite seborréica ("gordurosa"). Ela também é caracterizada por dor de garganta, edema da faringe e das membranas mucosas orais, e anemia normocrômica normocítica associada à citoplasia pura das células vermelhas da medula óssea. Contudo, não se sabe se a glossite e a dermatite realmente ocorrem devido à deficiência de múltiplas vitaminas.

Al Martini. Al Martini tem pela segunda vez uma forma de insuficiência cardíaca de alto débito relacionada ao álcool referida algumas vezes como beribéri "molhado" ou como "beribéri cardíaco" (ver Capítulo 9). O termo "molhado" se refere à retenção de líquido que eventualmente pode ocorrer quando a contratilidade ventricular esquerda está tão comprometida que o débito cardíaco, embora de início relativamente "alto", não corresponde às necessidades do leito vascular periférico, o qual dilatou em resposta à deficiência de tiamina.

A cardiomiopatia é diretamente relacionada à redução na função bioquímica normal da vitamina tiamina no músculo cardíaco. A inibição dos complexos de α-cetodesidrogenase ácida causa acúmulo de α-cetoácidos no músculo cardíaco (e no sangue), resultando em uma cardiomiopatia quimicamente induzida. A diminuição de duas outras funções da tiamina também podem contribuir para a cardiomiopatia. O tiamina-pirofosfato serve como a coenzima para a transcetolase na rota do pentose-fosfato, e pentose-fosfatos se acumulam na deficiência de tiamina. Além disso, o tiamina-trifosfato (uma forma diferente de coenzima) pode funcionar em canais de condução de Na^+.

O tratamento imediato com grandes doses (50 a 100 mg) de tiamina intravenosa pode produzir uma diminuição considerável do débito cardíaco e um aumento na resistência vascular periférica em até 30 minutos após a injeção inicial. A suplementação dietética de tiamina não é tão efetiva, pois o consumo de etanol interfere na absorção de aminas. Devido ao fato de o etanol também afetar a absorção da maioria das vitaminas hidrossolúveis, ou sua conversão para a forma de coenzima, **Al Martini** também recebeu uma injeção contendo um suplemento multivitamínico.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Compartimentalização das Enzimas Mitocondriais. A mitocôndria forma um compartimento estrutural, funcional e regulatório dentro da célula. A membrana interna da mitocôndria é impermeável a ânions e cátions, e compostos só podem atravessar a membrana através de proteínas de transporte. As enzimas do ciclo do TCA, portanto, têm mais acesso direto a produtos da reação prévia na rota do que teriam se esses produtos fossem capazes de se difundir através da célula. A formação de complexo entre enzimas também restringe o acesso a intermediários da rota. A malato-desidrogenase e a citrato-sintase podem formar um complexo frouxamente associado. Os complexos multienzimáticos piruvato-desidrogenase e α-cetoglutarato-desidrogenase são exemplos de direcionamento de substrato por enzimas fortemente ligadas; apenas a enzima transacilase tem acesso ao intermediário ligado à tiamina da reação, e apenas a lipoamida-desidrogenase tem acesso ao ácido lipóico reduzido.

A compartimentalização tem um papel importante na regulação. A associação próxima entre a velocidade da cadeia de transporte de elétrons e a velocidade do ciclo do TCA é mantida por seu acesso mútuo ao mesmo fundo comum (*pool*) de NADH

A riboflavina tem uma ampla distribuição nos alimentos, e pequenas quantidades estão presentes como coenzimas na maioria das plantas e dos animais. Ovos, carnes magras, leite, brócolis, pães enriquecidos e cereais são fontes especialmente boas. Uma porção da necessidade humana de niacina pode ser fornecida pela síntese a partir de triptofano. Carne (especialmente carne vermelha), fígado, legumes, leite, ovos, alfafa, grãos cereais, leveduras e peixe são boas fontes de niacina e triptofano.

Sabe-se agora que o beribéri é causado por deficiência de tiamina. A ele foi atribuída a falta de um componente nitrogenado na alimentação por Takaki, um cirurgião japonês, em 1884. Em 1890, Eijkman, um médico holandês trabalhando em Java, observou que a polineurite associada ao beribéri poderia ser prevenida por casca de arroz que tinha sido removida durante o polimento. A tiamina está presente como parte da casca de grãos e é abundante em carne de porco e legumes. Em contraste, a maioria das vitaminas, leite e produtos lácteos, frutos do mar, frutas e vegetais NÃO são boas fontes de tiamina.

Tiamina
"Agora arroz polido não é bom",
Disse o holandês Eijkman.
Grãos integrais são muito melhores
Como fontes de tiaminas.
Por que beribéri é muito, muito
Duro em seus nervos, você vê.
Polineurite e um coração aumentado
Podem ambos acompanhar
Uma dieta muito ruim, uma dieta muito triste,
Uma dieta sem tiamina.
E aqueles que jantam apenas vinho
Ou consomem brandy, uísque ou gin
Podem nunca se recuperar
Se você não descobrir
Que eles não podem absorver tiamina.
Wernicke-Korsakoff descreveu os sinais
E a confusão nas mentes
Dos pacientes com essa deficiência.
Então, bons médicos lembrem-se, tentem recordar,
Antes de cobrar sua consulta,
De dar uma injeção IM ou IV,
Desta vitamina B.

— revisado por um autor anônimo

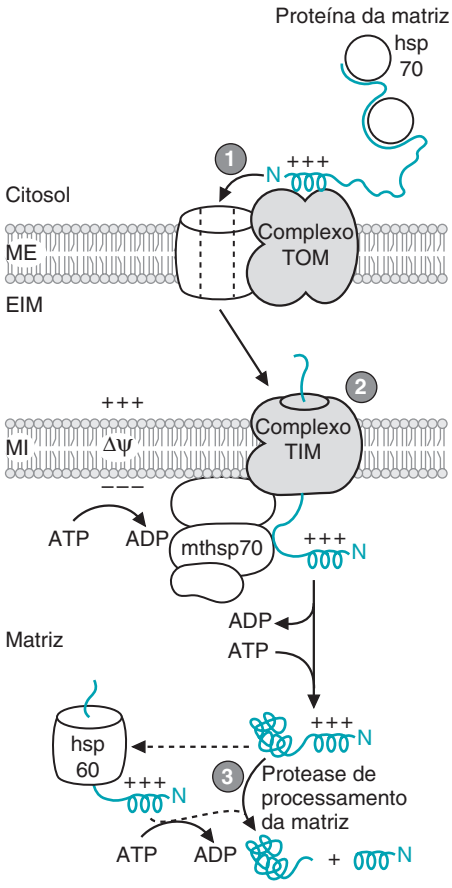


Figura 20.20 Modelo para a importação de proteínas codificadas nos núcleos para a matriz mitocondrial. A pré-proteína da matriz com sua seqüência N-terminal positivamente carregada é mostrada em azul. Abreviações: ME, membrana mitocondrial externa; EIM, espaço intermembrana; MI, membrana mitocondrial interna; TOM, translocases da membrana mitocondrial externa; TIM, translocases da membrana mitocondrial interna; mthsp70, proteína de choque térmico 70 da mitocôndria.

e NAD^+ na matriz mitocondrial. NAD^+, NADH, CoASH e derivados acil-CoA não têm proteínas de transporte e não podem atravessar a membrana mitocondrial. Assim, todas as desidrogenases competem pelas mesmas moléculas de NAD^+ e são inibidas quando o NADH se eleva. Da mesma forma, o acúmulo de derivados acil-CoA (p. ex., acetil-CoA) dentro da matriz mitocondrial afeta outras reações que utilizam CoA, por competição no sítio ativo ou por limitação da disponibilidade de CoASH.

Importação de Proteínas Codificadas no Núcleo. Todas as proteínas da matriz mitocondrial, como as enzimas do ciclo do TCA, são codificadas pelo genoma nuclear. Elas são importadas para a matriz mitocondrial como proteínas estendidas que são empurradas e puxadas através de canais das membranas interna e externa da mitocôndria (Figura 20.20). As proteínas destinadas para a matriz mitocondrial têm uma pré-seqüência sinalizadora no N-terminal de 20 aminoácidos que incluem vários resíduos de aminoácidos positivamente carregados. Elas são sintetizadas nos ribossomos livres do citosol e mantêm uma conformação estendida pela ligação com as chaperoninas hsp 70. Essa pré-seqüência se liga ao receptor em um complexo TOM (translocases da membrana externa, do inglês *translocases of the outer membrane*) (ver Figura 20.20, etapa 1). Os complexos TOM consistem em proteínas-canal, agrupamento de proteínas e receptor de proteínas com especificidades diferentes (p. ex., TOM20 liga a pré-seqüência da proteína da matriz). Os resíduos de aminoácidos negativamente carregados nos receptores e na abertura do canal auxiliam a translocação da proteína da matriz através do canal, primeiro a pré-seqüência.

A pré-proteína da matriz é translocada através da membrana interna por um complexo TIM (translocases da membrana interna, do inglês *translocases of the inner menbrane*) (ver Figura 20.20, etapa 2). A inserção da pré-proteína no canal TIM é conduzida pela diferença de potencial através da membrana, $\Delta\psi$. A proteína de choque térmico 70 mitocondrial (mthsp70, do inglês *mitochondrial heat shock protein 70*), a qual é ligada à parte da matriz do complexo TIM, liga a pré-proteína que chega e pode "deslocá-la" através da membrana. O ATP é necessário para a ligação de mthsp70 ao complexo TIM e novamente para a dissociação subseqüente da mthsp70 e da pré-proteína da matriz. Na matriz, a pré-proteína pode necessitar de outra proteína de choque térmico, hsp60, para o enovelamento apropriado. A etapa final no processo de importação é a quebra da seqüência sinalizadora por uma protease de processamento da matriz (ver Figura 20.20, etapa 3).

As proteínas da membrana interna da mitocôndria são importadas por um processo similar, utilizando complexos TOM e TIM contendo diferentes componentes de proteínas.

Leituras Sugeridas

Robinson, BH. Lactic acidemia: Disorders of pyruvate carboxylase and pyruvate dehydrogenase. In: Scriver CR, Beudet AL, Sly WS, Valle D, eds: The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. Vol. 1. 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:4451-4480.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 20

1. Qual das seguintes coenzimas é exclusiva de um complexo α-cetoglutarato desidrogenase?

   (A) NAD^+
   (B) FAD
   (C) GDP
   (D) H_2O
   (E) Ácido lipóico

2. Um paciente diagnosticado com deficiência de tiamina exibiu fadiga e cãibras musculares. As cãibras musculares foram relacionadas com o acúmulo de ácidos metabólicos. Qual dos seguintes ácidos metabólicos é mais provável de se acumular em uma deficiência de tiamina?

   (A) Ácido isocítrico
   (B) Ácido pirúvico

(C) Ácido succínico
(D) Ácido málico
(E) Ácido oxaloacético

3. A succinato-desidrogenase difere de todas as outras enzimas do ciclo do TCA, pois é a única enzima que tem qual das características a seguir?

(A) Ela está localizada na membrana interna da mitocôndria.
(B) Ela é inibida por NADH.
(C) Ela contém FAD ligado.
(D) Ela contém centros Fe-S.
(E) Ela é regulada por uma quinase.

4. Durante o exercício, a estimulação do ciclo do ácido tricarboxílico resulta principalmente em qual das seguintes alternativas?

(A) Ativação alostérica da isocitrato-desidrogenase por NADH aumentado.
(B) Ativação alostérica da fumarase por ADP aumentado.
(C) Uma diminuição rápida na concentração de intermediários de quatro carbonos.
(D) Inibição por produto da citrato-sintase.
(E) Estimulação do fluxo por diversas enzimas por uma razão $NADH/NAD^+$ diminuída.

5. A coenzima A é sintetizada a partir de qual das seguintes vitaminas?

(A) Niacina
(B) Riboflavina
(C) Vitamina A
(D) Pantotenato
(E) Vitamina C

21 Fosforilação Oxidativa e Função Mitocondrial



A maioria das células é dependente da fosforilação oxidativa para a homeostase de ATP. A habilidade de produzir ATP depende de O_2 e de uma membrana interna da mitocôndria intacta. Durante a privação de oxigênio por isquemia (um fluxo de sangue baixo), uma inabilidade de produzir energia a partir da cadeia de transporte de elétrons resulta em uma permeabilidade aumentada dessa membrana e edema mitocondrial. O edema mitocondrial é um elemento-chave na patogênese de lesão irreversível da célula levando à lise e à morte (necrose) celular.

A energia fornecida pela oxidação de substrato energético é convertida a ligações de fosfato ricas em energia do trifosfato de adenosina (ATP) pelo processo de ***fosforilação oxidativa****. A maioria da energia da oxidação de substratos energéticos no ciclo do TCA e em outras rotas é conservada na forma de coenzimas aceptoras de elétrons, NADH e FAD(2H). A* ***cadeia de transporte de elétrons*** *oxida* ***NADH*** *e* ***FAD(2H)*** *e doa elétrons para o O_2, o qual é reduzido a H_2O (Figura 21.1). A energia da redução de O_2 é utilizada para a fosforilação de difosfato de adenosina (ADP) a ATP pela* ***ATP-sintase (F_0F_1ATPase)****. A liberação total da fosforilação oxidativa é de aproximadamente 2,5 moles de ATP por mol de NADH oxidado ou 1,5 mol de ATP por mol de FAD(2H) oxidado.*

Modelo quimiosmótico da síntese de ATP*. O* ***modelo quimiosmótico*** *explica como a energia do transporte de elétrons para o O_2 é transformada em ligação rica em energia, anidridofosfórica, do ATP (ver Figura 21.1). Basicamente, a cadeia de transporte de elétrons contém três grandes* ***complexos de proteínas (I, III e IV)*** *integrais da membrana interna da mitocôndria. Quando elétrons passam através desses complexos em uma série de reações de oxirredução, prótons são transferidos da matriz mitocondrial para o lado citosólico da membrana interna da mitocôndria. O bombeamento de prótons produz um* ***gradiente eletroquímico*** *(Δp) através da membrana composto pelo potencial de membrana e pelo gradiente de prótons. A ATP-sintase contém um poro para prótons através da membrana interna da mitocôndria e uma "cabeça" que sobressai para a matriz. À medida que prótons são conduzidos*

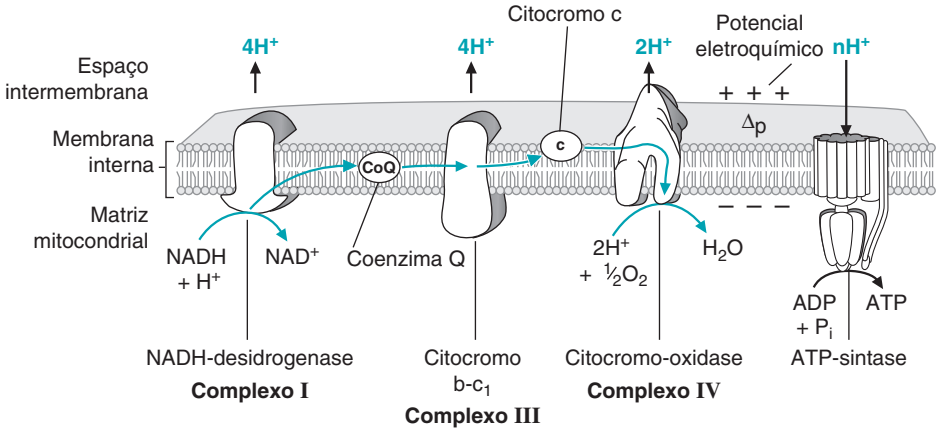


Figura 21.1 Fosforilação oxidativa. As flechas azuis mostram a rota de elétrons de NADH para o O_2. Quando elétrons passam através da cadeia, prótons são bombeados da matriz mitocondrial para o espaço intermembrana, estabelecendo, assim, um potencial eletroquímico, Δp, através da membrana interna da mitocôndria. As cargas positivas e negativas na membrana indicam o potencial de membrana ($\Delta\psi$). O Δp conduz prótons para a matriz através de um poro na ATP-sintase, a qual utiliza a energia para formar ATP a partir de ADP e P_i.

para a matriz através do poro, eles alteram a conformação da cabeça, a qual libera ATP de um sítio e catalisa a formação de ATP a partir de ADP e P_i em outro sítio.

***Deficiências do transporte de elétrons**. Nas células, a transferência completa de elétrons de NADH e FAD(2H) através da cadeia para o O_2 é necessária para a produção de ATP. A interrupção da transferência em qualquer um dos complexos pode ter conseqüências patológicas. Fadiga pode resultar de **anemia** por deficiência de ferro, a qual diminui **Fe** para os centros **Fe-S** e **citocromos**. **A citocromo c_1-oxidase**, a qual contém o **sítio de ligação do O_2**, é inibida por **cianeto**. O **DNA mitocondrial (mtDNA)**, o qual é herdado da mãe, codifica algumas das subunidades dos complexos da cadeia de transporte de elétrons e ATP-sintase. **As doença de Oxphos (fosforilação oxidativa)** são causadas por **mutações** no **DNA nuclear** ou no **mtDNA** que diminuem a capacidade mitocondrial de fosforilação oxidativa.*

***Regulação da fosforilação oxidativa**. A velocidade da cadeia de transporte de elétrons é **acoplada** à velocidade de síntese de ATP pelo gradiente eletroquímico transmembrana. Quando o ATP é utilizado por processos que requerem energia e os níveis de ADP se elevam, a entrada de prótons através do poro da ATP-sintase produz mais ATP, e a cadeia de transporte de elétrons responde para restaurar o Δp. No **desacoplamento**, os prótons retornam para a matriz por um mecanismo que os desvia do poro da ATP-sintase, e energia é liberada como calor. **Dissipação de prótons, desacopladores químicos** e **proteínas desacopladoras** reguladas aumentam a taxa metabólica humana e a produção de calor.*

Mitocôndria e morte celular**. Embora a fosforilação oxidativa seja um processo mitocondrial, a maioria da utilização de ATP ocorre fora da mitocôndria. O ATP sintetizado pela fosforilação oxidativa é ativamente transportado da matriz para o espaço intermembranas pela **adenina-nucleotídeo-translocase (ANT)**. **As porinas** formam **canais de ânions voltagem-dependentes (VDAC**, do inglês* voltage-dependent anion channels*) através da membrana externa da mitocôndria para a difusão de H_2O, metabólitos de ATP e outros íons. Sob certos tipos de estresse, ANT, VDAC e outras proteínas formam canais abertos não-específicos conhecidos como **poro de permeabilidade transitória mitocondrial.** Esse poro está associado a eventos que levam rapidamente à **morte celular necrótica.



SALA DE ESPERA



Cora Nari estava se recuperando sem intercorrência do infarto cardíaco ocorrido um mês antes (ver Capítulo 19), quando ganhou na loteria do estado da Georgia. Quando ela ouviu seu número sendo anunciado na televisão, sentiu dor em aperto no peito, ficou com falta de ar e desmaiou. Ela recuperou a consciência quando estava sendo levada para a emergência do hospital.

No exame inicial, sua pressão estava extremamente alta, e seu ritmo cardíaco era irregular. Os níveis séricos de CK-MB e TnI (troponina I) estavam elevados. Um eletrocardiograma mostrou evidência inequívoca de uma falta grave de oxigênio (isquemia) nos músculos das paredes anterior e lateral do coração. Medidas de suporte de vida, incluindo oxigênio por via nasal, foram iniciadas. A administração intravenosa de nitroprussiato, um agente vasodilatador, foi iniciada em um esforço para reduzir a hipertensão. Após a pressão sangüínea ter sido controlada, foi administrado via intravenosa um ativador do plasminogênio tecidual (TPA, do inglês *tissue plasminogen activator*) em uma tentativa de desfazer qualquer coágulo arterial nos vasos irrigando o miocárdio isquêmico (terapia trombolítica).



Cora Nari está tendo um segundo infarto do miocárdio. Isquemia (fluxo de sangue baixo) causou hipoxia (nível de oxigênio baixo) no músculo cardíaco, resultando em produção inadequada de ATP para a manutenção de um nível de Na^+ e Ca^{2+} intracelular baixo (ver Capítulo 19). Como conseqüência, as células começaram a edemaciar, e as proteínas citosólicas creatina-quinase (isoforma MB) e troponina (isoforma cardíaca) extravasaram para o sangue (Ver Ann Jeina, Capítulos 6 e 7).



Um exame da captação de ^{123}I realizado em **X. S. Teefore** confirmou seu hipertireoidismo como resultado de doença de Graves (ver Capítulo 19). A doença de Graves, também conhecida como bócio difuso tóxico, é uma doença genética auto-imune causada pela produção de imunoglobulinas humanas tireóide-estimulantes. Essas imunoglobulinas estimulam o aumento da glândula tireóide (bócio) e a secreção em excesso de hormônios tireóideos, T_3 e T_4. Como conseqüência, a intolerância ao calor e a sudorese do Sr. Teefore estavam ficando piores com o tempo.



Ivy Sharer, uma usuária de drogas intravenosas, pareceu responder bem ao regime de múltiplos fármacos para tratar tuberculose pulmonar e AIDS (ver Capítulos 11, 12, 15 e 16). Nas últimas seis semanas, contudo, ela desenvolveu fraqueza nas extremidades a ponto de ter dificuldade para carregar objetos leves ou caminhar. O exame físico indica uma fraqueza proximal e distal difusa dos músculos associada à atrofia muscular. O nível sangüíneo de enzimas musculares, creatina-fosfoquinase (CK) e aldolase, estão normais. Um eletromiograma (EMG) revelou uma redução generalizada nos potenciais de ação musculares, sugerindo um processo miopático primário. A espectroscopia de próton do cérebro e da medula espinal superior não mostrou anormalidades anatômicas ou bioquímicas. A fraqueza difusa e progressiva da musculatura esquelética estava fora de proporção em relação à esperada para AIDS ou tuberculose. Essa informação levou seus médicos a considerarem a possibilidade de a disfunção do músculo esquelético poder ser induzida por fármaco.



Arlyn Foma, que tem um linfoma não-Hodgkin do tipo folicular, estava sendo tratado com o fármaco antraciclina doxorrubicina (ver Capítulo 16). Durante o curso do tratamento, ele desenvolveu insuficiência cardíaca biventricular. Embora a doxorrubicina seja um agente anticâncer altamente efetivo contra uma ampla variedade de tumores humanos, seu uso clínico é limitado por cardiotoxicidade específica, cumulativa e dose-dependente. A diminuição da função mitocondrial tem um papel principal em sua toxicidade. A doxorrubicina se liga à cardiolipina, um componente lipídico da membrana interna da mitocôndria, onde ela pode afetar diretamente componentes da fosforilação oxidativa. A doxorrubicina inibe a oxidação de succinato, inativa a citocromo-oxidase, interage com a CoQ, afeta as bombas de íons e inibe a ATP-sintase, resultando em níveis diminuídos de ATP e mitocôndria levemente edemaciada. Ela diminui a habilidade da mitocôndria de seqüestrar Ca^{2+} e aumenta os radicais livres (formas altamente reativas de elétron, *single*), levando à lesão da membrana mitocondrial (ver Capítulo 24). Ela também pode afetar indiretamente a função cardíaca por outros mecanismos.

I. FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA

A produção de ATP a partir da fosforilação oxidativa requer um doador de elétron (NADH ou FAD(2H)), um aceptor de elétron (O_2), uma membrana interna da mitocôndria intacta que seja permeável a prótons, todos os componentes da cadeia de transporte de elétrons e ATP-sintase. Ela é regulada pela velocidade de utilização de ATP.

A. Visão Geral da Fosforilação Oxidativa

A compreensão da fosforilação oxidativa é fundamentada na hipótese quimiosmótica, a qual propõe que a energia para a síntese de ATP seja fornecida por um gradiente eletroquímico através da membrana interna da mitocôndria. Esse gradiente eletroquímico é gerado por componentes da cadeia de transporte de elétrons, os quais bombeiam prótons através da membrana interna da mitocôndria à medida que seqüencialmente recebem e doam elétrons (ver Figura 21.1). O aceptor final é o O_2, o qual é reduzido a H_2O.

1. TRANSFERÊNCIA DE ELÉTRON DE NADH PARA O_2

Na cadeia de transporte de elétrons, os elétrons doados por NADH ou FAD(2H) são passados seqüencialmente através de uma série de carreadores de elétrons que estão localizados na membrana interna da mitocôndria. Cada um dos componentes da cadeia de transporte de elétrons é oxidado à medida que recebe um elétron e, então, reduzido quando passa os elétrons para o próximo membro da cadeia. Do NADH, os elétrons são transferidos seqüencialmente através de NADH-desidrogenase (complexo I), CoQ (coenzima Q), o complexo citocromo b-c_1 (complexo III), citocromo c e finalmente citocromo c-oxidase (complexo IV). A NADH-desidrogenase, o complexo citocromo b-c_1 e a citocromo c-oxidase são, cada um, complexos de múltiplas subunidades de proteínas integrais da membrana interna da mitocôndria. A CoQ é uma quinona lipossolúvel que não é ligada à proteína e está livre para difundir na membrana lipídica. Ela transporta elétrons do complexo I para o complexo III e é uma parte intrínseca da bomba de prótons para cada um desses complexos. O citocromo c é uma pequena proteína no espaço da membrana interna que transfere elétrons do complexo b-c_1 para a citocro-

mo-oxidase. O complexo terminal, citocromo c-oxidase, contém o sítio de ligação para o O_2. Quando o O_2 recebe elétrons da cadeia, ele é reduzido a H_2O.

2. O GRADIENTE DO POTENCIAL ELETROQUÍMICO

Em cada um dos três grandes complexos transmembrana na cadeia, a transferência de elétrons é acompanhada por bombeamento de prótons através da membrana. Há uma queda de energia de cerca de 16 kcal no potencial de redução quando passam por cada um desses complexos, os quais fornecem a energia necessária para mover prótons contra um gradiente de concentração. A membrana é impermeável a prótons, de tal forma que não podem difundir através da bicamada lipídica de volta para a matriz. Assim, na mitocôndria ativamente respirando, o espaço intermembrana e o citosol podem ter um pH de aproximadamente 0,75 unidades mais baixo do que a matriz.

O movimento transmembrana de prótons produz um gradiente eletroquímico com dois componentes: o potencial de membrana (a face externa da membrana tem carga positiva em relação ao lado da matriz) e o gradiente de prótons (o espaço intermembrana tem uma concentração de prótons mais alta e é, portanto, mais ácido do que a matriz) (Figura 21.2). O gradiente eletroquímico algumas vezes é chamado de força próton-motriz (próton-motiva), pois é a energia que empurra os prótons a reentrar na matriz para equilibrar ambos os lados da membrana. Os prótons são atraídos para o lado da matriz da membrana com carga mais negativa, onde o pH é mais alcalino.

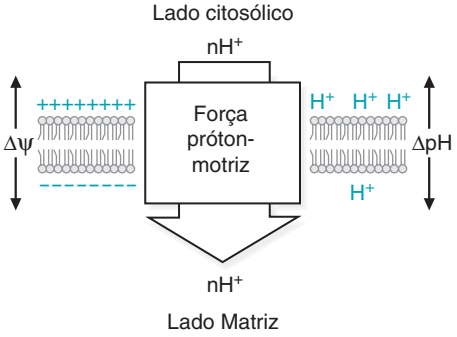


Figura 21.2 Força próton-motriz (gradiente eletroquímico) através da membrana interna da mitocôndria. A força próton-motriz consiste em um potencial de membrana, Δψ, e um gradiente de prótons, indicado por ΔpH para a diferença de pH através da membrana. O potencial eletroquímico é chamado de força próton-motriz, pois representa a energia potencial conduzindo prótons a retornarem para a matriz, mais alcalina, carregada negativamente.

3. ATP-SINTASE

A ATP-sintase (F_0F_1ATPase), a enzima que produz o ATP, é uma enzima de múltiplas subunidades contendo uma porção na membrana interna (F_0) e uma "cabeça" (F_1) que se projeta para a matriz (Figura 21.3). As 12 subunidades **c** na membrana formam um rotor que está ligado a um eixo central assimétrico composto das subunidades ε e γ. A cabeça é composta de três pares de subunidades αβ. Cada subunidade β contém um sítio catalítico para a síntese de ATP. A cabeça é mantida parada por uma subunidade δ ligada a uma subunidade **b** longa conectada à subunidade **a** na membrana.

A entrada de prótons através de canais de prótons liga o motor. O canal de prótons é formado pelas subunidades **c** de um lado e pelas subunidades **a** de outro. Embo-

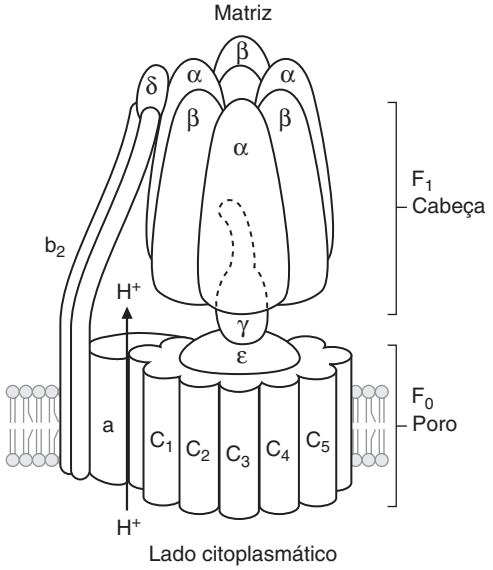


Figura 21.3 ATP-sintase (F_0F_1ATPase).

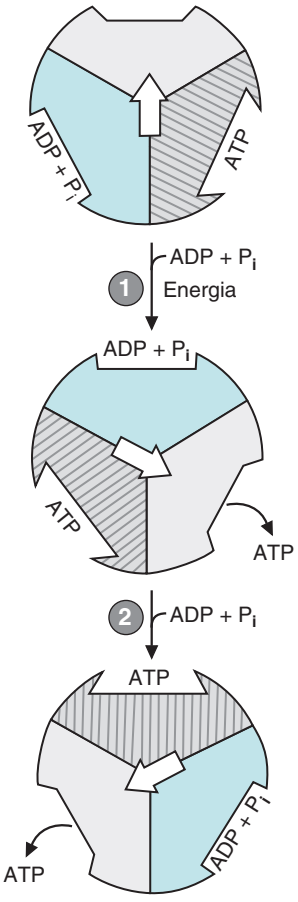


Figura 21.4 Mecanismo de mudança da ligação para a síntese de ATP. Os três pares de subunidades αβ da cabeça da ATP-sintase têm sítios de ligação que podem existir em três conformações diferentes, dependendo da posição do eixo γ. Etapa 1: Quando ADP + P_i se ligam a um sítio aberto e a entrada de prótons rota o eixo γ (representado pela flecha), a conformação das subunidades se modifica, e o ATP é liberado de um sítio (a dissociação de ATP é, assim, uma etapa que necessita de energia). ADP e P_i ligados se combinam para formar ATP no outro sítio. Etapa 2: Quando ADP + P_i se ligam ao novo sítio aberto, o eixo γ rota, as conformações dos sítios se modificam novamente, e o ATP é liberado. ADP e P_i se combinam para formar outro ATP.

O FMN, como o FAD, é sintetizado a partir da vitamina riboflavina. Ela contém a estrutura em anel flavina receptora de elétron, mas não a porção monofosfato de adenosina (AMP) do FAD (ver Figura 19.10). A deficiência grave de riboflavina diminui a habilidade da mitocôndria de produzir ATP a partir da fosforilação oxidativa devido à carência de FMN nos carreadores de elétrons.

ra contíguo, ele tem duas porções contrapostas; uma porção abre diretamente para o espaço intermembrana, e a outra abre diretamente para a matriz. No modelo atual, cada subunidade **c** contém um grupo glutamil carboxila que se estende para o canal de prótons. Quando esse grupo carboxila recebe um próton do espaço intermembrana, a subunidade **c** rota para a membrana lipídica hidrofóbica. A rotação expõe uma subunidade **c** diferente contendo um próton para a porção do canal diretamente aberta para o lado da matriz. Devido ao fato de a matriz ter uma baixa concentração de prótons, o grupo ácido carboxílico do glutamil libera um próton da porção do canal para a matriz. A rotação está completa por uma atração entre o resíduo glutamil com carga negativa e um grupo arginil com carga positiva da subunidade **a**.

De acordo com o mecanismo de troca de ligação, quando o eixo assimétrico rota para uma nova posição, ele forma diferentes associações às subunidades αβ (Figura 21.4). A nova posição do eixo altera a conformação de uma subunidade β, de tal modo que ela libera uma molécula de ATP, e outra subunidade espontaneamente catalisa a síntese de ATP a partir de fosfato inorgânico, um próton e ADP. Assim, a energia do gradiente eletroquímico é utilizada para alterar a conformação das subunidades da ATP-sintase de tal modo que o ATP recém-sintetizado é liberado. O modelo propõe 12 subunidades **c**, e são necessários 12 prótons para completar uma volta do rotor e sintetizar três ATPs.

B. Componentes de Oxirredução da Cadeia de Transporte de Elétrons

O transporte de elétrons para o O_2 ocorre por uma série de etapas de oxirredução, nas quais cada componente sucessivo da cadeia é reduzido quando recebe elétrons e é oxidado quando passa os elétrons para o próximo componente da cadeia. Os componentes de oxirredução incluem flavina mononucleotídeo (FMN), centros Fe-S, CoQ e Fe nos citocromos b, c_1, c, a e a_3. O cobre também é um componente dos citocromos a e a_3 (Figura 21.5). Com exceção de CoQ, todos esses aceptores de elétrons são fortemente ligados a subunidades protéicas dos carreadores.

O potencial de redução de cada complexo da cadeia está em um nível de energia mais baixo do que o complexo anterior, de tal modo que energia é liberada quando elétrons passam de um complexo a outro. Essa energia é utilizada para mover prótons contra seu gradiente de concentração, de tal modo que eles se tornam concentrados no lado citosólico da membrana interna.

1. NADH-DESIDROGENASE

A NADH-desidrogenase é um enorme complexo de 42 subunidades que contém um sítio de ligação para NADH, vários FMNs e proteínas ligadas a um centro ferro-enxofre (Fe-S) e sítios de ligação para CoQ (ver Figura 21.5). Um FMN recebe dois elétrons do NADH e é capaz de passar elétrons *single* para os centros Fe-S (Figura 21.6). Os centros Fe-S, os quais são capazes de deslocar elétrons *single* para orbitais grandes, transferem elétrons para a CoQ e a partir dela. Os centros Fe-S também estão presentes em outros sistemas de enzimas, como outras proteínas que transferem elétrons para a CoQ, no complexo citocromo b-c_1 e na aconitase no ciclo do TCA.

2. SUCCINATO-DESIDROGENASE E OUTRAS FLAVOPROTEÍNAS

Além da NADH-desidrogenase, a desidrogenase succínica e outras flavoproteínas na membrana interna da mitocôndria também transferem elétrons para a CoQ (ver Figura 21.5). A succinato-desidrogenase é parte do ciclo do TCA. A ETF-CoQ-oxirredutase recebe elétrons de ETF (flavoproteína transferidora de elétron, do inglês *electron transferring flavoprotein*), a qual adquire os prótons da oxidação de ácidos graxos e de outras rotas. Essas flavoproteínas têm centros Fe-S. A α-glicerofosfato-desidrogenase é uma flavoproteína que é parte de uma lançadeira de elétrons para a reoxidação do NADH citosólico.

A queda de energia livre entre NADH e CoQ de cerca de –13 a –14 kcal é capaz de apoiar o movimento de quatro prótons. Contudo, o FAD na succinato-desidrogenase

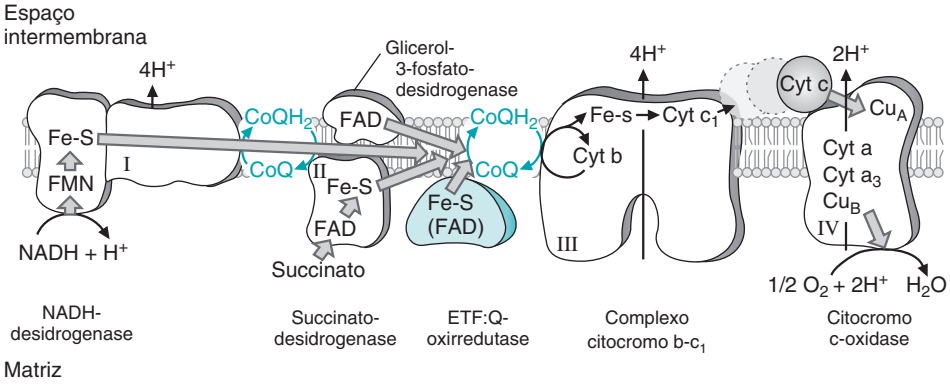


Figura 21.5 Componentes da cadeia de transporte de elétrons. A NADH-desidrogenase (complexo I) se estende pela membrana e tem um mecanismo bombeador de prótons envolvendo a CoQ. Os elétrons vão da CoQ para o complexo citocromo b-c_1 (complexo III), e a transferência de elétrons não envolve o complexo II. A succinato-desidrogenase (complexo II), a glicerol-3-fosfato-desidrogenase e a ETF:Q-oxirredutase (mostradas em azul), todas transferem elétrons para a CoQ, mas não se estendem através da membrana e não têm um mecanismo de bombeamento de prótons. Quando a CoQ recebe prótons do lado da matriz, ela é convertida em QH_2. Elétrons são transferidos do complexo III para o complexo IV (citocromo c-oxidase) pelo citocromo c, um pequeno citocromo no espaço intermembrana que tem sítios de ligação reversíveis no complexo b-c_1 e citocromo c-oxidase.

(bem como ETF-CoQ-oxirredutase e α-glicerofosfato-desidrogenase) está quase no mesmo nível de energia que a CoQ, e não há energia liberada quando elas transferem elétrons para CoQ. Essas proteínas não se estendem através da membrana e, conseqüentemente, não têm um mecanismo de bombeamento de prótons.

3. COENZIMA Q

A CoQ é o único componente da cadeia de transporte de elétrons que não é ligado à proteína. A grande cadeia lateral hidrofóbica de 10 unidades isoprenóides (50 carbonos) confere solubilidade em lipídeos, e a CoQ é capaz de se difundir através de lipídeos da membrana interna da mitocôndria (Figura 21.7). Quando a forma oxidada da quinona recebe um elétron *single*, ela forma um radical livre (um composto com um elétron *single* em um orbital). A transferência de elétrons *single* torna-o o principal sítio para a produção de radicais livres de oxigênio tóxicos no corpo (ver Capítulo 24).



A cadeia lateral longa da CoQ tem 10 unidades isoprenóides de cinco carbonos e algumas vezes é chamada de CoQ_{10}. Ela é também chamada de ubiquinona (quinona encontrada em todo lugar), pois quinonas com estruturas similares são encontradas em plantas e animais. A CoQ pode ser sintetizada nos humanos a partir de precursores derivados de carboidratos e gorduras. A longa cadeia lateral isoprenóide longa é formada na rota que produz os precursores isoprenóides do colesterol. A CoQ_{10} algumas vezes é prescrita para pacientes que estão se recuperando de infarto do miocárdio, em um esforço para aumentar sua capacidade de exercício.

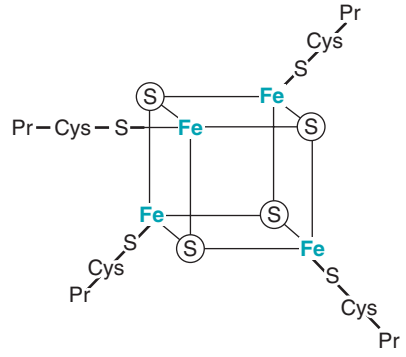


Figura 21.6 Centros Fe_4S_4. Nos centros Fe-S, o Fe está quelado a átomos de enxofre (S) livres e a grupos sulfidrila da cisteína de proteínas. Outros centros Fe-S contêm Fe_2S_2. As subunidades protéicas algumas vezes são chamadas de proteínas com ferro não-hemínico. Quando essas proteínas são tratadas com ácido, o enxofre livre produz sulfeto de hidrogênio (H_2S) – o cheiro familiar de ovos estragados.

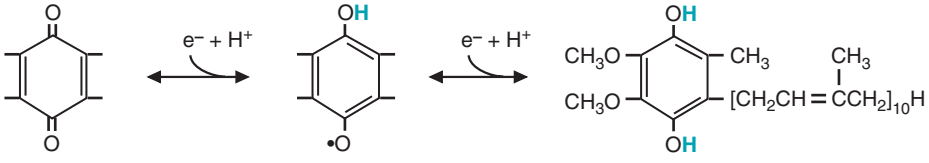


Figura 21.7 A coenzima Q contém uma quinona com uma cadeia lateral lipofílica longa composta de 10 unidades isoprenóides (assim, ela algumas vezes é chamada de CoQ_{10}). A CoQ pode receber um elétron (e^-) para se tornar a forma semi-reduzida ou $2e^-$ para se tornar completamente reduzida.

A semiquinona pode receber um segundo elétron e dois prótons do lado da matriz da membrana para formar uma quinona completamente reduzida. A mobilidade da CoQ na membrana, sua habilidade de receber um ou dois elétrons e sua habilidade de receber e doar prótons a tornam capaz de participar nas bombas de prótons de ambos os complexos I e III quando transporta elétrons entre eles (ver Seção I.C.).

4. CITOCROMOS

Os remanescentes dos componentes na cadeia de transporte de elétrons são os citocromos (ver Figura 21.5). Cada citocromo é uma proteína que contém um heme ligado (ou seja, um átomo Fe ligado a um núcleo porfirina similar em estrutura ao heme na hemoglobina) (Figura 21.8).

Devido a diferenças no componente protéico dos citocromos e a pequenas diferenças na estrutura do heme, cada heme tem um potencial de redução diferente. Os citocromos do complexo b-c_1 têm um nível de energia mais alto do que aqueles da citocromo-oxidase (a e a_3). Assim, energia é liberada pela transferência de elétrons entre os complexos III e IV. Os átomos de ferro nos citocromos estão no estado Fe^{3+}. Quando recebem um elétron, são reduzidos a Fe^{2+}. Quando eles são reoxidados a Fe^{3+}, elétrons passam para o próximo componente da cadeia de transporte de elétrons.

Embora a anemia por deficiência de ferro seja caracterizada por níveis diminuídos de hemoglobina e de outras proteínas contendo ferro no sangue, os citocromos que contêm ferro e centros Fe-S da cadeia de transporte de elétrons em tecidos como o do músculo esquelético são rapidamente afetados. A fadiga, da anemia por deficiência de ferro, em pacientes como **Ann O'Rexia** (ver Capítulo 16), resulta, em parte, da falta de produção de ATP pela cadeia de transporte de elétrons.

5. COBRE (Cu^+) E A REDUÇÃO DE OXIGÊNIO

O último complexo de citocromo é a citocromo-oxidase, a qual passa elétrons do citocromo c para o O_2 (ver Figura 21.5). Ele contém citocromos a e a_3 e o sítio de ligação do oxigênio. Uma molécula completa de oxigênio, O_2, deve receber quatro elétrons para ser reduzida a H_2O. O cobre (Cu^+) ligado no complexo citocromo-oxidase facilita o agrupamento dos quatro elétrons e a redução de O_2.

A citocromo-oxidase tem um K_m para O_2 muito menor do que a mioglobina (o carreador intracelular de oxigênio que contém heme) ou a hemoglobina (o transportador de oxigênio no sangue que contém heme). Assim, o O_2 é "puxado" do eritrócito para a mioglobina e da mioglobina para a citocromo-oxidase, onde é reduzido a H_2O.

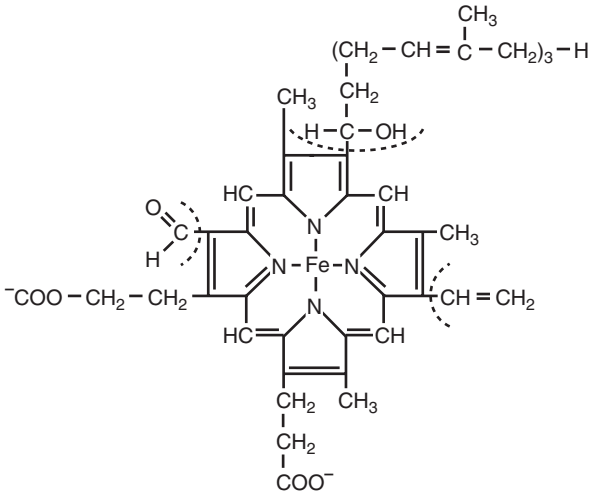


Figura 21.8 Heme A. O heme A é encontrado nos citocromos a e a_3. Os citocromos são proteínas contendo um heme quelado com um átomo de ferro. Os hemes são derivados da protoporfirina IX. Cada citocromo tem um heme com modificações diferentes de suas cadeias laterais (indicado com linhas tracejadas), resultando em um potencial de redução final levemente distinto e, conseqüentemente, em uma posição diferente na seqüência de transferência de elétrons.

O ferro no heme da hemoglobina, diferente do ferro no heme de citocromos, nunca altera seu estado de oxidação (ele é Fe^{2+} na hemoglobina). Se o ferro na hemoglobina fosse oxidado (Fe^{3+}), a capacidade de ligação de oxigênio da molécula seria perdida. Normalmente, as estruturas das proteínas ligando o heme protegem o ferro da oxidação (como as proteínas globulares) ou permitem que a oxidação ocorra (como ocorre nos citocromos). Contudo, na hemoglobina M, uma variante rara da hemoglobina encontrada na população humana, uma histidina é substituída por tirosina na posição F8 na hemoglobina A normal. Essa tirosina estabiliza a forma Fe^{3+} do heme, e essas subunidades não podem ligar oxigênio. Isso é uma condição letal se homozigota.

C. Bombeamento de Prótons

Um dos pilares da teoria quimiosmótica é que a energia das reações de oxirredução da cadeia de transporte de elétrons é utilizada para transportar prótons a partir da matriz para o espaço intermembrana. Esse bombeamento de prótons em geral é facilitado pelo arranjo vetorial dos complexos integrais de membrana. Suas estruturas permitem que eles peguem elétrons e prótons de um lado da membrana e liberem prótons do outro lado à medida que transferem elétrons para o próximo componente da cadeia. A ligação física direta entre o movimento de prótons e a transferência de elétrons pode ser ilustrada por um exame do ciclo Q para o complexo b-c_1 (Figura 21.9). O ciclo Q envolve um ciclo duplo de redução e oxidação da CoQ. A CoQ recebe dois prótons no lado da matriz junto com dois elétrons; ela, então, libera prótons no espaço intermembrana enquanto doa um elétron de volta para outro componente do complexo citocromo b-c_1 e um citocromo c.

O mecanismo de bombeamento de prótons no complexo NADH não é bem compreendido, mas envolve um ciclo Q no qual os centros Fe-S e FMN podem participar. Contudo, o movimento de prótons transmembrana na citocromo c-oxidase provavelmente envolve o transporte direto de prótons através de uma série de moléculas ligadas à água ou cadeias laterais de aminoácidos na proteína, um mecanismo que tem sido descrito como cabo de prótons (*proton wire*).

A importância da ligação direta entre a transferência de elétrons e o movimento de prótons é que um não pode ocorrer sem o outro. Assim, quando prótons não estão sendo utilizados para a síntese de ATP, o gradiente de prótons e o potencial de membrana estão sendo formados. Essa "pressão de retorno de prótons" controla a velocidade de bombeamento de prótons, que controla o transporte de elétrons e o consumo de oxigênio.

D. Energia Liberada pela Cadeia de Transporte de Elétrons

A liberação de energia livre a partir da oxidação de NADH e O_2 é de aproximadamente –53 kcal e a partir de FAD(2H) é de aproximadamente –41 kcal. Esse $\Delta G^{0'}$ é tão negativo que a cadeia nunca é reversível; oxigênio nunca é sintetizado a partir de H_2O.

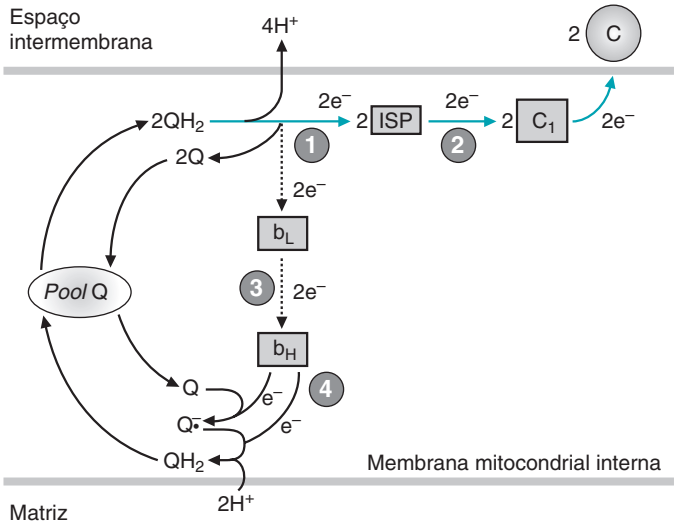


Figura 21.9 A liberação do próton pelo ciclo Q para o complexo b-c_1. (1) De 2 QH_2, os elétrons vão para duas rotas diferentes: uma rota é através de uma proteína com centro FeS (ISP) em direção ao citocromo c (mostrado com flechas azuis). Outra rota é "de volta" para um dos citocromos b, mostrado com flechas tracejadas. (2) Elétrons são transferidos de ISP através do citocromo c_1. O citocromo c, o qual está no espaço intermembrana, liga-se ao complexo b-c_1 para receber um elétron. (3) Elétrons retornando passam através de outro citocromo b e são direcionados para a matriz. (4) No lado da matriz, elétrons e $2H^+$ são recebidos por Q. Q, coenzima Q; $Q\bullet^-$, CoQ semiquinona; QH_2, CoQ hidroquinona.

Cadeia de Transporte de Elétrons
Para transferir dois elétrons
Para a coenzima Q
É preciso proteína Fe-S
E riboflavina também.

Para transferir um elétron
Pela cadeia de TE
É preciso mudar Fe^{3+} para Fe^{2+}
E novamente de volta para Fe^{3+}

Para transferir quatro elétrons
Para um oxigênio
É preciso alguns íons Cu^{++}
E Fe-porfirina.

Para transferir dois elétrons
De NADH para O_2
Bombeia 10 prótons
Isto é o melhor que ela pode fazer.

Para transferir dois elétrons
De FAD reduzido
Bombeia apenas seis prótons
E gera menos ATP.

—C.M. Smith

Cora Nari tem uma falta de oxigênio nas paredes anterior e lateral do coração causada por uma isquemia grave (falta de fluxo sangüíneo) resultante de coágulos formados no local de ruptura de placas ateroscleróticas. A disponibilidade limitada de O_2 para agir como um aceptor de elétrons diminuirá o bombeamento de prótons e a produção de um gradiente eletroquímico através da membrana interna da mitocôndria. Como conseqüência, a velocidade de produção de ATP no coração diminuirá, disparando, assim, eventos que levam à lesão irreversível da célula.

O nitroprussiato intravenoso rapidamente baixa a pressão sangüínea elevada por sua ação vasodilatadora direta. Felizmente, ela foi necessária no caso de **Cora Nari** apenas por algumas horas. Durante infusões prolongadas por 24 a 48 horas ou mais, o nitroprussiato é convertido a cianeto, um inibidor do complexo citocromo c-oxidase. Devido ao fato de pequenas quantidades de cianeto serem detoxicadas no fígado por conversão a tiocianato, o qual é excretado na urina, a conversão de nitroprussiato pode ser monitorada pelo seguimento dos níveis sangüíneos de tiocianato.

Ele é tão negativo que conduz a formação de NADH e FAD(2H) a partir das rotas de oxidação de substrato energético, como o ciclo do TCA e a glicólise, até a conclusão.

Em geral, cada NADH doa dois elétrons, o equivalente à redução de metade de uma molécula de O_2. Uma estimativa geralmente (mas não universalmente) aceita da estequiometria da síntese de ATP é que quatro prótons são bombeados no complexo I, quatro prótons, no complexo III, e dois, no complexo IV. Com quatro prótons translocados para cada ATP sintetizado, há uma estimativa de que 2,5 ATPs são formados para cada NADH oxidado, e 1,5 ATP para cada uma das outras flavoproteínas que contêm FAD(2H) que doam elétrons para a CoQ (esse cálculo não considera as necessidades de prótons para o transporte de fosfato e substratos a partir do citosol, bem como o escape basal de prótons). Assim, apenas cerca de 30% da energia disponível a partir da oxidação de NADH e FAD(2H) por O_2 são utilizados para a síntese de ATP. Um pouco da energia restante no potencial eletroquímico é utilizado para o transporte de ânions e Ca^{2+} para dentro da mitocôndria. O restante da energia é liberado como calor. Conseqüentemente, a cadeia de transporte de elétrons também é uma fonte principal de calor.

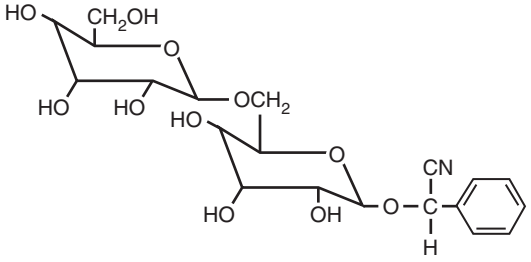
E. Inibição da Cadeia Respiratória e Transferência Seqüencial

Na célula, o fluxo de elétrons na cadeia de transporte de elétrons deve ser seqüencial a partir de NADH ou de uma flavoproteína por toda a rota a O_2 para produzir ATP (ver Figura 21.5). Na ausência de O_2, não há ATP produzido a partir de fosforilação oxidativa, pois os elétrons ficam na cadeia. Mesmo o complexo I não pode bombear prótons para gerar um gradiente eletroquímico, pois cada molécula de CoQ já tem elétrons que ela não pode passar adiante na cadeia sem um O_2 para recebê-los no final. A ação do inibidor da cadeia respiratória cianeto, o qual se liga à citocromo-oxidase, é similar àquela da anoxia; ela impede o bombeamento de prótons por todos os complexos. A inibição completa do complexo b-c_1 impede o bombeamento na citocromo-oxidase, pois não há doador de elétrons; ela impede o bombeamento no complexo I, pois não há

O cianeto se liga a Fe^{3+} no heme do componente citocromo aa_3 da citocromo c-oxidase e impede o transporte de elétrons para o O_2. A respiração mitocondrial e a produção de energia cessam, e a morte celular ocorre rapidamente. O sistema nervoso central é o alvo primário da toxicidade por cianeto. A inalação aguda de altas concentrações de cianeto (p. ex., a inalação de fumaça durante um incêndio) provoca uma breve estimulação do sistema nervoso central seguida por convulsão, coma e morte. A exposição aguda a quantidades baixas pode causar tontura, falta de ar, vertigem, perda dos sentidos e cefaléia.

O cianeto está presente no ar como cianeto de hidrogênio (HCN), no solo e na água como sais de cianeto (p. ex., NaCN) e em alimentos como cianoglicosídeos. A maioria do cianeto no ar em geral se origina do escapamento de automóveis. Exemplos de populações com exposições potencialmente altas incluem fumantes ativos e passivos, pessoas que são expostas a incêndios de casas ou edifícios, residentes que vivem próximos a locais onde se depositam resíduos contendo cianeto ou tiocianato e trabalhadores envolvidos em diversos processos de manufaturação (p. ex., fotografia ou aplicação de pesticida).

Os cianoglicosídeos como a amidalina estão presentes em plantas comestíveis, como amêndoas, caroços de algumas frutas (p. ex., abricoque, pêssegos, ameixas, cerejas), sorgo, mandioca, soja, espinafre, feijão fava, batata-doce, milho, cana-de açúcar e brotos de bambu.



Amidalina, um cianoglicosídeo

O HCN é liberado a partir de cianoglicosídeos por β-glicosidases presentes em plantas ou bactérias intestinais. Pequenas quantidades são inativadas no fígado, principalmente por rodanase, a qual o converte a tiocianato.

Nos Estados Unidos, quantidades tóxicas têm sido ingeridas como caroços de abricoque, devido à tentativa de uma alimentação saudável ou como um tratamento para o câncer. O fármaco Laetrile (amidalina) foi utilizado como um agente terapêutico para o câncer, embora tenha sido banido nos Estados Unidos por ser inefetivo e potencialmente tóxico. Suco de fruta comercial feito com fruta não-descaroçada poderia fornecer quantidades tóxicas de cianeto, particularmente para bebês e crianças. Em países nos quais a mandioca faz parte da dieta básica, o processamento inadequado resulta em retenção de seu alto conteúdo de cianeto em níveis potencialmente tóxicos.

receptor de elétrons. Embora a inibição completa de qualquer um dos complexos iniba o bombeamento de prótons em todos os complexos, a inibição parcial do bombeamento de prótons pode ocorrer quando apenas uma fração das moléculas de um complexo contém um inibidor ligado. A inibição parcial resulta em uma diminuição parcial da velocidade máxima de síntese de ATP.

Q: Uma atividade diminuída da cadeia de transporte de elétrons pode resultar de inibidores, bem como de mutações no mtDNA e no nDNA. Por que uma diminuição da cadeia de transporte de elétrons resulta em acidose láctica?

II. DOENÇAS OXPHOS (FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA)

As doenças clínicas envolvendo os componentes da fosforilação oxidativa (referidas como doenças OXPHOS) estão entre as doenças degenerativas mais comumente encontradas. A patologia clínica pode ser causada por mutações, tanto em DNA mitocondrial (mtDNA) como em DNA nuclear (nDNA), que codificam as proteínas necessárias para a fosforilação oxidativa normal.

A. DNA Mitocondrial e Doenças OXPHOS

O mtDNA é um DNA circular, em fita dupla, pequeno, com 16.569 pares de nucleotídeos. Ele codifica 13 subunidades dos complexos envolvidos na fosforilação oxidativa: 7 das 42 subunidades do complexo I (complexo da NADH-desidrogenase), 1 das 11 subunidades do complexo III (complexo citocromo b-c_1), 3 das 13 subunidades do complexo IV (citocromo-oxidase) e duas subunidades da porção F_0 do complexo ATP-sintase. Além disso, o mtDNA codifica os componentes necessários para a tradução de seu mRNA: um rRNA pequeno e um grande e 22 tRNAs. As mutações no mtDNA foram identificadas como deleções, duplicações ou mutações pontuais (Tabela 21.1).

As genéticas das mutações no mtDNA são definidas por *herança materna, segregação de replicação, expressão-limite, uma taxa alta de mutação de mtDNA* e o *acúmulo de mutações somáticas com a idade.* O padrão de *herança materna* reflete a transmissão exclusiva de mtDNA pela mãe da criança. O ovo contém aproximadamente 300.000 moléculas de mtDNA empacotadas dentro da mitocôndria. Elas são retidas durante a

A fosforilação oxidativa (OXPHOS) é responsável por produzir a maioria do ATP de que nossas células necessitam. Os genes responsáveis pelos polipeptídeos que compõem os complexos OXPHOS dentro das células estão localizados no DNA nuclear (nDNA) ou no DNA mitocondrial (mtDNA). Cada vez mais, tais alterações parecem ser responsáveis por pelo menos alguns aspectos de doenças comuns, como doença de Parkinson, cardiomiopatias hipertróficas, diabetes melito, doenças de Alzheimer, distúrbios depressivos e inúmeras outras entidades clínicas menos conhecidas.

Tabela 21.1 Exemplos de Doenças OXPHOS causadas por Mutações de mtDNA

Sintomas Característicos das Síndromes de Mutações de mtDNA		
I. Rearranjos de mtDNA nos quais genes são deletados ou duplicados		
Síndrome de Kearns-Sayre	Início antes dos 20 anos de idade, caracterizada por oftalmoplegia, retinite pigmentosa atípica, miopatia mitocondrial e um dos seguintes: defeito da condução cardíaca, síndrome cerebelar ou proteínas CSF elevadas.	Deleção de segmentos contíguos de tRNA e polipeptídeos OXPHOS, ou mutações de duplicação consistindo em mtDNA normal arranjado de forma enfileirada e mtDNA com uma mutação de deleção.
Síndrome de Pearson	Distúrbio sistêmico da fosforilação oxidativa que afeta predominantemente a medula óssea.	(mesmo que acima)
II. Mutações pontuais de mtDNA ou genes do RNA ribossomal		
MERRF (epilepsia mioclônica e doença de fibras rajadas de vermelho, do inglês *myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease*)	Epilepsia mioclônica, uma miopatia mitocondrial com fibras rajadas de vermelho e uma demência progressiva lenta. Início de sintomas: final da infância à idade adulta.	$tRNA^{lys}$
MELAS (miopatia mitocondrial, encefalomiopatia, acidose láctica e episódios semelhantes a acidente vascular cerebral, do inglês *mitochondrial miopathy, encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes*).	Doença neurodegenerativa progressiva caracterizada por episódios semelhantes a acidente vascular cerebral, ocorrendo primeiro entre a idade de 5 e 15 anos, e uma miopatia mitocondrial.	80 a 90% de mutações no $tRNA^{leu}$
III. Mutações do tipo *missense* em polipeptídeos OXPHOS		
Doença de Leigh (encefalopatia necrotizante subaguda)	Idade média de início 1,5 a 5 anos; as manifestações clínicas incluem atrofia óptica, oftalmoplegia, nistamo, anormalidades respiratórias, ataxia, hipotonia, espasticidade e retardo do desenvolvimento ou regressão.	7 a 20% dos casos têm mutações nas subunidades F_0 da F_0F_1-ATPase.
LHON (neuropatia óptica hereditária de Leber, do inglês *Leber hereditary optic neuropathy*)	Início tardio, atrofia óptica aguda.	90% dos casos europeus e asiáticos resultam de mutação na NADH-desidrogenase.

R: O efeito da inibição da cadeia de transporte de elétrons é uma oxidação diminuída de piruvato, ácidos graxos e outros substratos energéticos. Em muitos casos, a inibição do transporte mitocondrial de elétrons resulta em níveis mais altos do que o normal de lactato e piruvato no sangue e uma razão piruvato/lactato aumentada. A oxidação de NADH necessita da completa transferência de elétrons de NADH para O_2, e um defeito em qualquer lugar ao longo da cadeia resultará em acúmulo de NADH e diminuição de NAD^+. O aumento em NADH/NAD^+ inibe a piruvato-desidrogenase e causa o acúmulo de piruvato. Ele também aumenta a conversão de piruvato a lactato, e níveis elevados de lactato aparecem no sangue. Um grande número de defeitos genéticos das proteínas nos complexos da cadeia respiratória tem sido, portanto, classificado como "acidose láctica congênita".

Uma paciente teve movimentos musculares espontâneos (convulsões) na metade de sua adolescência, e sua condição progrediu por 10 anos, incluindo mioclonia debilitante, perda de audição neurossensória, demência, hipoventilação e cardiomiopatia leve. O metabolismo de energia foi afetado no sistema nervoso central, no coração e no músculo esquelético, resultando em acidose láctica. Uma história indicou que a mãe da paciente, a avó e duas tias maternas tinham sintomas envolvendo os tecidos nervoso ou muscular (claramente, um caso de herança materna). Contudo, nenhum outro parente apresenta sintomas idênticos. Os sintomas e a história da paciente são os de epilepsia mioclônica e de doença de fibras rajadas de vermelho (MERRF). Os tecidos afetados (sistema nervoso central e músculo) são dois tecidos com as necessidades mais altas de ATP. A maioria dos casos de MERRF é causada por uma mutação pontual no $tRNA^{lys}$ mitocondrial ($mtRNA^{lys}$). As mitocôndrias, obtidas por biópsia muscular, estão aumentadas e apresentam padrão anormal de cristas. O tecido muscular também mostra fibras rajadas de vermelho.

Q: Como calafrios produzem calor?

fertilização; assim, aquelas dos espermatozóides não entram no ovo ou são perdidas. Em geral, algumas mitocôndrias estão presentes com o mtDNA mutante e algumas com o DNA normal (*wild-type*). Quando as células se dividem durante a mitose e a meiose, a mitocôndria é replicada por fissão, mas várias quantidades de mitocôndrias com DNA mutante e *wild-type* são distribuídas para cada célula-filha (*segregação replicativa*). Assim, qualquer célula pode ter uma mistura de mitocôndrias, cada uma com mtDNAs mutante ou *wild-type* (heteroplasmia). A segregação mitótica e meiótica da mutação heteroplásmica do mtDNA resulta em deficiências variáveis da fosforilação oxidativa entre pacientes com a mesma mutação, e mesmo entre os tecidos de um paciente.

A patologia da doença em geral se torna pior com a idade, pois uma pequena quantidade de mitocôndrias normais pode conferir função normal e capacidade de exercício enquanto o paciente é jovem. À medida que o paciente envelhece, mutações (espontâneas) somáticas no mtDNA se acumulam pela produção de radicais livres dentro da mitocôndria (ver Capítulo 24). Essas mutações com freqüência se tornam permanentes, parcialmente porque o mtDNA não tem acesso aos mesmos mecanismos de reparo para o nDNA (alta taxa de mutação). Mesmo em indivíduos normais, as mutações somáticas resultam em um declínio da capacidade de fosforilação oxidativa com a idade (acúmulo de mutações somáticas com a idade). Em algum estágio, a capacidade de produção de ATP dos tecidos diminui abaixo do limite para a função normal (expressão de limite). Em geral, sintomas desses defeitos apareceriam em um ou mais dos tecidos com as demandas de ATP mais altas: tecido nervoso, coração, músculo esquelético e rins.

B. Outros Distúrbios Genéticos da Fosforilação Oxidativa

As mutações genéticas também têm sido relatadas para proteínas mitocondriais codificadas por nDNA. A maioria das 1.000 proteínas estimadas necessárias para a fosforilação oxidativa é codificada por nDNA; assim, mtDNA codifica apenas 13 subunidades dos complexos da fosforilação oxidativa (incluindo ATP-sintase). O nDNA codifica 70 ou mais subunidades adicionais dos complexos da fosforilação oxidativa, bem como adenina-nucleotídeo-translocase (ANT) e outros translocadores de ânions. A regulação coordenada da expressão de nDNA e mtDNA, a importação de proteínas para dentro das mitocôndrias, a montagem de complexos e a regulação da fissão mitocondrial são codificadas por nDNA.

As mutações de nDNA diferem de mutações de mtDNA em vários aspectos importantes. Essas mutações não mostram um padrão de herança materna, mas em geral são autossômicas recessivas. As mutações são distribuídas de maneira uniforme para células-filhas e, portanto, são expressas em todos os tecidos contendo o alelo para uma isoforma tecido-específica. Contudo, a expressão fenotípica ainda será mais aparente em tecidos com altas necessidades de ATP.

III. ACOPLAMENTO DA CADEIA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS E SÍNTESE DE ATP

O gradiente eletroquímico acopla a velocidade da cadeia de transporte de elétrons à velocidade de síntese de ATP. Devido ao fato de o fluxo de elétrons necessitar de bombeamento de prótons, o fluxo de elétrons não pode ocorrer mais rápido do que os prótons são utilizados para a síntese de ATP (fosforilação oxidativa acoplada) ou devolvidos para a matriz por um mecanismo que os desvia do poro da ATP-sintase (desacoplamento).

Os fatores respiratórios nucleares (NRF-1 e NRF-2, NRF, do inglês *nuclear respiratory factors*) são fatores de transcrição nuclear que se ligam e ativam regiões promotoras de genes nucleares codificando subunidades de complexos da cadeia respiratória, incluindo o citocromo c. Eles também ativam a transcrição do gene nuclear para o fator de transcrição mitocondrial (mTF, do inglês *mitochondrial transcription factor*) A. A proteína produto desse gene é translocada para dentro da matriz mitocondrial, onde estimula a transcrição e a replicação do genoma mitocondrial.

A. Regulação por meio de Acoplamento

Quando energia da ligação química do ATP é utilizada por reações que necessitam de energia, as concentrações de ADP e P_i aumentam. Quanto mais ADP se liga à ATP-sintase, maior será o fluxo de prótons através do poro da ATP-sintase, do espaço intermembrana para a matriz. Assim, quando os níveis de ADP se elevam, a entrada de prótons aumenta, e o gradiente eletroquímico diminui (Figura 21.10). As bombas de prótons da cadeia de transporte de elétrons respondem com o aumento do bombeamento de prótons e do fluxo de elétrons para manter o gradiente eletroquímico. O resultado é consumo elevado de oxigênio. A oxidação aumentada de NADH na cadeia de transporte de elétrons e a concentração aumentada de ADP estimulam as rotas de oxidação de substrato energético, como o ciclo do TCA, para fornecer mais NADH e FAD(2H) para a cadeia de transporte de elétrons. Por exemplo, durante exercício, o corpo humano utiliza mais ATP para a contração muscular, consome mais oxigênio, oxida mais substratos energéticos (o que significa que queima mais calorias) e produz mais calor a partir da cadeia de transporte de elétrons. Em descanso, a utilização de ATP diminui, a entrada de prótons diminui, o gradiente eletroquímico aumenta, e a "pressão de volta" de prótons diminui a velocidade da cadeia de transporte de elétrons. NADH e FAD(2H) não podem ser oxidados tão rapidamente na cadeia de transporte de elétrons, e, conseqüentemente, sua formação inibe as enzimas que os geram.

O sistema é organizado para manter níveis muito altos de ATP sempre. Na maioria dos tecidos, a velocidade de utilização de ATP é quase constante todo o tempo. Contudo, no músculo esquelético, as velocidades de hidrólise de ATP se alteram muito quando o músculo vai do repouso para a contração rápida. Mesmo sob essas circunstâncias, a concentração de ATP diminui apenas 20%, pois ele é rapidamente regenerado. No coração, a ativação de enzimas do ciclo do TCA por Ca^{2+} fornece um estímulo para a produção de NADH, de tal modo que nem o nível de ATP nem o de NADH diminuem quando a demanda é aumentada. A cadeia de transporte de elétrons tem uma capacidade muito alta e pode responder de forma muito rápida a qualquer aumento na utilização de ATP.

B. Desacoplamento da Síntese de ATP do Transporte de Elétrons

Quando prótons vazam de volta para a matriz sem passar pelo poro da ATP-sintase, eles dissipam o gradiente eletroquímico através da membrana sem a produção de ATP. Esse fenômeno é chamado de "desacoplamento" da fosforilação oxidativa. Ele ocorre com compostos químicos, conhecidos como desacopladores, e fisiologicamente com proteínas desacopladoras que formam canais de condutância de prótons através da membrana. O desacoplamento da fosforilação oxidativa resulta em consumo aumentado de oxigênio e produção de calor quando o fluxo de elétrons e o bombeamento de prótons tentam manter o gradiente eletroquímico.

1. DESACOPLADORES QUÍMICOS DA FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA

Os desacopladores químicos, também conhecidos como ionóforos de prótons, são compostos lipossolúveis que rapidamente transportam prótons do lado citosólico para o lado da matriz da membrana interna da mitocôndria (Figura 21.11). Devido ao fato de a concentração de prótons ser mais alta no espaço intermembrana, os desacoplado-

R: Os calafrios resultam da contração muscular, a qual aumenta a velocidade de hidrólise de ATP. Como conseqüência da entrada de prótons, a cadeia de transporte de elétrons é estimulada. O consumo de oxigênio e a quantidade de energia perdida como calor pela cadeia de transporte de elétrons aumentam.

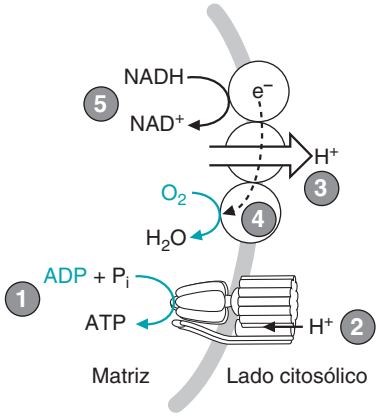


Figura 21.10 A concentração de ADP (ou do potencial $-[ATP]/[ADP][P_i]$) controla a velocidade de consumo de oxigênio. (1) ADP é fosforilado a ATP pela ATP-sintase. (2) A liberação de ATP necessita de fluxo de prótons através da ATP-sintase para dentro da matriz. (3) A utilização de prótons do espaço intermembrana para a síntese de ATP diminui o gradiente de prótons. (4) Como resultado, a cadeia de transporte de elétrons bombeia mais prótons, e oxigênio é reduzido a H_2O. (5) Como NADH doa elétrons para a cadeia de transporte de elétrons, NAD^+ é regenerado e retorna para o ciclo do TCA ou outra rota produtora de NADH.

Uma biópsia de músculo esquelético realizada em **Ivy Sharer** indicou proliferação das mitocôndrias do sarcolema com degeneração de fibras musculares (fibras vermelhas) em aproximadamente 55% do total de fibras observadas. Uma análise do DNA mitocondrial (mtDNA) não indicou mutações genéticas, mas mostrou um grau moderado de depleção quantitativa de mtDNA.

A AIDS de **Ivy Sharer** estava sendo tratada com zidovudina (AZT), que também pode agir como um inibidor da DNA-polimerase mitocondrial (polimerase γ). Uma revisão dos efeitos adversos potenciais do fármaco mostrou que, raramente, ele pode causar graus variados de depleção de mtDNA em tecidos diferentes, incluindo o músculo esquelético. A depleção pode causar uma miopatia mitocondrial grave, incluindo acúmulo de "fibras rajadas de vermelho" dentro das células do músculo esquelético associado a anormalidades ultra-estruturais em suas mitocôndrias.

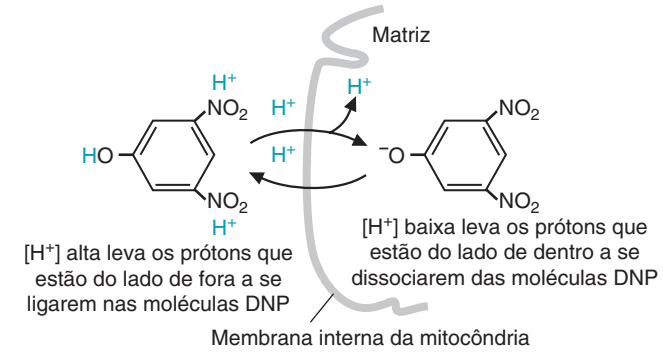


Figura 21.11 O dinitrofenol (DNP, do inglês *dinitrophenol*) é solúvel em lipídeos e pode, portanto, difundir através da membrana. Ele tem um próton dissociável com um pK_a próximo a 7,2. Assim, no espaço intermembrana onde a $[H^+]$ é alta (pH baixo), o DNP capta um próton, que ele carrega através da membrana. Em concentração mais baixa de prótons na matriz, o H^+ se dissocia. Como conseqüência, as células não podem manter seu gradiente eletroquímico ou sintetizar ATP. O DNP foi recomendado nos Estados Unidos como fármaco para perda de peso, com base no princípio de que [ATP] diminuída e transporte de elétron aumentado estimulam a oxidação de substrato energético. Contudo, diversas mortes resultaram de seu uso.

res captam prótons do espaço intermembrana. Sua solubilidade em lipídeos os capacita a difundir através da membrana interna da mitocôndria enquanto carregam prótons e os liberam no lado da matriz. A entrada rápida de prótons dissipa o gradiente eletroquímico; portanto, as mitocôndrias não são capazes de sintetizar ATP. Finalmente, a integridade e a função da mitocôndria são perdidas.

2. PROTEÍNAS DESACOPLADORAS E TERMOGÊNESE

As proteínas desacopladoras (UCP, do inglês *uncoupling proteins*) formam canais através da membrana interna da mitocôndria que são capazes de conduzir prótons a partir do espaço intermembrana para a matriz, desviando-os da ATP-sintase.

A UCP1 (termogenina) está associada à produção de calor em tecido adiposo marrom. A principal função do tecido adiposo marrom é a termogênese sem calafrios, enquanto a principal função do tecido adiposo branco é o armazenamento de triacilgliceróis em gotas brancas de lipídeos. A cor marrom se origina do grande número de mitocôndrias que o tecido possui. As crianças, que têm pouco controle voluntário de seu ambiente e podem chutar os cobertores durante a noite, têm depósito de gordura marrom em torno do pescoço, região mamária, entre a escápula e em torno dos rins para protegê-las do frio. Contudo, há muito pouca gordura marrom na maioria dos adultos.

Em resposta ao frio, as terminações nervosas simpáticas liberam norepinefrina, a qual ativa uma lipase no tecido adiposo marrom que libera ácidos graxos a partir de triacilgliceróis (Figura 21.12). Os ácidos graxos servem de substrato energético para o tecido (ou seja, são oxidados para produzir o gradiente de potencial eletroquímico e ATP) e participam diretamente da condutância nos canais de prótons pela ativação de UCP1 junto com CoQ reduzida. Quando a UCP1 está ativada por nucleotídeos púricos, ácidos graxos e CoQ, ela transporta prótons do lado citosólico da membrana interna da mitocôndria para a matriz mitocondrial sem a produção de ATP. Assim, ela desacopla parcialmente a fosforilação oxidativa e produz calor adicional.

As proteínas desacopladoras existem como uma família de proteínas: a UCP1 (termogenina) é expressa no tecido adiposo marrom; a UCP2 é encontrada na maioria das células; a UCP3 é encontrada principalmente no músculo esquelético; a UCP4 e a UCP5 são encontradas no cérebro. Essas são proteínas altamente reguladas que, quando ativadas, aumentam a quantidade de energia a partir da oxidação de substrato energético que está sendo liberada como calor. Devido ao fato de afetarem a eficiência metabólica, diferenças nos níveis de UCP (particularmente do músculo esquelético, UCP3) podem contribuir para a tendência à obesidade de alguns indivíduos ou popu-



O salicilato, o qual é um produto da degradação da Aspirina® nos humanos, é solúvel em lipídeos e tem um próton dissociável. Em altas concentrações, como no envenenamento por salicilato, ele é capaz de desacoplar parcialmente a mitocôndria. O declínio da concentração de ATP na célula e conseqüente aumento de AMP no citosol estimulam a glicólise. A super-estimulação da rota glicolítica (ver Capítulo 22) resulta em níveis aumentados de ácido láctico no sangue e acidose metabólica. Felizmente, **Dennis Veere** não desenvolveu essa conseqüência do envenenamento por Aspirina® (ver Capítulo 4).

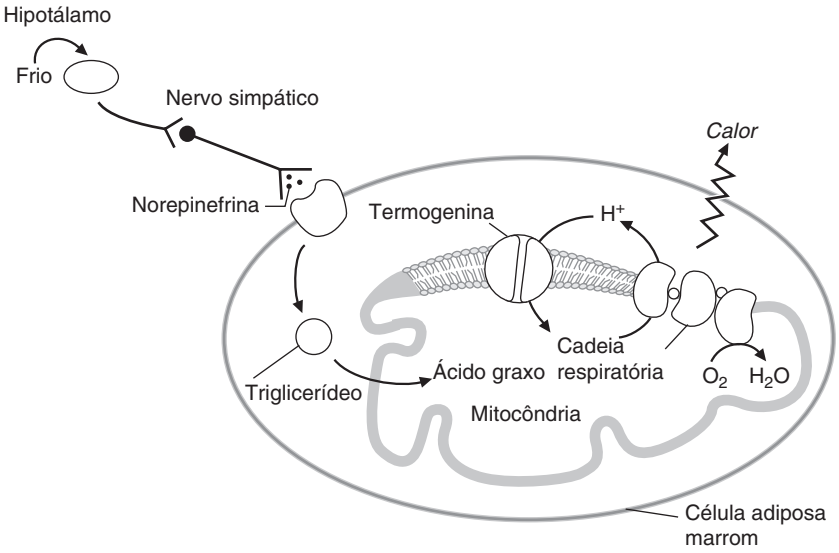


Figura 21.12 A gordura marrom é um tecido especializado em termogênese sem calafrios. Frio ou excesso de ingesta de alimentos estimula a liberação de norepinefrina a partir de terminações de nervos simpáticos. Como resultado, uma lipase é ativada, liberando ácidos graxos para a oxidação. A proteína de condutância de prótons, termogenina, é ativada, e prótons são trazidos para dentro da matriz. Isso estimula a cadeia de transporte de elétrons, a qual aumenta sua velocidade de oxidação de NADH e FAD(2) e produz mais calor.

lação. As UCP também podem diminuir a quantidade de CoQ disponível para formar radicais livres de oxigênio, diminuindo, assim, a lesão mitocondrial e celular.

3. ESCAPE DE PRÓTONS E TAXA METABÓLICA DE REPOUSO

Um nível baixo de escape de prótons através da membrana interna da mitocôndria ocorre nas mitocôndrias do corpo humano todo o tempo; assim, normalmente elas são parcialmente desacopladas. Foi estimado que mais de 20% da taxa metabólica de repouso humana é a energia gasta para manter o gradiente eletroquímico dissipado pelo escape basal de prótons (também referido como escape global de prótons). Um pouco do escape de prótons resulta da permeabilidade da membrana associada a proteínas localizadas na bicamada lipídica. Uma quantidade desconhecida pode resultar de proteínas desacopladoras.

IV. TRANSPORTE ATRAVÉS DAS MEMBRANAS INTERNA E EXTERNA DA MITOCÔNDRIA

A maioria do ATP recém-sintetizado que é liberado para a matriz mitocondrial deve ser transportada para fora da mitocôndria, onde ele é utilizado para processos que necessitam de energia, como o transporte ativo, a contração muscular ou as reações de biossíntese. Da mesma forma, ADP, fosfato, piruvato e outros metabólitos devem ser transportados para dentro da matriz. Isso requer o transporte de compostos através de ambas as membranas interna e externa da mitocôndria.



As membranas interna e externa da mitocôndria diferem substancialmente em seu conteúdo lipídico. A membrana interna tem 22% de cardiolipina e quase não contém colesterol. A membrana externa se assemelha à membrana celular; ela tem menos de 3% de cardiolipina e cerca de 45% de colesterol.

A. Transporte através da Membrana Interna da Mitocôndria

A membrana interna da mitocôndria forma uma barreira de permeabilidade limitada para todas as moléculas polares, incluindo ATP, ADP, P_i, ânions, como o piruvato, e cátions, como Ca^{2+}, H^+ e K^+. Contudo, o processo de fosforilação oxidativa depende de transporte rápido e contínuo de muitas dessas moléculas através da membrana interna da mitocôndria (Figura 21.13). Íons e outras moléculas polares são transportados através da membrana interna da mitocôndria por proteínas transportadoras específicas

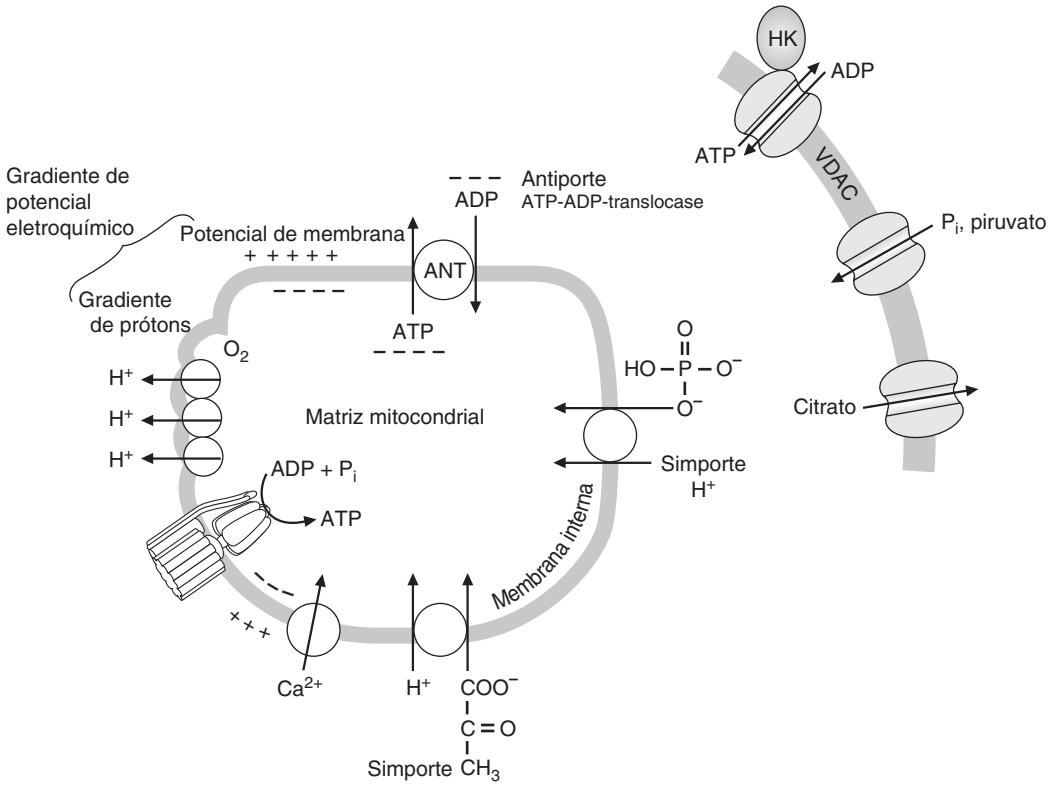


Figura 21.13 Transporte de compostos através das membranas interna e externa da mitocôndria. O gradiente de potencial eletroquímico conduz o transporte de íons através da membrana interna da mitocôndria por translocases específicas. Cada translocase é composta de hélices integrais na membrana que ligam apenas compostos específicos (ANT, adenina-nucleotídeo-translocase). Em contraste, a membrana externa contém poros inespecíficos relativamente grandes chamados de VDAC (canais de ânions dependentes de voltagem, do inglês *voltage-dependent anion channels*) através dos quais uma ampla variação de íons se difunde. Esses ligam proteínas citosólicas como a hexoquinase (HK), o que capacita a HK a ter acesso ao ATP recém-exportado.

A ANT é um mecanismo de antiporte, uma proteína trocadora que transloca um íon em troca de uma molécula de carga similar. Em contraste, o transportador de fosfato e o transportador de piruvato são simportes, translocases que co-transportam duas moléculas de cargas opostas. O canal de Ca^{2+} é chamado de uniporte, pois nenhum outro íon está envolvido. Todos os metabólitos entrando ou saindo do ciclo do TCA são transportados através da membrana interna da mitocôndria por proteínas transportadoras específicas. Isso inclui o transportador dicarboxilato (trocador fosfato-malato), o transportador tricarboxilato (trocador citrato-malato), o transportador aspartato-glutamato e o transportador malato-α-cetoglutarato.

Q: Investigadores relataram terem encontrado anticorpos contra a translocase ATP-ADP cardíaca em um indivíduo que morreu de uma cardiomiopatia viral. Como esses anticorpos poderiam resultar em morte?

– translocases – que quase equilibram as cargas durante o processo de transporte ativo. A maioria desses processos de troca é uma forma de transporte ativo que em geral utiliza energia a partir do gradiente de potencial eletroquímico, do potencial de membrana ou do gradiente de prótons.

A ATP-AD-translocase (também chamada de ANT para adenina-nucleotídeo-translocase) transporta o ATP formado na matriz mitocondrial para o espaço intermembrana em uma troca específica 1:1 pelo ADP produzido pelas reações que necessitam de energia fora da mitocôndria (ver Figura 21.13). Devido ao fato de o ATP conter quatro cargas negativas e o ADP apenas três, a troca é promovida pelo gradiente de potencial eletroquímico, pois o efeito total é o transporte de uma carga negativa da matriz para o citosol. Antiportes similares existem para a maioria dos ânions metabólicos. Em contraste, o fosfato inorgânico e o piruvato são transportados para dentro da matriz mitocondrial por transportadores específicos, chamados de simportes, junto com um próton. Uma proteína transportadora para a captação de Ca^{2+}, chamada de uniporte de Ca^{2+}, é impulsionada pelo gradiente de potencial eletroquímico, o qual é negativamente carregado do lado da matriz da membrana em relação ao lado citosólico.

B. Transporte através da Membrana Externa da Mitocôndria

Enquanto a membrana interna da mitocôndria é altamente impermeável, a membrana externa é permeável a compostos com um peso molecular de até aproximadamente 6.000 dáltons, pois ela contém poros grandes inespecíficos chamados de canais de ânions dependentes de voltagem (VDAC), que são formados pelas porinas mitocondriais (ver Figura 21.13). De forma diferente da maioria das proteínas transportadoras,

R: Quando o ATP é hidrolisado durante a contração muscular, o ADP é formado. Esse ADP deve ser trocado e entrar na mitocôndria através de uma ATP-ADP-translocase para ser novamente convertido em ATP. A inibição da ATP-ADP-translocase resulta em uma depleção rápida dos níveis de ATP citosólico e perda da contratilidade cardíaca.

as quais são hélices integrais de membrana com sítios de ligação específicos, os VDAC são compostos por homodímeros de porinas que formam uma estrutura em barril β com um poro não-específico cheio de água relativamente grande através do centro. Esses canais estão "abertos" em potenciais transmembrana baixos, com uma preferência por ânions, como fosfato, cloreto, piruvato, citrato e nucleotídeos de adenina.

Os VDAC facilitam, assim, a translocação desses ânions entre o espaço intermembrana e o citosol. Diversas quinases citosólicas, como a hexoquinase que inicia a glicólise, ligam-se ao lado citosólico do canal, onde têm pronto acesso ao ATP recém-sintetizado.

C. Poro Mitocondrial de Permeabilidade Transitória

O poro mitocondrial de permeabilidade transitória (chamado de MPTP, do inglês *mitochondrial permeability transition pore*) envolve a abertura de um poro grande não-específico através da membrana interna da mitocôndria e das membranas externas em sítios onde ele forma uma junção (Figura 21.14). Os componentes básicos do poro mitocondrial de permeabilidade transitória são ANT, VDAC e ciclofilina D (a qual é uma *cis-trans* isomerase para a ligação peptídica da prolina). Normalmente, ANT é um poro fechado que funciona especificamente em uma troca 1:1 do ATP da matriz pelo ADP do espaço intermembrana. Contudo, Ca^{2+} aumentado na matriz mitocondrial, excesso de fosfato ou ROS (espécies reativas de oxigênio que formam radicais de oxigênio ou oxigênio-nitrogênio) podem ativar a abertura dos poros. Inversamente, o ATP no lado citosólico do poro (e possivelmente um pH abaixo de 7,0) e um potencial de membrana através da membrana interna protegem contra a abertura do poro. A abertura do MPTP pode ser disparada por isquemia (hipoxia), a qual resulta em uma falta temporária de O_2 para manter o gradiente de prótons e a síntese de ATP. Quando o gradiente de prótons não está sendo produzido pela cadeia de transporte de elétrons, a ATP-sintase funciona ao inverso e hidrolisa ATP em uma tentativa de reestabelecer o gradiente, depletando, assim, rapidamente os níveis celulares de ATP. Quando o ATP é hidrolisado a ADP, o ADP é convertido em adenina, e o fundo (*pool*) de nucleotídeo não é mais capaz de proteger contra a abertura do poro. Isso pode levar a uma espiral de eventos celulares. Uma falta de ATP para a manutenção do Ca^{2+} intracelular baixo pode contribuir para a abertura do poro. Quando o MPTP abre, prótons entram, e a manutenção de um gradiente de prótons se torna impossível. Ânions e cátions entram na matriz, ocorre edema mitocondrial, e a mitocôndria se torna irreversivelmente lesada. O resultado é lise e morte (necrose) celular.

Além de um papel normal no movimento de moléculas através da membrana externa da mitocôndria, o VDAC parece ter funções nos processos que levam à morte celular. Essas funções são influenciadas por proteínas que se ligam aos VDAC. Pela formação de um componente do poro mitocondrial de permeabilidade transitória, os VDAC podem contribuir para os eventos levando à morte celular. Alternativamente, a ligação de membros pró-apoptóticos ou antiapoptóticos da família do Bcl-2 pode alterar a permeabilidade da membrana externa de forma a favorecer ou bloquear os eventos levando à morte celular programada (apoptose).

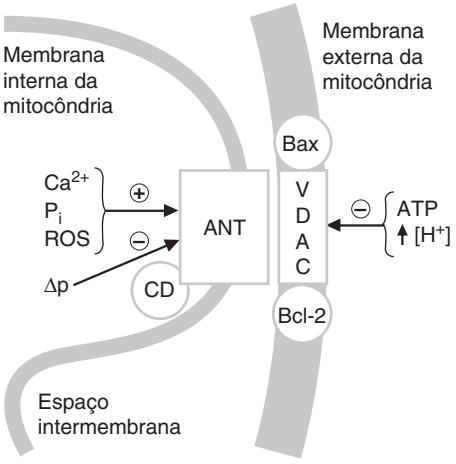


Figura 21.14 O poro mitocondrial de permeabilidade transitória (MPTP). No MPTP, a ANT parece formar um complexo com o VDAC. A conformação de ANT é regulada por ciclofilina D (CD) e Ca^{2+}. Os VDAC se ligam a diversas proteínas, incluindo Bcl2 e Bax, as quais regulam a apoptose. A alteração para um poro aberto é ativada por Ca^{2+}, depleção de nucleotídeos de adenina e radicais de oxigênio (ROS) que alteram grupos SH. Ela é inibida pelo gradiente de potencial eletroquímico (Δp), por ATP citosólico e por um pH citosólico baixo.

À medida que a infusão de TPA destruiu o trombo que bloqueava o fluxo sangüíneo no coração de **Cora Nari**, sangue oxigenado foi reintroduzido no coração isquêmico. Embora oxigênio possa rapidamente reestabelecer a capacidade de produção de ATP, com freqüência ele aumenta a morte celular, um fenômeno chamado de lesão por isquemia-perfusão.

Durante a isquemia, diversos fatores podem proteger as células cardíacas contra lesão irreversível e morte celular até que o oxigênio seja introduzido. A estimulação da glicólise anaeróbica no citosol produz ATP sem oxigênio à medida que a glicose é convertida em ácido láctico. O ácido láctico diminui o pH citosólico. O ATP citosólico e a diminuição do pH protegem contra a abertura dos MPTP. Além disso, a captação de Ca^{2+} pela mitocôndria necessita de um potencial de membrana, e é o Ca^{2+} da matriz que ativa a abertura dos MPTP. Assim, dependendo da gravidade da agressão isquêmica, o MPTP pode não abrir, ou pode abrir e fechar novamente, até que o oxigênio seja reintroduzido. Então, dependendo da seqüência de eventos, o restabelecimento do gradiente de prótons, a captação mitocondrial de Ca^{2+} ou um aumento do pH acima de 7,0 podem ativar o MPTP antes de a célula ter se recuperado. Além disso, a reintrodução de O_2 produz radicais livres de oxigênio, particularmente por formas de radicais livres da CoQ na cadeia de transporte de elétrons. Esses também podem abrir o MPTP. O papel dos radicais livres na lesão por isquemia-perfusão é discutido em detalhes no Capítulo 24.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Cora Nari. A trombólise estimulada por ativador do plasminogênio tecidual (TPA) intravenoso reestabeleceu o O_2 para o músculo cardíaco de **Cora Nari** e diminuiu com sucesso a extensão da lesão isquêmica. A base teórica para a utilização de TPA dentro de 4 a 6 horas após o início de infarto do miocárdio se relaciona com a função do sistema fibrinolítico intrínseco (ver Capítulo 45). Esse sistema é desenvolvido para dissolver coágulos intravasculares indesejados pela ação da enzima plasmina, uma protease que digere a matriz de fibrina dentro do coágulo. O TPA estimula a conversão de plasminogênio à sua forma ativa, plasmina. O resultado é uma lise do trombo e fluxo sangüíneo aumentado através de um vaso previamente obstruído, permitindo que substratos energéticos e oxigênio cheguem às células do coração. A proteína TPA humana utilizada na Sra. Nari é produzida por tecnologia de DNA recombinante (ver Capítulo 17). Esse tratamento rapidamente reestabelece o suprimento de oxigênio do coração.

Além de transcrição aumentada de genes codificando enzimas do ciclo do TCA e algumas outras enzimas da oxidação de substrato energético, o hormônio tireóideo aumenta os níveis de UCP2 e UCP3. No hipertireoidismo, a eficiência com a qual energia é derivada da oxidação desses substratos energéticos é significantemente menor do que o normal. Como conseqüência da velocidade aumentada da cadeia de transporte de elétrons, o hipertireoidismo resulta em produção aumentada de calor. Os pacientes com hipertireoidismo, como **X.S. Teefore**, se queixam constantemente de sentir calor e de sudorese.

X. S. Teefore. O Sr. Teefore pode ser tratado com fármacos antitireóideos, por ressecção subtotal da glândula tireóide, ou com iodo radioativo. O tratamento de sucesso normaliza a secreção de hormônio tireóideo, e todos os sinais, sintomas e alterações metabólicas de hipertireoidismo rapidamente desaparecem.

Ivy Sharer. No caso de **Ivy Sharer**, um processo miopático difuso foi sobreposto à sua AIDS e à sua tuberculose pulmonar, que poderiam ter causado fraqueza progressiva. Além disso, ela poderia estar sofrendo de uma miopatia congênita de mtDNA, sintomática apenas com a idade. Um processo diagnóstico sistemático, contudo, levou seu médico a concluir que a miopatia era causada por um distúrbio da fosforilação oxidativa induzido pelo tratamento com zidovudina (AZT). Felizmente, quando AZT foi interrompida, os sintomas miopáticos de Ivy gradualmente desapareceram. Uma biópsia de músculo esquelético repetida quatro meses após mostrou que o mtDNA das células do músculo esquelético tinha sido reestabelecido para o normal e que ela tinha sofrido um distúrbio reversível induzido por fármaco da fosforilação oxidativa.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Mitocôndria e apoptose. A perda de integridade mitocondrial é uma rota principal para o início da apoptose (ver Capítulo 18, Seção V). O espaço intermembrana contém pró-caspases -2, -3 e -9, as quais são enzimas proteolíticas que estão na forma de zimogênios (ou seja, devem ser proteoliticamente quebradas para serem ativas). Ele também contém o fator iniciador da apoptose (AIF, do inglês *apostosis initiating factor*) DNAase ativada por caspase (CAD, do inglês *caspase-activated DNAase*). O citocromo c, o qual é fracamente ligado à membrana externa da mitocôndria, também pode entrar no espaço intermembrana quando o gradiente de potencial eletroquímico é perdido. A liberação de citocromo c e de outras proteínas no citosol inicia a apoptose.

O citocromo c ativa alostericamente o fator citosólico de ativação da apoptose (Apaf-1), o qual ativa o iniciador caspase-9. Caspase-9, por sua vez, ativa os efetores caspase-3, -6 e -7 por quebra proteolítica, os quais, então, degradam proteínas citoplasmáticas. O AIF, o qual tem uma seqüência de direcionamento para o núcleo, é transportado para o núcleo onde ele inicia a condensação e a degradação da cromatina. Caspase-2 e caspase-9 também ativam a CAD, a qual migra para o núcleo e hidrolisa ligações no nDNA.

Mas como são liberados o citocromo c e as outras proteínas? O poro VDAC não é grande o suficiente para permitir a passagem de proteínas. Diversas teorias têm sido propostas, cada uma apoiada e contradita por evidência experimental. Uma é que Bax (um membro da família Bcl-2 de proteínas que forma um canal de íons na membrana externa da mitocôndria) permite a entrada de íons no espaço intermembrana, causando edema desse espaço e ruptura da membrana externa da mitocôndria. Outra teoria é que Bax e VDAC (o qual se sabe que se liga a Bax e a outros membros da família Bcl-2) se combinam para formar um poro extremamente grande, muito maior do que os formados por eles isolados. Finalmente, é possível que MPTP ou ANT participem na ruptura da membrana externa, mas fecham de uma maneira que ainda fornece energia para a apoptose.

Leituras Sugeridas

Boyer PD. A perspective of the binding change mechanism for ATP synthesis. FASEB J 1989;3:2164-2178.

Brown GC. Control of respiration and ATP synthesis in mammalian mitochondria and cells. Biochem J 1992,284: 1-11.

Lactic acidosis and mitochodrial myopathy in a young woman. Nutr Rev 1988;46:157-163.

Halestrap AP. The mitochondrial permeability transition: its molecular mechanism and role in reperfusion injury. Biochem Soc Symp 1999;66:181-203.

Lowell BB, Spiegelman BM. Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. Nature 2000;404:652-660.

Olson RD; Mushlin PS. Doxorubicin cardiotoxicity: analysis of prevailing hypotheses. FASEB J 1990;4:3076-3086.

Shoffner JM. Oxidative phosphorylation diseases. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, vol II. 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:2367-2424.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 21

1. Considere o seguinte experimento. Mitocôndrias cuidadosamente isoladas de fígado foram incubadas na presença de uma quantidade limitada de malato. Três minutos após adicionar o substrato, cianeto é adicionado, e é permitido que a reação prossiga por mais sete minutos. Nesse ponto, qual dos seguintes componentes da cadeia de transporte de elétrons estará no estado oxidado?

   (A) Complexo I
   (B) Complexo II
   (C) Complex III
   (D) Coenzima Q
   (E) Citocromo c

2. Considere o seguinte experimento. Mitocôndrias cuidadosamente isoladas de fígado são colocadas em uma solução fracamente tamponada. Malato é adicionado como fonte de energia, e um consumo aumentado de oxigênio confirma que a cadeia de transporte de elétrons está funcionando de forma adequada dentro dessas organelas. Valinomicina e potássio são adicionados à suspensão de mitocôndrias. A valinomicina é um fármaco que permite que íons potássio cruzem livremente a membrana interna da mitocôndria. Qual é o efeito da valinomicina sobre a força próton-motriz de que tinha sido gerada pela oxidação do malato?

   (A) A força próton-motriz será reduzida ao valor zero.
   (B) Não haverá alteração na força próton-motriz.
   (C) A força próton-motriz será aumentada.
   (D) A força próton-motriz será diminuída, mas para um valor maior do que zero.
   (E) A força próton-motriz será diminuída para um valor menor do que zero.

3. O dinitrofenol age como um desacoplador da fosforilação oxidativa por qual dos seguintes mecanismos?

   (A) Ativando a H^+-ATPase.
   (B) Ativando a coenzima Q.
   (C) Bloqueando o transporte de prótons através da membrana interna da mitocôndria.
   (D) Permitindo a troca de prótons através da membrana interna da mitocôndria.
   (E) Aumentando o transporte de oxigênio através da membrana interna da mitocôndria.

4. Uma mulher de 25 anos apresenta fadiga crônica. Foi solicitada uma série de exames de sangue, e os resultados sugerem que a contagem de células sangüíneas vermelhas está baixa devido à anemia por deficiência de ferro. Tal deficiência levaria à fadiga por qual dos seguintes mecanismos?

   (A) A diminuição de seus centros Fe-S está impedindo a transferência de elétrons na cadeia de transporte de elétrons.
   (B) Ela não está produzindo tanta H_2O na cadeia de transporte de elétrons, levando à desidratação, a qual resulta em fadiga.
   (C) Ferro forma um quelato com NADH e FAD(2H) que é necessário para eles doarem seus elétrons para a cadeia de transporte de elétrons.
   (D) Ferro age como um co-fator para a α-cetoglutarato-desidrogenase no ciclo do TCA, uma reação necessária para o fluxo de elétrons através da cadeia de transporte de elétrons.
   (E) Ferro acompanha os prótons que são bombeados da matriz mitocondrial. Sem ferro, o gradiente de prótons não pode ser mantido para a produção adequada de ATP.

5. Qual das seguintes condições é esperada em um paciente com uma doença OXPHOS?

   (A) Uma razão ATP:ADP alta na mitocôndria
   (B) Uma razão NADH:NAD^+ alta na mitocôndria
   (C) Uma deleção do cromossomo X
   (D) Uma alta atividade do complexo II da cadeia de transporte de elétrons
   (E) Um defeito na integridade da membrana interna da mitocôndria

22 Produção de ATP a Partir de Glicose: Glicólise

*A **glicose** é o substrato energético universal para as células humanas. Cada tipo celular nos humanos é capaz de produzir trifosfato de adenosina (ATP) a partir de glicólise, a rota na qual a glicose é oxidada e quebrada para formar piruvato. A importância da glicólise na economia de substrato energético no corpo humano está relacionada com a disponibilidade de glicose no sangue, bem como a habilidade da glicólise de produzir ATP na presença e na ausência de O_2. A glicose é o principal açúcar na dieta e o carboidrato que circula no sangue para garantir que todas as células tenham um fornecimento de substrato energético contínuo. O cérebro utiliza glicose quase exclusivamente como um substrato energético.*

*A **glicólise** inicia com a fosforilação de glicose a glicose-6-fosfato (**glicose-6-P**) pela **hexoquinase** (HK). Nas etapas subseqüentes da rota, uma molécula de glicose-6-fosfato é oxidada em duas moléculas de **piruvato** com produção de duas moléculas de **NADH** (Figura 22.1). Ocorre uma produção total de duas moléculas de ATP pela transferência direta de **fosfato rico em energia** a partir de intermediários da rota para ADP (**fosforilação em nível de substrato**).*

*A glicólise ocorre no **citosol** e produz NADH citosólico. Devido ao fato de o NADH não poder atravessar a membrana interna da mitocôndria, seus equivalentes de redução são transferidos para a cadeia de transporte de elétrons pela **lançadeira de malato-aspartato** ou pela **lançadeira de glicerol-3-fosfato** (ver Figura 22.1). O piruvato é, então, completamente oxidado a CO_2 pela piruvato-desidrogenase e pelo ciclo do piruvato. A **oxidação aeróbica** completa de glicose a CO_2 pode produzir aproximadamente **30 a 32 moles de ATP por mol de glicose**.*

*Quando as células têm um suprimento limitado de oxigênio (p. ex., medula renal), ou poucas ou nenhuma mitocôndria (p. ex., as células vermelhas), ou demandas muito aumentadas para ATP (p. ex., músculo esquelético durante exercício de alta intensidade), elas dependem de **glicólise anaeróbica** para a produção de ATP. Na glicólise anaeróbica, a **lactato-desidrogenase** oxida o NADH produzido a partir de glicólise pela redução de piruvato a **lactato** (Figura 22.2). Devido ao fato de o O_2 não ser necessário para reoxidar o NADH, a rota é referida como anaeróbica. A liberação de energia a partir da glicólise anaeróbica (2 moles de ATP por mol de glicose) é muito menor do que a liberada pela oxidação aeróbica. O lactato (ácido láctico) é liberado para o sangue. Sob condições patológicas que causam **hipoxia**, tecidos podem produzir ácido láctico o suficiente para causar **acidemia láctica**.*

*Em cada célula, a glicólise é regulada para garantir que a **homeostase de ATP** seja mantida, sem utilizar mais glicose do que o necessário. Na maioria dos tipos celulares, a **hexoquinase** (**HK**), a primeira enzima da glicólise, é inibida por glicose-6-fosfato (ver Figura 22.1). Assim, a glicose não é captada e fosforilada por uma célula a menos que glicose-6-fosfato entre em uma rota metabólica, como a glicólise ou a síntese de glicogênio. O controle da entrada da glicose-6-P na glicólise ocorre na fosfofrutoquinase-1 (**PFK-1**), a enzima limitante de velocidade da rota. A PFK-1 é **alostericamente inibida** por **ATP** e **alostericamente ativada** por **AMP**. O AMP aumenta no citosol quando ATP é hidrolisado por reações que necessitam de energia.*



Para a glicose-6-fosfato e outros fosfoésteres de glicídeos, o grupo fosfato será indicado por "P" como em glicose-6-P.

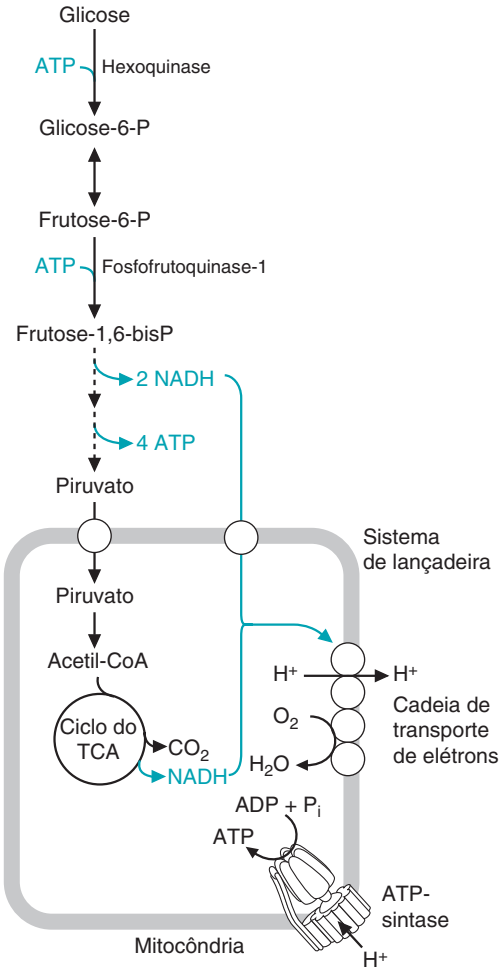


Figura 22.2 Glicólise anaeróbica (mostrado em azul). A conversão de glicose a lactato produz 2 ATP a partir de fosforilação em nível de substrato. Devido ao fato de não haver produção de NADH, não há necessidade de O_2, e, assim, a rota é anaeróbica.

A glicólise tem funções além da produção de ATP. Por exemplo, no fígado e no tecido adiposo, essa rota produz piruvato como um precursor para a ***biossíntese de ácidos graxos****. A glicólise também fornece precursores para a síntese de compostos, como aminoácidos e glicídeos fosfato de 5 carbonos.*

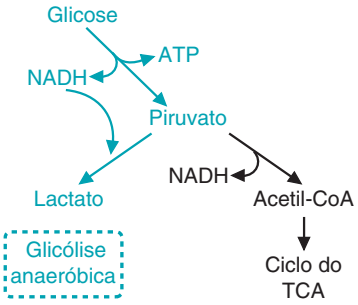


Figura 22.1 Visão geral de glicólise e ciclo do TCA.

SALA DE ESPERA

Lopa Fusor é uma mulher de 68 anos que foi admitida na emergência do hospital com pressão sangüínea muito baixa (80/40 mmHg) causada por uma hemorragia aguda de uma úlcera no estômago previamente diagnosticada. O sangramento da úlcera do estômago de Lopa reduziu bastante seu volume de sangue efetivo, o suficiente para comprometer sua habilidade de perfundir (distribuir sangue para) seus tecidos. Ela é, portanto, uma "baixa perfundidora". Sabe-se também que ela tem doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) como resultado de fumar por 42 anos duas carteiras de cigarro por dia. Sua freqüência respiratória é rápida e trabalhosa, a

pele é fria e úmida, e os lábios são levemente azulados (cianóticos). Ela parece ansiosa e um pouco confusa.

Quando são tomadas medidas apropriadas na emergência para estabilizar e elevar a pressão sangüínea, sangue é enviado para tipagem sangüínea e reação cruzada imediata, para que possa ser iniciada transfusão sangüínea. Uma bateria de testes de laboratório é solicitada, incluindo hemoglobina venosa, hematócrito, níveis de lactato e pH sangüíneo arterial, pressões parciais de oxigênio (pO_2) e dióxido de carbono (pCO_2), bicarbonato e saturação de oxigênio. Os resultados mostram que a hemorragia e a DPOC resultaram em hipoxemia, com distribuição diminuída de oxigênio para os tecidos, e acidoses respiratória e metabólica.



Otto Shape, um estudante de medicina de 26 anos, ganhou peso durante seu primeiro ano sedentário na faculdade. Durante o segundo ano, ele passou a ter cuidado com a dieta, a realizar corridas de uma hora quatro vezes por semana e a jogar tênis duas vezes por semana. Ele decidiu competir em uma corrida de 5 km. Para se preparar para a corrida, ele começa o treino com corridas de velocidade e pequena distância (*sprints*), alternando períodos de corrida e caminhada.



Ivan Applebod é um contador de 56 anos com obesidade mórbida (ver Capítulos 1 a 3). Ele decidiu consultar o dentista por sentir uma dor muito forte nos dentes quando comia sorvete. Ele gosta muito de doces e mantém balas em seus bolsos. O dentista observou pela história do Sr. Applebod que ele teve diversas cáries nos dentes de leite quando criança. Nessa consulta, o dentista encontrou cáries em dois dentes do Sr. Applebod.



O hematócrito (a porcentagem do volume de sangue ocupado por células sangüíneas vermelhas) e o conteúdo de hemoglobina (g de hemoglobina em 100 mL de sangue) são medidos para determinar se a capacidade de transporte de oxigênio do sangue é adequada. Eles podem ser diminuídos por condições que interferem na eritropoiese (síntese de células sangüíneas vermelhas na medula óssea), como a deficiência de ferro. Eles também podem estar diminuídos durante sangramento crônico, mas não durante hemorragia aguda, se o líquido intersticial substitui o volume de sangue perdido e dilui as células sangüíneas vermelhas. A pCO_2 e a pO_2 são as pressões parciais de O_2 e CO_2 no sangue. A pO_2 e a saturação de oxigênio determinam se oxigênio adequado está disponível para os tecidos. A medida de pCO_2 e bicarbonato pode distinguir entre acidose metabólica e respiratória (ver Capítulo 4).

I. GLICÓLISE

A glicólise é uma das principais rotas para a produção de ATP nas células e está presente em todos os tipos celulares. O papel central da glicólise no metabolismo de substrato energético está relacionado à sua habilidade de produzir ATP com e sem oxigênio. A oxidação de glicose a piruvato produz ATP a partir de fosforilação em nível de substrato (a transferência de fosfato de intermediários ricos em energia da rota para ADP) e NADH. Subseqüentemente, o piruvato pode ser oxidado a CO_2 no ciclo do TCA, e o ATP pode ser produzido a partir da transferência de elétrons para o oxigênio na fosforilação oxidativa. Contudo, se o piruvato e o NADH a partir da glicólise são convertidos a lactato (glicólise anaeróbica), o ATP pode ser produzido na ausência de oxigênio, por meio de fosforilação em nível de substrato.

A glicose é prontamente disponível a partir da dieta, de reservas internas de glicogênio e do sangue. Os carboidratos fornecem 50% ou mais das calorias na maioria das dietas, e a glicose é o principal carboidrato. Outros açúcares da dieta, como frutose e galactose, são oxidados pela conversão a intermediários da glicólise. A glicose é armazenada nas células como glicogênio, o qual pode fornecer uma fonte interna de substrato energético para a glicólise em situações de emergência (p. ex., fornecimento diminuído de substratos energéticos e oxigênio durante isquemia, um fluxo baixo de sangue). A insulina e outros hormônios mantêm a glicose sangüínea em um nível constante (homeostase da glicose), garantindo, assim, que a glicose esteja sempre disponível para as células que dependem da glicólise para a produção de ATP.

Além de servir como uma fonte anaeróbica e aeróbica de ATP, a glicólise é uma rota anabólica que fornece precursores para a biossíntese. Por exemplo, no fígado e no tecido adiposo, essa rota produz piruvato como um precursor para a biossíntese de ácidos graxos. A glicólise também fornece precursores para a síntese de compostos, como aminoácidos e ribose-5-fosfato, o precursor de nucleotídeos. A integração da glicólise com outras rotas anabólicas é discutida no Capítulo 36.



Após uma refeição rica em carboidratos, a glicose é o principal substrato energético para quase todos os tecidos. Exceções incluem células da mucosa intestinal, as quais transportam glicose do intestino para o sangue, e células nos túbulos contorcidos proximais dos rins, os quais retornam a glicose do filtrado renal para o sangue. Durante jejum, o cérebro continua a oxidar glicose, pois tem uma capacidade limitada para a oxidação de ácidos graxos ou outros substrato energético. As células também continuam a utilizar a glicose para a porção da sua produção de ATP que deve ser fornecida pela glicólise anaeróbica, devido a um fornecimento limitado de oxigênio ou a uma capacidade limitada de fosforilação oxidativa (p. ex., as células sangüíneas vermelhas).

A. As Reações da Glicólise

A rota glicolítica, a qual quebra 1 mol de glicose em 2 moles de compostos de 3 carbonos, consiste em uma fase preparatória para uma fase de produção de ATP. Na fase preparatória inicial, a glicose é fosforilada duas vezes por ATP e quebrada em dois trio-

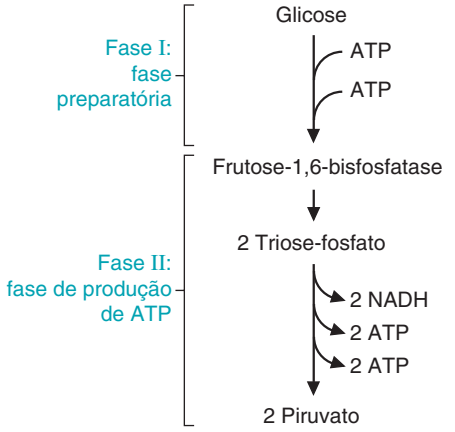


Figura 22.3 Fases da rota glicolítica.

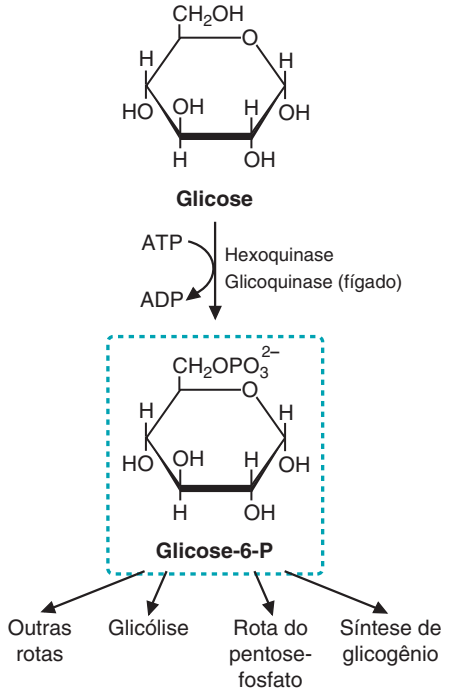


Figura 22.4 Metabolismo da glicose-6-fosfato.

Hexoquinases, outras quinases e muitas outras enzimas que catalisam reações envolvendo a hidrólise de ATP necessitam de Mg^{2+}. O Mg^{2+} forma um complexo com os grupos fosfato do ATP. As quinases também necessitam de K^+.

se-fosfatos (Figura 22.3). O gasto de ATP no início da fase preparatória algumas vezes é chamado de "fase de investimento" (*priming the pump*), pois essa utilização inicial de 2 moles de ATP/mol de glicose resulta na produção de 4 moles de ATP/mol de glicose na fase de produção de ATP.

Na fase de produção de ATP, o gliceraldeído-3-fosfato (um triose-fosfato) é oxidado por NAD^+ e fosforilado utilizando fosfato inorgânico. A ligação de fosfato rica em energia produzida nessa etapa é transferida para ADP para formar ATP. O fosfato remanescente também é rearranjado para formar outra ligação de fosfato rica em energia que é transferida para o ADP. Como são formados 2 moles de triose-fosfato, a liberação da fase de produção de ATP é 4 ATP e 2 NADH. O resultado é uma produção líquida de 2 moles de ATP, 2 moles de NADH e 2 moles de piruvato por mol de glicose.

1. CONVERSÃO DE GLICOSE A GLICOSE-6-FOSFATO

O metabolismo de glicose inicia com a transferência de um fosfato do ATP para a glicose para formar glicose-6-P (Figura 22.4). A fosforilação de glicose a destina para o metabolismo dentro das células, pois a glicose-6-P não pode ser transportada de volta através da membrana plasmática. A reação de fosforilação é irreversível sob condições fisiológicas, pois a reação tem um $\Delta G^{0'}$ negativo alto. A fosforilação não determina, contudo, que o destino da glicose seja para a glicólise.

A glicose-6-P é um ponto de ramificação no metabolismo de carboidratos. Ela é um precursor para quase toda a rota que utiliza a glicose, incluindo a glicólise. Pelo ponto de vista oposto, ela não pode ser produzida por outras rotas do metabolismo de carboidratos, como a glicogenólise (quebra de glicogênio), a rota do pentose-fosfato e a gliconeogênese (a síntese de glicose a partir de fontes que não são carboidratos).

As hexoquinases, as enzimas que catalisam a fosforilação de glicose, são uma família de isoenzimas tecido-específicas que diferem em suas propriedades cinéticas. A isoenzima encontrada no fígado e nas células β do pâncreas tem um K_m muito mais alto do que as outras hexoquinases e é chamada de glicoquinase. Em muitas células, algumas das hexoquinases estão ligadas a porinas na membrana externa da mitocôndria (canais de ânion dependentes de voltagem; ver Capítulo 21), as quais proporcionam a essas enzimas o primeiro acesso ao ATP recém-sintetizado quando ele sai da mitocôndria.

2. CONVERSÃO DE GLICOSE-6-P EM TRIOSE-FOSFATOS

No restante da fase preparatória da glicólise, a glicose-6-P é isomerizada a frutose-6-fosfato (frutose-6-P), novamente fosforilada e subseqüentemente quebrada em fragmentos de 3 carbonos (Figura 22.5). A isomerização, que posiciona um grupo carbonila próximo ao carbono 3, é essencial para a quebra subseqüente das ligações entre os carbonos 3 e 4.

A próxima etapa da glicólise, a fosforilação de frutose-6-P em frutose-1,6-bisfosfato (frutose-1,6-bisP) pela fosfofrutoquinase-1 (PFK-1), em geral é considerada a primeira etapa que determina a velocidade dessa rota. Essa fosforilação necessita de ATP e é termodinâmica e cineticamente irreversível. Portanto, a PFK-1 destina de forma irreversível a glicose para a rota glicolítica. A PFK-1 é uma enzima regulada nas células, e sua regulação controla a entrada da glicose na glicólise. Como a hexoquinase, ela existe como isoenzimas tecido-específicas cujas propriedades regulatórias correspondem a variações no papel da glicólise em diferentes tecidos.

A frutose-1,6-bisP é quebrada em dois compostos fosforilados de 3 carbonos (triose-fosfatos) pela aldolase (ver Figura 22.5). O diidroxiacetona-fosfato (DHAP) é isomerizado em gliceraldeído-3-fosfato (gliceraldeído-3-P), o qual é um triose-fosfato. Assim, para cada mol de glicose entrando na glicólise, 2 moles de gliceraldeído-3-fosfato continuam através da rota.

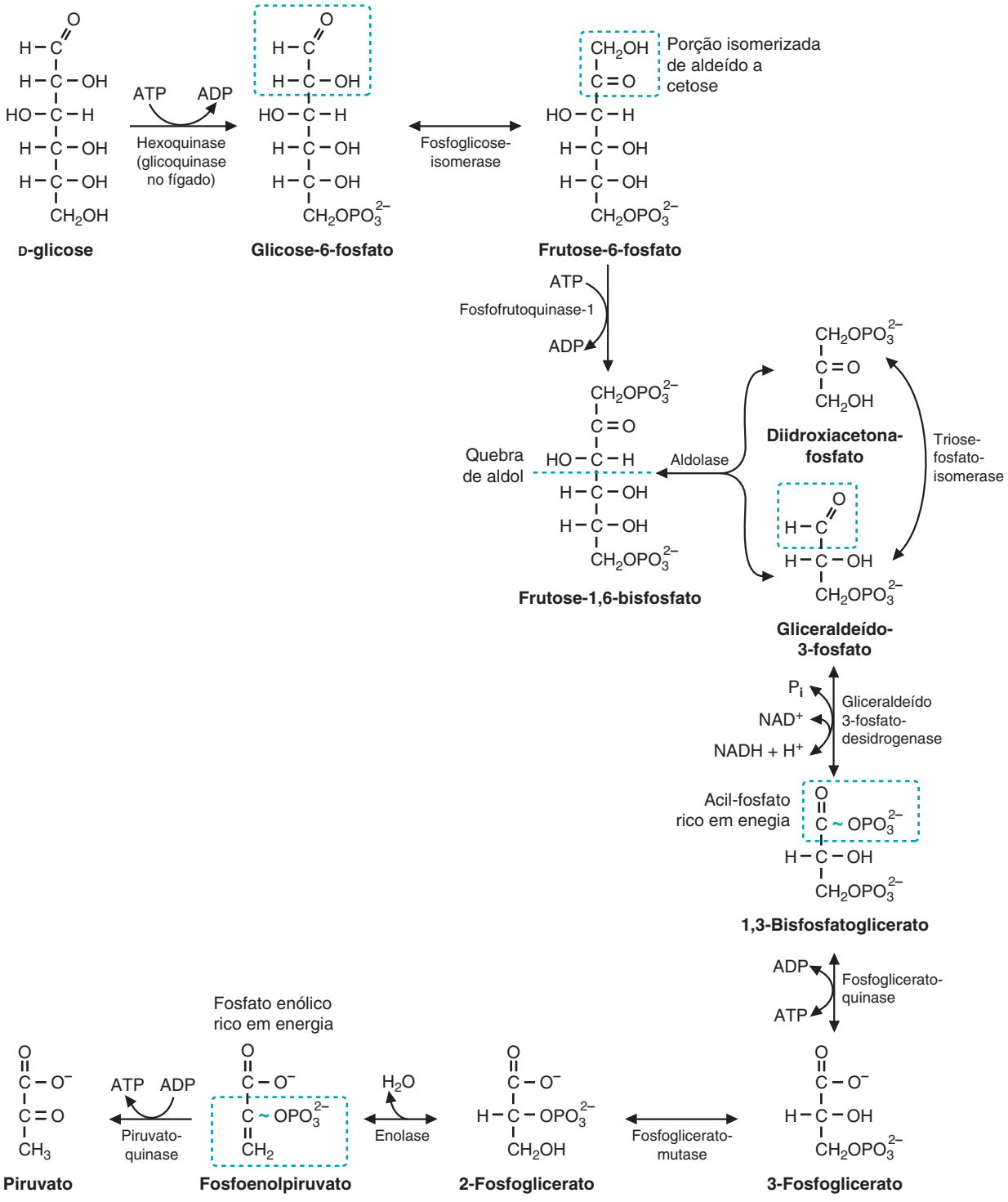


Figura 22.5 Reações da glicólise. Os fosfatos ricos em energia são mostrados em azul.

A aldolase é denominada a partir do mecanismo da reação direta, que é uma quebra aldólica, e do mecanismo da reação inversa, que é uma condensação aldólica. A enzima existe como isoenzimas tecido-específicas, as quais catabolizam a quebra de frutose-1,6-bisfosfato, mas diferem em suas especificidades para a frutose-1-P. A enzima usa o resíduo de lisina no sítio ativo para formar uma ligação covalente com o substrato durante o curso da reação. A inabilidade de formar essa ligação covalente inativa a enzima.

3. OXIDAÇÃO E FOSFORILAÇÃO EM NÍVEL DE SUBSTRATO

Na etapa seguinte da rota glicolítica, o gliceraldeído-3-P é oxidado e fosforilado, de tal forma que intermediários da glicólise podem doar fosfato para ADP e produzir ATP. A primeira reação nessa seqüência, catalisada por gliceraldeído-3-P-desidrogenase, é realmente a chave para a rota (ver Figura 22.5). Essa enzima oxida o grupo aldeído a gliceraldeído em um grupo carboxila ligado à enzima e transfere os elétrons para NAD^+ para formar NADH. A etapa de oxidação é dependente de um resíduo de cisteína no sítio ativo da enzima, a qual forma uma ligação de tioéster rica em energia durante o curso da reação. O intermediário rico em energia imediatamente recebe um fosfato inorgânico da ligação de acil-fosfato rica em energia no 1,3-bisfosfoglicerato, liberando o produto a partir do resíduo de cisteína na enzima. Essa ligação de fosfato rica em energia é o início da fosforilação em nível de substrato (a formação de uma ligação de fosfato rica em energia em que previamente não existia nenhuma, sem a utilização de oxigênio).

Na reação seguinte, o fosfato nessa ligação é transferido para ADP para formar ATP pela 3-fosfoglicerato-quinase. A energia da ligação de acil-fosfato é alta o suficiente (~13 kcal/mol), de tal modo que a transferência para ADP é um processo energeticamente favorável. O 3-fosfoglicerato também é um produto dessa reação.

Para transferir o fosfato da ligação de fosfoéster, baixa em energia, do 3-fosfoglicerato para ADP, ele deve ser convertido a uma ligação rica em energia. Essa conversão é realizada pelo deslocamento do fosfato para o segundo carbono (formando 2-fosfoglicerato) e, então, removendo água para formar fosfoenolpiruvato (PEP). A ligação de enolpiruvato é uma ligação rica em energia (sua hidrólise libera aproximadamente 14 kcal/mol de energia); assim, a transferência de fosfato para ADP pela piruvato-quinase é energeticamente favorável (ver Figura 22.5). Essa reação final converte PEP a piruvato.

As quinases transferem um fosfato de ATP para outro composto. As hexoquinases transferem fosfato para glicose ou outra hexose para formar um hexose-fosfato. A 3-fosfoglicerato-quinase é denominada a partir da reação que é o inverso da glicólise, transferência de fosfato de ATP para 3-fosfoglicerato para formar 1,3-bisfosfoglicerato. A piruvato-quinase também é denominada pela reação inversa (fosforilação de piruvato por ATP), embora essa direção não ocorra sob condições fisiológicas.

4. RESUMO DA ROTA GLICOLÍTICA

A reação geral da rota glicolítica é:

$$\text{Glicose} + 2\ NAD^+ + 2\ P_i + 2\ ADP \rightarrow 2\ \text{Piruvato} + 2\ NADH + 4\ H^+ + 2\ ATP + 2\ H_2O$$

A rota ocorre com um $\Delta G^{0'}$ total negativo de aproximadamente –22 kcal. Portanto, ela não pode ser revertida sem o gasto de energia.

B. Destinos Oxidativos de Piruvato e NADH

O NADH produzido pela glicólise deve ser continuamente reoxidado de volta a NAD^+ para servir de aceptor de elétron para a reação da gliceraldeído-3-P-desidrogenase e impedir a produção por produto. Sem a oxidação desse NADH, a glicólise não pode continuar. Há duas rotas alternativas para a oxidação do NADH citosólico (Figura 22.6). Uma rota é aeróbica, envolvendo lançadeiras que transferem equivalentes de redução através da membrana mitocondrial e finalmente para a cadeia de transporte de elétrons e oxigênio (ver Figura 22.6A). A outra rota é anaeróbica (sem o uso de oxigênio). Na glicólise anaeróbica, o NADH é reoxidado no citosol pela lactato-desidrogenase, a qual reduz piruvato a lactato (ver Figura 22.6B).

O destino do piruvato depende da rota utilizada para a oxidação do NADH. Se o NADH é reoxidado no sistema de transporte, o piruvato pode ser utilizado por outras rotas, uma das quais é a oxidação a acetil-CoA e a entrada no ciclo do TCA para a oxidação completa. De forma alternativa, na glicólise anaeróbica, o piruvato é reduzido a lactato e desviado de outras rotas potenciais. Assim, o uso do sistema de transporte permite que mais ATP seja produzido do que por glicólise anaeróbica pela oxidação de NADH derivado do citoplasma na cadeia de transporte de elétrons, permitindo que o piruvato seja completamente oxidado a CO_2.

A razão pela qual lançadeiras são necessárias para a oxidação de NADH citosólico pela cadeia de transporte de elétrons é que a membrana interna da mitocôndria é impermeável a NADH, e não existe proteína transportadora que possa translocar dire-

A confusão sofrida por **Lopa Fusor** na emergência é causada por um fornecimento inadequado de oxigênio para o cérebro. Os neurônios têm necessidades muito altas de ATP, e a maioria desse ATP é fornecida pela oxidação aeróbica de glicose a piruvato na glicólise e pela oxidação de piruvato a CO_2 no ciclo do TCA. O cérebro tem pouca ou nenhuma capacidade de oxidar ácidos graxos, e, portanto, seu consumo de glicose é alto (aproximadamente 125 a 150 g/dia no adulto). Suas necessidades de oxigênio são também altas. Se o fornecimento cerebral de oxigênio fosse completamente interrompido, o cérebro sobreviveria apenas 10 segundos. A única razão pela qual a consciência dura mais tempo durante anoxia ou asfixia é que ainda há algum oxigênio nos pulmões e no sangue circulante. Uma diminuição do fluxo sangüíneo para aproximadamente metade da taxa normal resulta em uma perda de consciência.

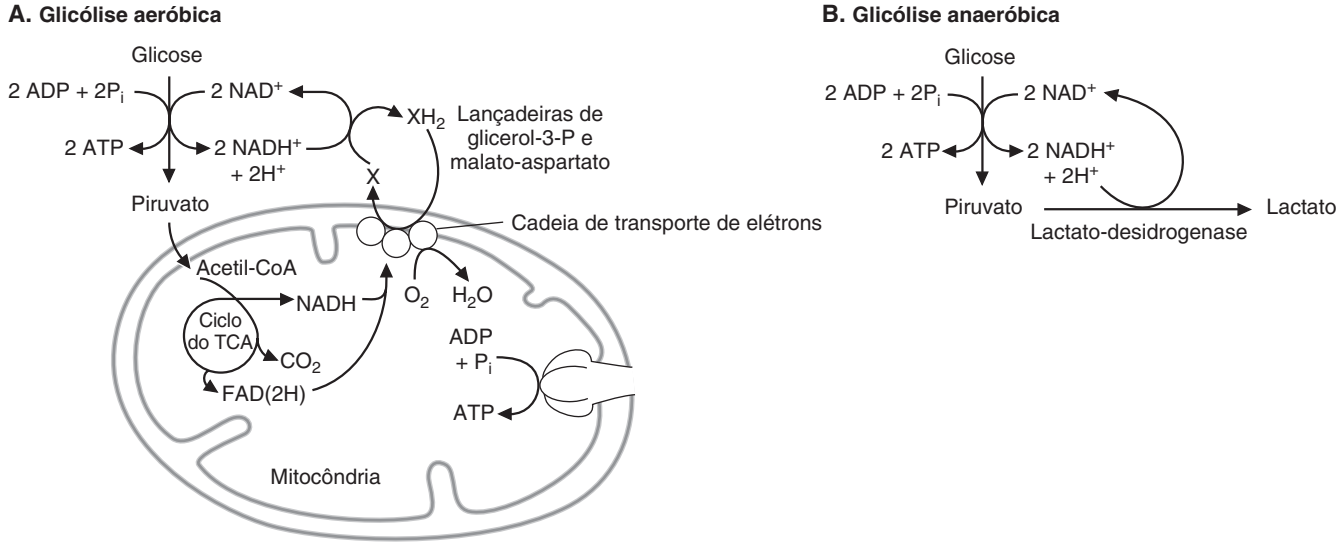


Figura 22.6 Destinos alternativos do piruvato. **A.** O piruvato produzido pela glicólise entra na mitocôndria e é oxidado a CO_2 e H_2O. Os equivalentes de redução no NADH entram na mitocôndria através de um sistema de transporte. **B.** O piruvato é reduzido a lactato no citosol, utilizando, assim, os equivalentes de redução no NADH.

tamente NADH através dessa membrana. Como conseqüência, o NADH é reoxidado a NAD^+ no citosol por uma reação que transfere os elétrons para DHAP na lançadeira de glicerol-3-fosfato (glicerol-3-P) e o oxaloacetato na lançadeira de malato-aspartato. O NAD^+ que é formado no citosol retorna para a glicólise, enquanto a glicerol-3-P ou o malato carregam os equivalentes de redução que finalmente são transferidos através da membrana interna da mitocôndria. Assim, esses transportadores transferem elétrons e não NADH *per se*.

1. LANÇADEIRA DE GLICEROL-3-FOSFATO

A lançadeira de glicerol-3-fosfato é o principal transportador na maioria dos tecidos. Nesse transportador, o NAD^+ citosólico é regenerado pela glicerol-3-fosfato-desidrogenase, a qual transfere elétrons de NADH para DHAP para formar glicerol-3-fosfato (Figura 22.7). O glicerol-3-fosfato, então, se difunde através da membrana externa da mitocôndria, onde os elétrons são doados para uma glicerol-fosfato-desidrogenase contendo flavina-adenina-dinucleotídeo (FAD) ligado à membrana. Essa enzima, como a succinato-desidrogenase, finalmente doa elétrons para a CoQ, resultando em uma liberação de energia de aproximadamente 1,5 ATP da fosforilação oxidativa. O diidroxiacetona-fosfato retorna para o citosol para continuar o transporte. A soma das reações nesse sistema de transporte é simplesmente:

$$NADH_{citosol} + H^+ + FAD_{mitocôndria} \rightarrow NAD^+_{citosol} + FAD(2H)_{mitocôndria}$$

2. LANÇADEIRA DE MALATO-ASPARTATO

Muitos tecidos contêm ambas as lançadeiras de glicerol-3-P e malato-aspartato. Na lançadeira malato-aspartato (Figura 22.8), o NAD^+ citosólico é regenerado pela malato-desidrogenase citosólica, a qual transfere elétrons a partir de NADH para o oxaloacetato citosólico para formar malato. O malato é transportado através da membrana interna da mitocôndria por uma translocase específica, a qual troca malato por α-cetoglutarato. Na matriz, o malato é oxidado de volta a oxaloacetato pela malato-desidrogenase mitocondrial, e NADH é produzido. Esse NADH pode doar elétrons para a cadeia de transporte de elétrons com produção de aproximadamente 2,5 moles de ATP por mol de NADH. O oxaloacetato recém-formado não pode passar de volta através da

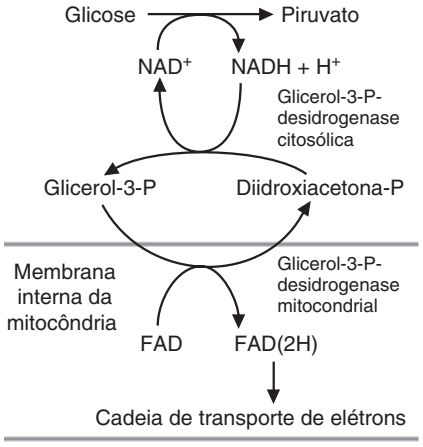


Figura 22.7 Lançadeira de glicerol-3-fosfato. Devido ao fato de NAD^+ e NADH não poderem atravessar a membrana interna da mitocôndria, as lançadeiras transferem equivalentes de redução para dentro da mitocôndria. O diidroxiacetona-fosfato (DHAP) é reduzido a glicerol-3-P pela glicerol-3-P-desidrogenase citosólica, utilizando o NADH citosólico produzido na glicólise. O glicerol-3-P, então, reage na membrana interna da mitocôndria com a glicerol-3-P-desidrogenase mitocondrial, a qual transfere os elétrons para FAD e regenera DHAP, o qual retorna para o citosol. A cadeia de transporte de elétrons transfere os elétrons para O_2, o qual produz aproximadamente 1,5 ATP para cada FAD(2H) que é oxidado.

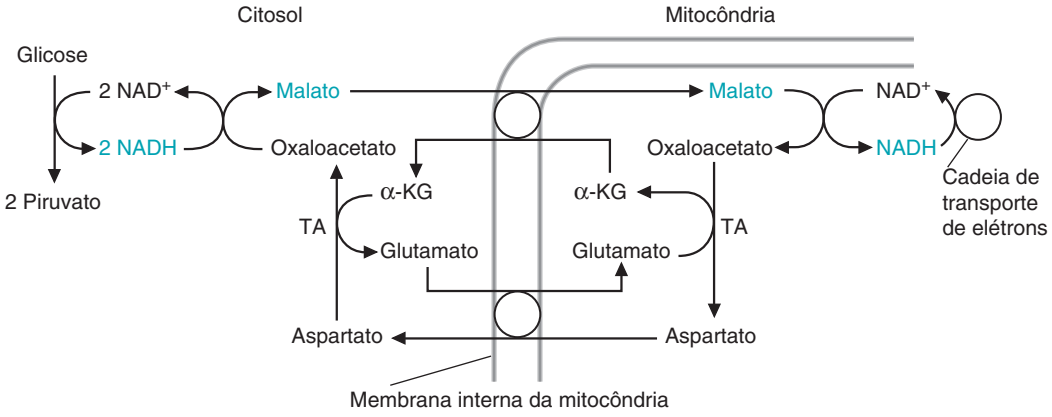


Figura 22.8 Lançadeira de malato-aspartato. O NADH produzido por glicólise reduz o oxaloacetato (OAA) a malato, o qual atravessa a membrana mitocondrial e é reoxidado a OAA. O NADH mitocondrial doa elétrons para a cadeia de transporte de elétrons, com 2,5 ATPs produzidos para cada NADH. Para completar o transporte, o oxaloacetato deve retornar para o citosol, embora não possa ser diretamente transportado por uma translocase. Em vez disso, ele é transaminado a aspartato, o qual é, então, transportado para o citosol, onde é transaminado de volta para oxaloacetato. Os translocadores trocam compostos, de tal maneira que o transporte é completamente balanceado. TA = reação de transaminação (do inglês *transamination reaction*). α-KG = α-cetoglutarato.

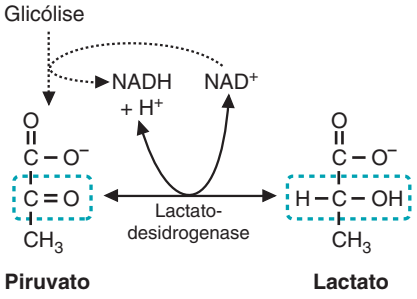


Figura 22.9 Reação da lactato-desidrogenase. O piruvato, o qual pode ser produzido por glicólise, é reduzido a lactato. A reação, que ocorre no citosol, necessita de NADH e é catalisada pela lactato-desidrogenase. Essa reação é prontamente reversível.

membrana interna da mitocôndria sob condições fisiológicas; assim, aspartato é utilizado para retornar o esqueleto de carbono do oxaloacetato para o citosol. Na matriz, reações de transaminação transferem um grupo amino para oxaloacetato para formar aspartato, o qual é transportado para o citosol (utilizando uma translocase trocadora de aspartato/glutamato) e convertido de volta a oxaloacetato através de outra reação de transaminação. A soma de todas as reações desse sistema de transporte é simplesmente:

$$NADH_{citosol} + NAD^+_{matriz} \rightarrow NAD^+_{citosol} + NADH_{matriz}$$

C. Glicólise Anaeróbica

Quando a capacidade oxidativa das células é limitada (p. ex., as células sangüíneas vermelhas, as quais não têm mitocôndrias), o piruvato e o NADH produzidos a partir de glicólise não podem ser oxidados de forma aeróbica. O NADH é, portanto, reoxidado em NAD^+ no citosol pela redução de piruvato a lactato. Essa reação é catalisada pela lactato-desidrogenase (LDH) (Figura 22.9). A reação total para a glicólise anaeróbica é:

$$Glicose + 2\ ADP + 2\ P_i \rightarrow 2\ Lactato + 2\ ATP + 2\ H_2O + 2\ H^+$$

1. LIBERAÇÃO DE ENERGIA DA GLICÓLISE AERÓBICA *VERSUS* ANAERÓBICA

Q: Quais são as etapas geradoras de energia quando o piruvato é completamente oxidado a dióxido de carbono para produzir 12,5 moléculas de ATP por piruvato?

Em ambas glicólises aeróbica e anaeróbica, cada mol de glicose produz 2 moles de ATP, 2 de NADH e 2 de piruvato. A liberação de energia a partir da glicólise anaeróbica (glicose em 2 lactatos) é apenas 2 moles de ATP por mol de glicose, quando o NADH é reciclado a NAD^+ pela redução de piruvato a lactato. Dessa forma, nem o NADH nem o piruvato produzido é utilizado para mais geração de energia. Contudo, quando oxigênio está disponível, e NADH pode ser oxidado por um sistema de lançadeiras de elétrons, o piruvato também pode entrar na mitocôndria e ser completamente oxidado a CO_2 pela piruvato-desidrogenase (PDH) no ciclo do TCA. A oxidação de piruvato por essa rota produz aproximadamente 12,5 moles de ATP por mol de piruvato. Se o NADH citosólico é oxidado pela lançadeira de glicerol-3-P, aproximadamente 1,5 mol de ATP é produzido por NADH. Se, por outro lado, o NADH é oxidado pela lançadeira de malato-aspartato, aproximadamente 2,5 moles são produzidos. Assim, as duas moléculas de NADH produzidas durante a glicólise podem levar à produção de 3 a 5 moléculas de ATP, dependendo de qual sistema de transporte é utilizado para transferir os equivalentes de redução. Como cada piruvato produzido pode originar

Em resposta à hipoxemia causada pela DPOC de **Lopa Fusor**, ela tem fator 1 induzido por hipoxia (HIF-1, do inglês *hypoxia-inducible factor-1*) em seus tecidos. O HIF-1 é um fator de transcrição gênica encontrado em tecidos pelo corpo (incluindo cérebro, coração, rins, pulmão, fígado, pâncreas, músculo esquelético e células sangüíneas vermelhas) que tem um papel homeostático na coordenação da resposta tecidual à hipoxia.
Cada tecido responderá com um grupo das seguintes alterações. O HIF-1 aumenta a transcrição de genes de muitas enzimas glicolíticas, incluindo PFK-1, enolase, fosfoglicerato-quinase e lactato-desidrogenase. O HIF-1 também aumenta a síntese de diversas proteínas que aumentam o fornecimento de oxigênio para os tecidos, incluindo eritropoietina, a qual aumenta a produção de células sangüíneas vermelhas na medula óssea; fator de crescimento vascular endotelial, o qual regula a angiogênese (formação de vasos sangüíneos), e óxido nítrico-sintase induzível, a qual sintetiza óxido nítrico, um vasodilatador. Como conseqüência, a Sra. Fusor era capaz de manter os níveis de hematócrito e hemoglobina na porção superior da variação normal, e seus tecidos tinham uma capacidade aumentada de glicólise anaeróbica.

12,5 moléculas de ATP, o total de ATP que pode ser produzido a partir de um mol de glicose oxidada a dióxido de carbono é de 30 a 32 moléculas.

Para produzir a mesma quantidade de ATP por unidade de tempo a partir de glicólise anaeróbica que a oxidação aeróbica completa de glicose a CO_2, a glicólise anaeróbica deve ocorrer aproximadamente 15 vezes mais rápido e utilizar cerca de 15 vezes mais glicose. As células atingem essa alta velocidade de glicólise pela expressão de altos níveis de enzimas glicolíticas. Em certos músculos esqueléticos e na maioria das células durante crises de hipoxia, altas velocidades de glicólise estão associadas à rápida degradação das reservas internas de glicogênio para o fornecimento necessário de glicose-6-P.

2. PRODUÇÃO ÁCIDA EM GLICÓLISE ANAERÓBICA

A glicólise anaeróbica resulta em produção ácida na forma de H^+. A glicólise forma o ácido pirúvico, o qual é reduzido a ácido láctico. Em um pH intracelular de 7,35, o ácido láctico se dissocia para formar o ânion carboxilato, lactato e H^+ (o pKa para o ácido láctico é 3,85). Lactato e H^+ são ambos transportados para fora da célula para o líquido intersticial por um transportador na membrana plasmática e eventualmente se difundem para o sangue. Se a quantidade de lactato produzida excede a capacidade tamponante do sangue, o pH diminui abaixo da variação normal, resultando em lactoacidose (ver Capítulo 4).

3. TECIDOS DEPENDENTES DE GLICÓLISE ANAERÓBICA

Muitos tecidos, incluindo as células sangüíneas vermelhas e brancas, a medula renal, os tecidos do olho e os músculos esqueléticos, dependem da glicólise anaeróbica para pelo menos uma porção de suas necessidades de ATP (Tabela 22.1). Os tecidos (ou células) que são muito dependentes de glicólise anaeróbica em geral têm uma baixa demanda de ATP, altos níveis de enzimas glicolíticas e poucos capilares, de tal modo que o oxigênio deve difundir por uma distância maior para atingir as células-alvo. A falta de mitocôndria, ou a velocidade da glicólise aumentada, em geral está relacionada com algum aspecto da função celular. Por exemplo, as células sangüíneas vermelhas maduras não têm mitocôndrias, pois o metabolismo oxidativo pode interferir na sua função de transporte de oxigênio ligado à hemoglobina. Um pouco do ácido láctico produzido pela glicólise anaeróbica na pele é secretado no suor, onde atua como um agente antibacteriano. Muitos tumores grandes utilizam a glicólise anaeróbica para a produção de ATP e têm falta de capilares em seu núcleo.

Nos tecidos com algumas mitocôndrias, as glicólises aeróbica e anaeróbica ocorrem simultaneamente. A proporção relativa das duas rotas depende da capacidade mitocondrial de oxidação do tecido e de seu suprimento de oxigênio e pode variar entre os tipos celulares dentro do mesmo tecido devido à distância celular dos capilares. Quando a demanda celular de energia excede a capacidade de velocidade da cadeia de transporte de elétrons e da fosforilação oxidativa de produzir ATP, a glicólise é ativada, e a razão $NADH/NAD^+$ aumentada direcionará o excesso de piruvato para lactato. Uma vez que sob essas condições a piruvato-desidrogenase, o ciclo do TCA e a cadeia de transporte de elétrons operam tão rápido quanto podem, a glicólise anaeróbica supre a necessidade adicional de ATP.

As cáries dentárias na boca de **Ivan Applebod** foram causadas principalmente por um pH baixo gerado pela produção de ácido láctico por bactérias orais. Abaixo de um pH de 5,5, a descalcificação do esmalte dentário e da dentina ocorre. Lactobacilos e *S. mutans* são os principais contribuintes para o processo, pois quase toda a energia deles é derivada da conversão de glicose ou frutose em ácido láctico, e eles são capazes de crescer em um pH baixo gerado pelo processo. O dentista do Sr. Applebod explicou que as bactérias em sua placa dentária podem converter todo o açúcar das suas balas em ácido em menos de 20 minutos. O ácido é tamponado por bicarbonato e outros tampões na saliva, mas a produção de saliva diminui à noite. Assim, o ácido pode dissolver hidroxiapatita em seus dentes durante a noite.

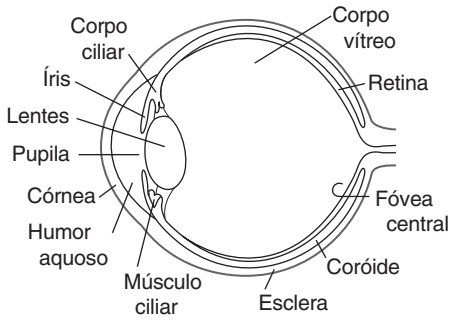
Tabela 22.1 Principais Locais Teciduais de Produção de Lactato em um Homem em Repouso*

Produção Diária de Lactato (g/dia)	
Produção total de lactato	115
Células sangüíneas vermelhas	29
Pele	20
Cérebro	17
Músculo esquelético	16
Medula renal	15
Mucosa intestinal	8
Outros tecidos	10

*Um homem de 70 kg consome cerca de 300 g de carboidratos por dia.

R: Na oxidação completa de piruvato a dióxido de carbono, quatro etapas produzem NADH (piruvato-desidrogenase, isocitrato-desidrogenase, α-cetoglutarato-desidrogenase e malato-desidrogenase). Uma etapa produz FAD(2) (succinato-desidrogenase) e uma fosforilação em nível de substrato (succinato-tiroquinase). Assim, como cada NADH produz 2,5 ATP, a contribuição total de NADH é 10 moléculas de ATP. O FAD(2H) produz 1,5 ATP adicional, e a fosforilação em nível de substrato fornece mais um. Portanto, 10 + 1,5 + 1 = 12,5 moléculas de ATP.

Os tecidos do olho também são parcialmente dependentes de glicólise anaeróbica.



O olho contém células que transmitem ou focalizam luz, e essas células não podem, portanto, ser preenchidas por substâncias opacas, como mitocôndrias, ou leitos capilares densamente agrupados. O epitélio córneo produz a maioria de seu ATP de forma aeróbica, mas ainda metaboliza alguma glicose de forma anaeróbica. O oxigênio é fornecido por difusão pelo ar. A lente do olho é composta de fibras que devem permanecer birrefringentes para transmitir e focalizar luz, de tal maneira que mitocôndrias são quase ausentes. A pequena quantidade de ATP necessária (principalmente para balanço iônico) pode prontamente ser produzida a partir de glicólise anaeróbica, embora a liberação de energia seja baixa. A lente é capaz de captar glicose e liberar lactato para dentro do corpo vítreo e do humor aquoso. Não é necessário oxigênio, e não há utilidade para capilares.

A lactato-desidrogenase (LDH) é um tetrâmero composto de subunidades A (também chamadas de M por serem isoformas do músculo esquelético) e subunidades B (também chamadas de H [*heart*] por serem isoformas do coração). Tecidos diferentes produzem quantidades distintas das duas subunidades, as quais, então, se combinam de forma aleatória para formar cinco tetrâmeros distintos (M_4, M_3H_1, M_2H_2, M_1H_3 e H_4). Essas isoenzimas diferem apenas levemente em suas propriedades, com as propriedades cinéticas da forma M_4 facilitando a conversão de piruvato em lactato no músculo esquelético, e as da forma H_1 facilitando a conversão de lactato em piruvato no coração.

4. DESTINO DO LACTATO

O lactato liberado pelas células realizando glicólise anaeróbica é captado por outros tecidos (primariamento o fígado, o coração e o músculo esquelético) e oxidado de volta a piruvato. No fígado, o piruvato é utilizado para sintetizar glicose (gliconeogênese), a qual é devolvida para o sangue. A circulação de lactato e glicose entre os tecidos periféricos e o fígado é chamada de ciclo de Cori (Figura 22.10).

Em muitos outros tecidos, o lactato é oxidado a piruvato, o qual é, então, oxidado a CO_2 no ciclo do TCA. Embora o equilíbrio da reação da lactato-desidrogenase favoreça a produção de lactato, o fluxo ocorre na direção oposta se NADH está sendo rapidamente oxidado na cadeia de transporte de elétrons (ou sendo utilizado para a gliconeogênese):

$$\text{Lactato} + NAD^+ \rightarrow \text{Piruvato} + NADH + H^+$$

O coração, com seu alto conteúdo de mitocôndrias e sua capacidade oxidativa, é capaz de utilizar lactato liberado por outros tecidos como combustível. Durante um exercício, como andar de bicicleta, o lactato liberado no sangue a partir de músculos esqueléticos na perna pode ser utilizado pelo músculo em repouso no braço. O cérebro, as células da glia e os astrócitos produzem lactato, o qual é utilizado por neurônios ou liberado no sangue.

II. OUTRAS FUNÇÕES DA GLICÓLISE

A glicólise, além de fornecer ATP, produz precursores para rotas de biossíntese (Figura 22.11). Intermediários da rota podem ser convertidos a ribose-5-fosfato, o glicídeo incorporado em nucleotídeos como ATP. Outros glicídeos, como UDP-glicose, manose e ácido siálico, também são formados a partir da glicólise. A serina é sintetizada a partir de 3-fosfoglicerato, e a alanina, a partir de piruvato. O esqueleto dos triacilgliceróis, o glicerol-3-fosfato, é derivado de diidroxiacetona-fostato na rota glicolítica.

O fígado é o principal local das reações de biossíntese no corpo. Além daquelas rotas mencionadas anteriormente, o fígado sintetiza ácidos graxos a partir do piruvato produzido pela glicólise. Ele também sintetiza glicose a partir de lactato, glicerol-3-fosfato e aminoácidos na rota gliconeogênica, a qual é principalmente o inverso da glicólise. Como conseqüência, no fígado, muitas das enzimas glicolíticas existem como isoenzimas com propriedades adequadas para essas funções.

O desvio de bisfosfoglicerato é uma "reação lateral" da rota glicolítica, na qual 1,3-bisfosfoglicerato é convertido a 2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG). As células sangüíneas vermelhas formam 2,3-BPG para servir como um inibidor alostérico da ligação de oxigênio no heme (ver Capítulo 44). O 2,3-BPG entra novamente na rota glicolítica pela desfosforilação de 3-fosfoglicerato. O 2,3-BPG também funciona como uma coenzima na conversão de 3-fosfoglicerato a 2-fosfoglicerato pela enzima glicolítica fosfogliceromutase.

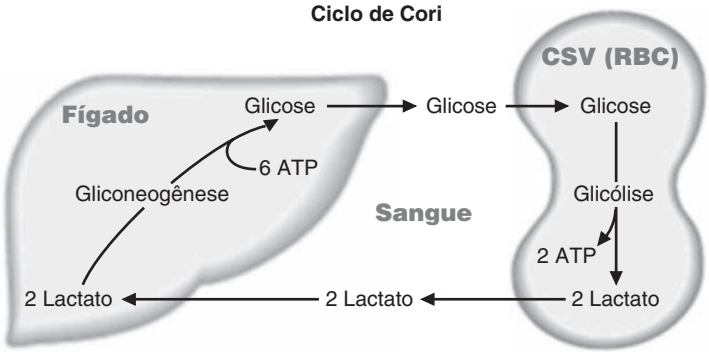


Figura 22.10 Ciclo de Cori. A glicose, produzida no fígado pela gliconeogênese, é convertida pela glicólise no músculo, nas células sangüíneas vermelhas e em muitas outras células a lactato. O lactato retorna para o fígado e é reconvertido a glicose pela gliconeogênese.

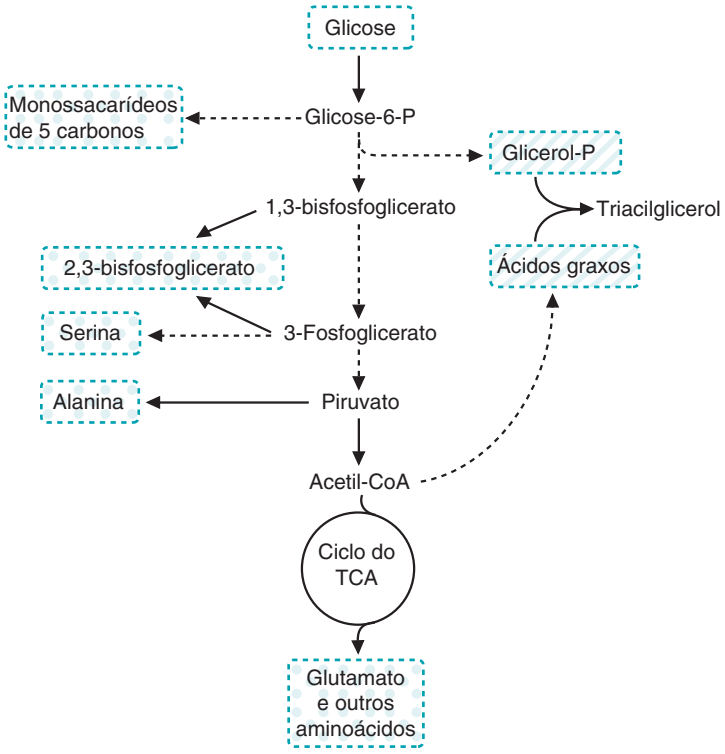


Figura 22.11 Funções biossintéticas da glicólise. Os compostos formados a partir de intermediários da glicólise são mostrados em azul. Essas rotas são discutidas nos capítulos subseqüentes do livro. As linhas pontilhadas indicam que mais de uma etapa é necessária para a conversão mostrada na figura.

Uma vez que o 2,3-BPG não é consumido devido ao seu papel nesse processo catalítico, a maioria das células necessita apenas de quantidades muito pequenas desse composto.

III. REGULAÇÃO DA GLICÓLISE PELA NECESSIDADE DE ATP

Uma das principais funções da glicólise é a produção de ATP; portanto a rota é regulada para manter a homeostase de ATP em todas as células. A fosfofrutoquinase-1 (PFK-1) e a piruvato-desidrogenase (PDH), a qual conecta glicólise e ciclo do TCA, são ambas sítios regulatórios principais que respondem a indicadores de retroalimentação da velocidade de utilização de ATP (Figura 22.12). O fornecimento de glicose-6-P para a glicólise é tecido-dependente e pode ser regulado nas etapas de transporte de glicose para dentro das células, glicogenólise (a degradação de glicogênio para formar glicose) ou velocidade de fosforilação de glicose por isoenzimas hexoquinase. Outros mecanismos regulatórios integram o papel produtor de ATP da glicólise com seus papéis anabólicos.

Todas as enzimas regulatórias da glicólise existem como isoenzimas tecido-específicas, o que altera a regulação da rota para corresponder às variações e necessidades em tecidos diferentes. Por exemplo, no fígado, uma isoenzima da piruvato-quinase introduz um sítio regulatório adicional que contribui para a inibição da glicólise quando a rota inversa, a gliconeogênese, está ativada.

A. Relação entre Concentrações de ATP, ADP e AMP

Os níveis de AMP dentro do citosol fornecem um indicador melhor para a velocidade de utilização de ATP do que a própria concentração de ATP (Figura 22.13). A concentração de AMP no citosol é determinada pela posição de equilíbrio da reação da adenilato-quinase.

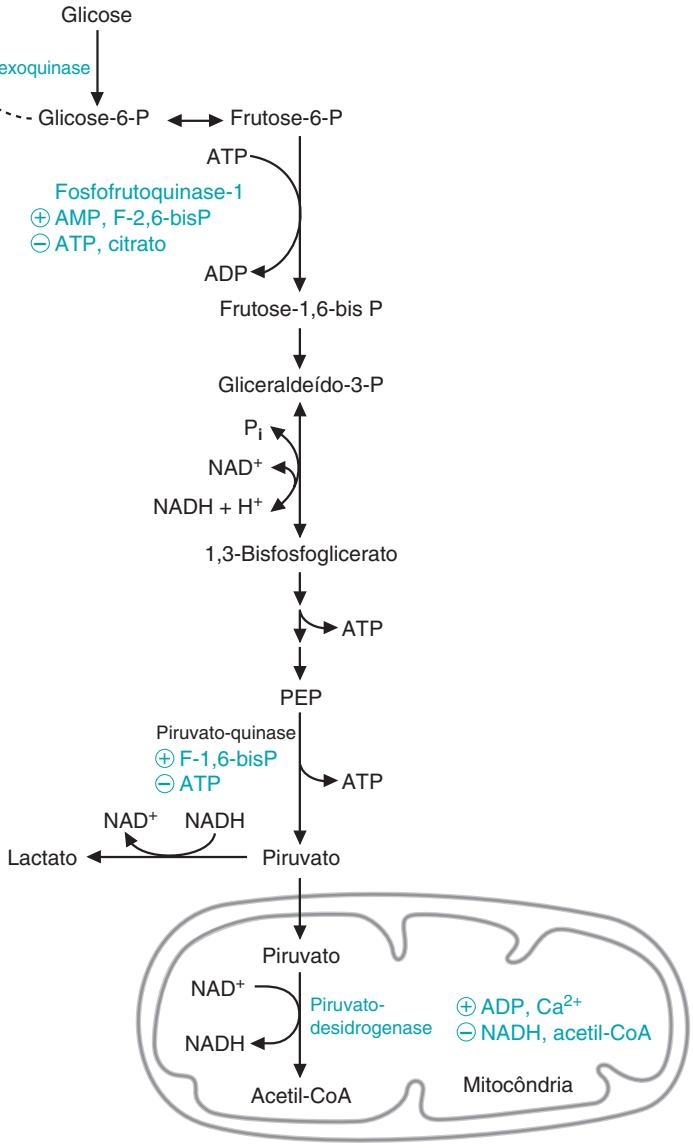


Figura 22.12 Principais sítios de regulação na rota glicolítica. A hexoquinase e a fosfofrutoquinase-1 são as principais enzimas regulatórias no músculo esquelético. A atividade da piruvato-desidrogenase na mitocôndria determina se o piruvato é convertido a lactato ou acetil-CoA. A regulação mostrada para piruvato-quinase ocorre apenas para a isoenzima do fígado.

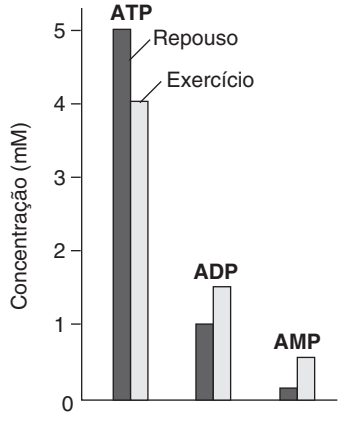


Figura 22.13 Alterações nas concentrações de ATP, ADP e AMP no músculo esquelético durante exercício. A concentração de ATP diminui apenas 20% durante o exercício, e a concentração de AMP, produzido pela reação da adenilato-quinase, aumenta muitas vezes e serve como um indicador sensível da diminuição dos níveis de ATP.

Adenilato-quinase

$$2\ ADP \leftrightarrow AMP + ATP$$

O equilíbrio é tal que a hidrólise de ATP a ADP nas reações que requerem energia aumenta ambos os conteúdos de ADP e AMP do citosol. Contudo, o ATP está presente em quantidades muito mais altas do que AMP ou ADP, de tal modo que uma pequena diminuição da concentração de ATP no citosol causa uma porcentagem de aumento muito maior no pequeno conteúdo (*pool*) de AMP. Em músculos esqueléticos, por exemplo, os níveis de ATP são de aproximadamente 5 mM e diminuem não mais do que 20% durante exercício extenuante (ver Figura 22.13). Ao mesmo tempo, os níveis de ADP podem aumentar 50%, e os níveis de AMP, os quais estão na faixa micromolar, aumentam 300%. O AMP ativa diversas rotas metabólicas, incluindo glicólise, glicogenólise e oxidação de ácidos graxos (particularmente em tecidos musculares), para garantir que a homeostase de ATP seja mantida.

B. Regulação das Hexoquinases

As hexoquinases existem como isoenzimas tecido-específicas cujas propriedades regulatórias refletem o papel da glicólise em tecidos distintos. Na maioria dos tecidos, a hexoquinase é uma enzima de K_m baixo com uma alta afinidade por glicose (ver Capítulo 9). Ela é inibida por concentrações fisiológicas de seu produto, glicose-6-P (ver Figura 22.12). Se a glicose-6-P não entra na glicólise ou em outra rota, ela acumula e diminui a atividade da hexoquinase. No fígado, a isoenzima glicoquinase é uma enzima de K_m alto que não é prontamente inibida por glicose-6-P. Assim, a glicólise pode continuar no fígado mesmo quando os níveis de energia são tão altos que rotas anabólicas, como a síntese dos principais compostos de armazenamento de energia, glicogênio e ácidos graxos, podem ocorrer.

C. Regulação da PFK-1

A fosfofrutoquinase-1 (PFK-1) é a enzima limitante de velocidade da glicólise e controla a velocidade de entrada da glicose-6-P na glicólise na maioria dos tecidos. A PFK-1 é uma enzima alostérica que tem um total de seis sítios de ligação: dois são para substratos (Mg-ATP e frutose-6-P) e quatro são sítios regulatórios alostéricos (ver Figura 22.12). Os sítios regulatórios alostéricos ocupam um domínio fisicamente diferente na enzima do que o sítio catalítico. Quando um efetor alostérico se liga, ele altera a conformação no sítio ativo e pode ativar ou inibir a enzima (ver também Capítulo 9). Os sítios alostéricos para a PFK-1 incluem um sítio inibitório para Mg-ATP, um sítio inibitório para citrato e outros ânions, um sítio de ativação alostérica para AMP e um sítio de ativação alostérica para frutose-2,6-bisfosfato (frutose-2,6-bisP) e outros bisfosfatos. Diversas isoformas tecido-específicas diferentes da PFK-1 são afetadas pela concentração desses substratos e efetores alostéricos, mas todas contêm esses quatro sítios alostéricos.

1. REGULAÇÃO ALOSTÉRICA DE PFK-1 POR AMP E ATP

O ATP se liga a dois sítios diferentes na enzima, o sítio de ligação do substrato e o sítio inibidor alostérico. Sob condições fisiológicas na célula, a concentração de ATP em geral é alta o suficiente para saturar o sítio de ligação do substrato e inibir a enzima ligando-se ao sítio alostérico do ATP. Esse efeito de ATP é contraposto por AMP, o qual se liga a um sítio ativador alostérico separado (Figura 22.14). Para a maioria das isoenzimas PFK-1, a ligação de AMP aumenta a afinidade da enzima por frutose-6-P (p. ex., desloca a curva cinética para a esquerda). Assim, um aumento na concentração de AMP pode aumentar bastante a velocidade da enzima (ver Figura 22.14), particularmente quando as concentrações de frutose-6-P estão baixas.

2. REGULAÇÃO DA PFK-1 POR FRUTOSE-2,6-BISFOSFATO

A frutose-2,6-bisP também é um inibidor alostérico da PFK-1 que se contrapõe à inibição por ATP. Seu efeito na velocidade da atividade da PFK-1 é qualitativamente similar àquele do AMP, mas tem um sítio de ligação separado. A frutose-2,6-bisP NÃO é um intermediário da glicólise, mas é sintetizada por uma enzima que fosforila frutose-6-fosfato na posição 2. A enzima é, portanto, denominada fosfofrutoquinase-2

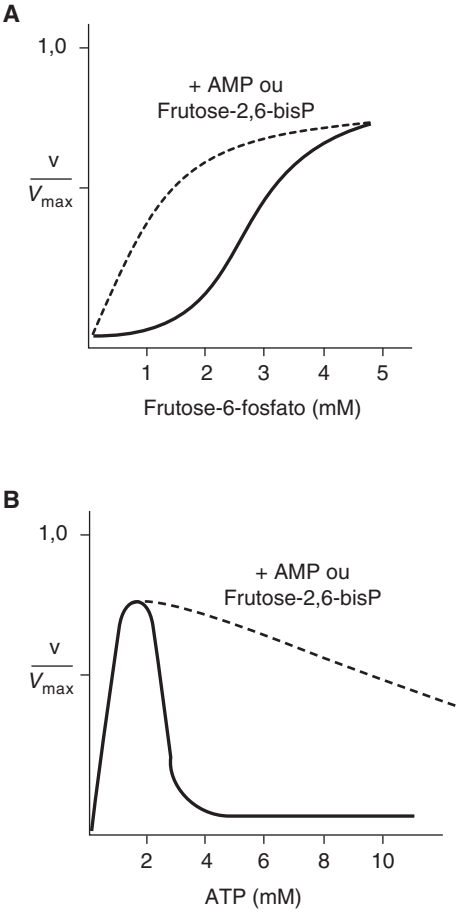


Figura 22.14 Regulação da PFK-1 por AMP, ATP e frutose-2,6-bisP. **A.** AMP e frutose-2,6-bisfosfato ativam PFK-1. **B.** O ATP aumenta a velocidade da reação em baixas concentrações, mas inibe alostericamente a enzima em concentrações altas.



Otto Shape começou a realizar um exercício de alta intensidade que aumentará a produção de lactato em seus músculos esqueléticos em treinamento. Nos músculos esqueléticos, a quantidade de glicólise aeróbica *versus* anaeróbica que ocorre varia com a intensidade do exercício, com a duração do exercício, com o tipo de fibra muscular esquelética envolvida e com o nível de treinamento. Os músculos esqueléticos humanos em geral são combinações de fibras do tipo I (chamadas de fibras glicolíticas rápidas, ou fibras brancas) e do tipo IIb (chamadas de fibras oxidativas, ou fibras musculares vermelhas). A designação de rápida ou lenta se refere a sua velocidade de encurtamento, a qual é determinada pela isoenzima de miosina ATPase presente. Comparada com as fibras glicolíticas, as fibras oxidativas têm um conteúdo maior de mitocôndrias, o qual lhes confere a cor vermelha. O gastrocnêmio, um músculo na perna utilizado para corrida, tem um conteúdo alto de fibras tipo IIb. Contudo, essas fibras ainda produzirão lactato durante exercícios de alta intensidade (*sprints*) quando a demanda de ATP excede sua capacidade oxidativa.

A PFK-1 existe como um grupo de isoenzimas tecido-específicas cujas características regulatórias correspondem ao papel da glicose em tecidos distintos. Existem três tipos diferentes de subunidades da isoenzima PFK-1: M (músculo), L (fígado, *liver*) e C. As três subunidades apresentam expressão variável em tecidos diferentes, com alguns tecidos tendo mais de um tipo. Por exemplo, os músculos humanos maduros expressam apenas a subunidade M, o fígado expressa principalmente a subunidade L, e eritrócitos expressam ambas as subunidades M e L. A subunidade C está presente em níveis mais elevados nas plaquetas, na placenta, nos rins e nos fibroblastos, mas é relativamente comum na maioria dos tecidos. Ambas as subunidades M e L são sensíveis à regulação por AMP e ATP, mas as subunidades C são muito menos. A PFK-1 ativa é um tetrâmero, composto de quatro subunidades. Dentro do músculo, a forma M4 predomina, mas, dentro dos tecidos que expressam múltiplas isoenzimas de PFK-1, podem se formar heterotetrâmeros que tem atividade total.

Sob condições isquêmicas, os níveis de AMP dentro do coração aumentam rapidamente devido à falta de produção de ATP pela fosforilação oxidativa. O aumento nos níveis de AMP ativa uma proteína-quinase dependente de AMP (proteína-quinase B), a qual fosforila a isoenzima cardíaca da PFK-2 para ativar sua atividade de quinase. Isso resulta em níveis elevados de frutose-2,6-bisP, a qual ativa PFK-1 junto com AMP, de tal modo que a velocidade da glicólise pode aumentar para compensar a falta de produção de ATP por meios aeróbicos.

Durante o infarto do miocárdio de **Cora Nari** (ver Capítulo 20), seu coração tinha um suprimento limitado de oxidação e substratos energéticos transportados pelo sangue. A ausência de oxigênio para a fosforilação oxidativa diminuiria os níveis de ATP e aumentaria os de AMP, um ativador da PFK-1 e proteína-quinase dependente de AMP, resultando em um aumento compensatório da glicólise anaeróbica e produção de lactato. Contudo, a obstrução de um vaso irrigando o coração diminuiria a remoção de lactato, resultando em uma diminuição do pH intracelular. Sob essas condições, em níveis de pH muito baixos, a glicólise é inibida e incapaz de compensar a falta de fosforilação oxidativa.

(PFK-2); ela é uma enzima bifuncional com dois domínios separados, um domínio quinase e um domínio fosfatase. No domínio quinase, a frutose-6-P é fosforilada a frutose-2,6-bisP, e no domínio fosfatase, a frutose-2,6-bisP é hidrolisada novamente a frutose-6-P. A PFK-2 é regulada por alterações na razão da atividade dos dois domínios. Por exemplo, em músculos esqueléticos, altas concentrações de frutose-6-P ativam a quinase e inibem a fosfatase, aumentando, assim, a concentração de frutose-2,6-bisP e ativando a glicólise.

A PFK-2 também pode ser regulada por fosforilação por serina/treonina-proteína-quinases. A isoenzima hepática contém um sítio de fosforilação próximo à extremidade aminoterminal que diminui a atividade da quinase e aumenta a atividade de fosfatase. Esse sítio é fosforilado pela proteína-quinase dependente de AMPc (proteína-quinase A) e é responsável por níveis hepáticos diminuídos de frutose-2,6-bisP durante condições de jejum (como modulado por níveis circulantes de glucagon, o que é discutido em detalhes nos Capítulos 26 e 31). A isoenzima cardíaca contém um sítio de fosforilação próximo à extremidade carboxiterminal que pode ser fosforilado em resposta a ativadores adrenérgicos da contração (como noradrenalina) e por níveis elevados de AMP. A fosforilação nesses sítios aumenta a atividade de quinase e aumenta os níveis de frutose-2,6-bisP, contribuindo, assim, para a ativação da glicólise.

3. INIBIÇÃO ALOSTÉRICA DE PFK-1 NO SÍTIO DO CITRATO

A função do sítio alostérico citrato-ânion é integrar a glicólise com outras rotas. Por exemplo, a inibição de PFK-1 por citrato pode ter um papel na diminuição do fluxo glicolítico no coração durante a oxidação de ácidos graxos.

D. Regulação da Piruvato-Quinase

A piruvato-quinase existe como isoenzimas tecido-específicas. A forma presente no cérebro e no músculo não contém sítios alostéricos, e a piruvato-quinase não contribui para a regulação da glicólise nesses tecidos. Contudo, a isoenzima hepática pode ser inibida por fosforilação por proteína-quinase dependente de AMPc e por diversos efetores alostéricos que contribuem para a inibição da glicólise durante condições de jejum. Esses efetores alostéricos incluem a ativação por frutose-1,6-bisP, o que atrela a velocidade da piruvato-quinase à da PFK-1, e a inibição por ATP, o que significa níveis altos de energia.

E. Regulação da Piruvato-Desidrogenase e Glicólise

A piruvato-desidrogenase também é regulada principalmente pela velocidade da utilização de ATP (ver Capítulo 20) por fosforilação rápida para uma forma inativa. Assim, em uma célula respirando normalmente, com um suprimento adequado de O_2, glicólise e ciclo do TCA são ativados juntos, e a glicose pode ser completamente oxidada a CO_2. Contudo, quando tecidos não têm suprimento adequado de O_2 para corresponder às suas demandas de ATP, a razão aumentada de NADH/NAD^+ inibe a piruvato-desidrogenase, mas o AMP ativa a glicólise. Uma proporção do piruvato será, então, reduzida a lactato para permitir a continuação da glicólise.

IV. ACIDEMIA LÁCTICA

A produção de lactato é uma parte normal do metabolismo. Na ausência de doença, níveis elevados de lactato no sangue estão associados à glicólise anaeróbica durante o exercício. Na acidose láctica, o ácido láctico se acumula no sangue em níveis que o afetam de forma significativa (níveis de lactato maiores do que 5 mM e uma diminuição do pH sangüíneo para menos de 7,2).

A acidose láctica em geral resulta de uma razão NADH/NAD^+ muito aumentada nos tecidos (Figura 22.15). A concentração aumentada de NADH previne a oxidação

de piruvato no ciclo do TCA e direciona piruvato a lactato. Para compensar pela diminuição da produção de ATP pelo metabolismo oxidativo, a PFK-1 e, portanto, toda a rota glicolítica são ativadas. Por exemplo, o consumo de altas quantidades de álcool, o qual é rapidamente oxidado no fígado e aumenta os níveis de NADH, pode resultar em acidose láctica. A hipóxia em qualquer tecido aumenta a produção de lactato quando as células tentam compensar uma falta de O_2 para a fosforilação oxidativa.

Diversos outros problemas que interferem na cadeia de transporte de elétrons ou na oxidação de piruvato no ciclo do TCA resultam em acidemia láctica (ver Figura 22.15). Por exemplo, doenças OXPHOS (deficiências hereditárias nas subunidades

Lopa Fusor tinha uma pO_2 arterial diminuída e pCO_2 arterial elevada causada por subperfusão dos pulmões. O conteúdo elevado de CO_2 resultou em um aumento de H_2CO_3 e da acidez do sangue (ver Capítulo 4). O O_2 diminuído fornecido para os tecidos resultou em produção aumentada de lactato a partir da glicólise anaeróbica e em uma elevação do lactato sérico para níveis 10 vezes o normal. A redução de seu pH arterial para 7,18 (valores de referência, 7,35 a 7,45) resultou, portanto, de acidose respiratória leve (pCO_2 elevada) e acidose metabólica mais profunda (nível de lactato sérico elevado).

Q: Lactato e piruvato estão em equilíbrio na célula, e a razão lactato/piruvato reflete a razão NADH/NAD^+. Ambos os ácidos são liberados no sangue, e a razão normal de lactato para piruvato no sangue é de aproximadamente 25:1. Essa razão pode fornecer uma ferramenta de diagnóstico clínico útil. Devido ao fato de a acidemia láctica poder ser o resultado de diversos problemas, como hipoxia, MERFF, deficiência de tiamina e deficiência de piruvato-desidrogenase, sob qual dessas condições seria esperado que a razão lactato/piruvato fosse muito maior do que o normal?

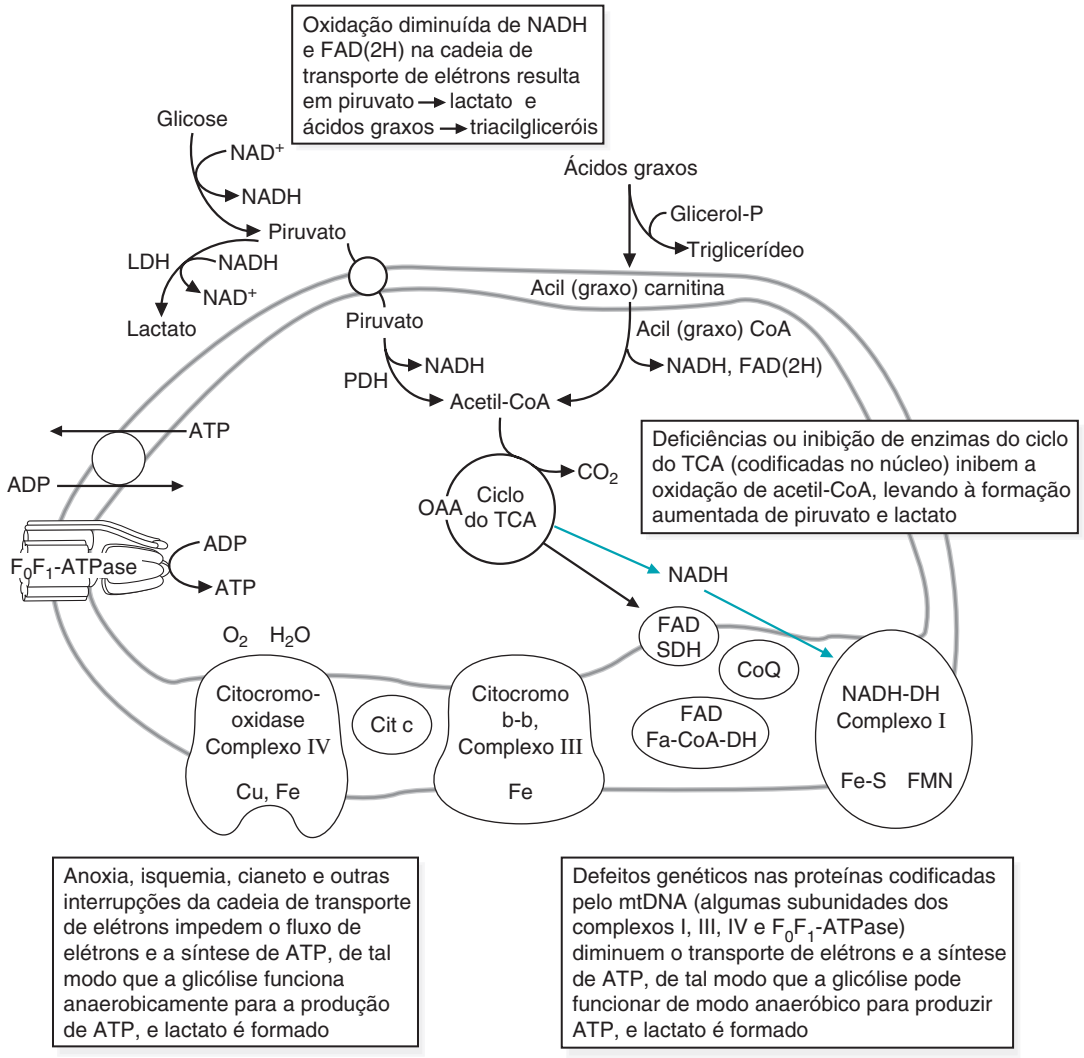


Figura 22.15 Rotas que causam a acidemia láctica.

R: Hipoxia e deficiências hereditárias das subunidades na cadeia de transporte de elétrons diminuem a oxidação de NADH, resultando em uma razão $NADH/NAD^+$ mais alta na célula e, portanto, uma razão lactato/piruvato mais alta no sangue. Em contraste, condições que causam acidemia láctica como um resultado de defeitos nas enzimas do metabolismo do piruvato (deficiência de tiamina ou deficiência de piruvato-desidrogenase) aumentariam ambos lactato e piruvato no sangue e têm pequeno efeito sobre a razão.

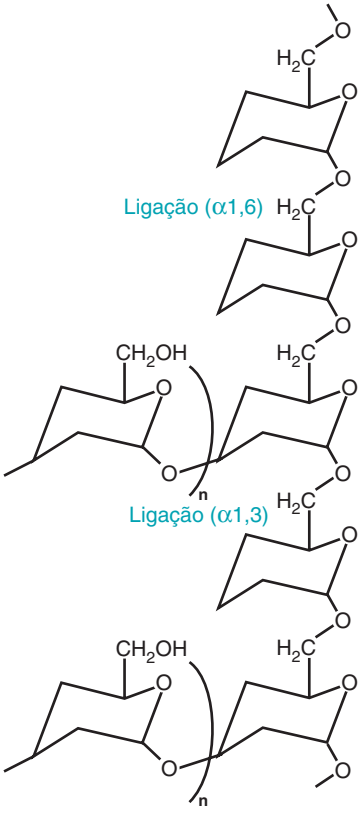


Figura 22.16 Estrutura geral do dextran. Resíduos glicosil são ligados por ligações α-1,3, α-1,6 e algumas α-1,4.

de complexos na cadeia de transporte de elétrons, como MERFF) aumentam a razão $NADH/NAD^+$ e inibem a PDH (ver Capítulo 21). A atividade diminuída de PDH a partir de uma deficiência herdada da E_1 (a subunidade descarboxilase do complexo), ou a partir de deficiência grave de tiamina, aumenta os níveis de lactato no sangue (ver Capítulo 20). A deficiência de piruvato-carboxilase também pode resultar em acidose láctica (ver Capítulo 20), devido a um acúmulo de piruvato.

A acidose láctica também pode resultar da inibição da utilização de lactato na gliconeogênese (p. ex., intolerância hereditária à frutose, a qual ocorre devido a um gene da aldolase defeituoso). Se outras rotas que utilizam glicose-6-P estão bloqueadas, a glicose-6-P pode ser desviada para glicólise e produção de lactato (p. ex., deficiência de glicose-6-fosfatase).

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Lopa Fusor foi internada no hospital com hipotensão grave causada por uma hemorragia aguda. Seu nível de ácido láctico plasmático estava elevado; e seu pH arterial estava baixo. O mecanismo subjacente do distúrbio no equilíbrio ácido-básico é uma redução grave na quantidade de fornecimento de oxigênio para os tecidos para a respiração celular (hipoxemia). Diversos processos concomitantes contribuíram para essa falta de oxigênio. O primeiro foi a pressão sangüínea gravemente reduzida causada por uma hemorragia rápida da úlcera gástrica sangrante. A perda sangüínea levou à hipoperfusão e, portanto, a um fornecimento reduzido de oxigênio para os tecidos. A redução marcada no número de células vermelhas na circulação causada por perda sangüínea comprometeu mais o fornecimento de oxigênio. A doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) preexistente se somou à sua hipoxemia por ventilação diminuída e, portanto, à transferência de oxigênio para sangue (baixa pO_2). Além disso, sua DPOC levou à retenção de dióxido de carbono (alta pCO_2), a qual causou uma acidose respiratória, pois o CO_2 retido interage com água para formar ácido carbônico (H_2CO_3), o qual se dissocia em H^+ e bicarbonato.

No músculo esquelético, a produção de lactato ocorre quando a necessidade de ATP excede a capacidade da mitocôndria para a fosforilação oxidativa. Assim, a produção aumentada de lactato acompanha uma taxa aumentada do ciclo do TCA. A extensão na qual os músculos esqueléticos utilizam glicólise aeróbica *versus* anaeróbica varia com a intensidade do exercício. Em exercício de baixa intensidade, a taxa de utilização de ATP é mais baixa, e fibras podem produzir ATP a partir da fosforilação oxidativa, com a oxidação completa de glicose a CO_2. Contudo, quando **Otto Shape** faz corridas rápidas (*sprints*), um exercício de alta intensidade, a demanda de ATP excede a taxa na qual a cadeia de transporte de elétrons e o ciclo do TCA podem produzir ATP a partir de fosforilação oxidativa. O nível aumentado de AMP sinaliza a necessidade de ATP adicional e estimula a PFK-1. A razão $NADH/NAD^+$ direciona o aumento na conversão de piruvato em lactato. A queda no pH causa fadiga muscular e dor. À medida que ele treina, a quantidade de mitocôndrias e mioglobina aumentarão em suas fibras musculares esqueléticas, e essas fibras necessitarão de menos glicólise anaeróbica.

Ivan Applebod tinha duas cáries dentárias: uma em uma superfície lisa e outra em uma fissura. O pH diminuído resultante da produção de ácido láctico por lactobacilos, que crescem de forma anaeróbica dentro da fissura, é uma causa principal de cáries. *Streptococs mutans* (*S. mutans*) têm um papel importante em cárie de superfície lisa, pois secreta dextran, um polissacarídeo insolúvel, que forma a base da placa. *S. mutans* contém dextran-sacarase, uma glicosiltransferase que transfere unidades glicosil da sacarose da dieta (o dissacarídeo glicose-frutose em açúcar e doces) para formar as ligações $\alpha(1 \rightarrow 6)$ e $\alpha(1 \rightarrow 3)$ entre as unidades glicosil do dextran (Figura 22.16). A dextran-sacarase é específica para sacarose e não catalisa a polimerização de glicose livre ou glicose de outros dissacarídeos ou polissacarídeos. Assim, a sacarose é responsável pelo potencial cariogênico das balas. O dextran grudento

e insolúvel em água medeia a fixação de *S. mutans* e outras bacterias à superfície dos dentes. Isso também mantém os ácidos produzidos por essas bactérias próximos da superfície do esmalte. A frutose da sacarose é convertida a intermediários da glicólise e é rapidamente metabolizada a ácido láctico. Outras bactérias presentes na placa produzem ácidos diferentes do metabolismo anaeróbico, como ácido acético e ácido fórmico. A diminuição do pH resultante inicia a desmineralização da hidroxiapatita do esmalte dentário. As cáries nos dentes de leite de **Ivan Applebod** podem ter sido causadas por mamadeiras contendo suco de frutas. O açúcar no suco de fruta também é sacarose, e bebês que dormem com uma mamadeira de suco de frutas em suas bocas podem desenvolver cáries. A decomposição rápida desses dentes de leite pode prejudicar o desenvolvimento dos dentes permanentes.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



Como é a primeira ligação rica em energia formada na rota glicolítica? Esse é o trabalho da reação da gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase, a qual converte gliceraldeído-3-P em 1,3-bisfosfoglicerato. Essa reação pode ser considerada como sendo separada em duas meias-reações, a primeira sendo a oxidação de gliceraldeído-3-P em 3-fosfoglicerato e a segunda sendo a adição de fosfato inorgânico ao 3-fosfoglicerato para produzir 1,3-bisfosfoglicerato. O $\Delta G^{0'}$ para a primeira reação é de aproximadamente –12 kcal/mol; para a segunda reação, é de aproximadamente +12 kcal/mol. Assim, embora a primeira semi-reação seja extremamente favorável, a segunda semi-reação não é favorável e não procederia sob condições celulares. Assim, como a enzima auxilia a reação direta (para frente)? Isso é conseguido porque a enzima forma uma ligação covalente com o substrato, utilizando um resíduo de cisteína essencial no sítio ativo para formar uma ligação de tioéster rica em energia durante o curso da reação (Figura 22.17). Assim, a energia que seria liberada como calor na oxidação

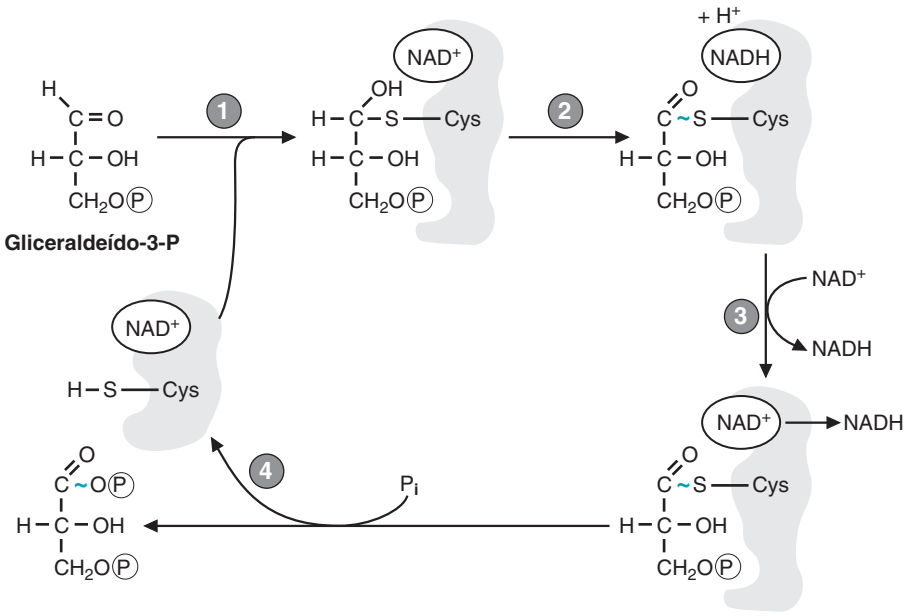


Figura 22.17 Mecanismo da reação da gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase. 1. A enzima forma uma ligação covalente com o substrato, utilizando um grupo cisteína no sítio ativo. A enzima também contém NAD^+ ligado próximo ao sítio ativo. 2. O substrato é oxidado, formando uma ligação de tioéster rica em energia (em azul) e NADH. 3. O NADH tem uma baixa afinidade para a enzima e é substituído por uma nova molécula de NAD^+. 4. O fosfato inorgânico ataca a reação tioéster, liberando o produto 1,3-bisfosfoglicerato e regenerando a enzima ativa em uma forma pronta para iniciar outra reação.

de gliceraldeído-3-P em 3-fosfoglicerato é convertida na ligação de tioéster que é formada (de tal forma que o $\Delta G^{0'}$ da formação do intermediário tioéster a partir de gliceraldeído-3-P é próximo a zero). Então, a substituição do enxofre com fosfato inorgânico para formar o produto final 1,3-bisfosfoglicerato ocorre relativamente para diante (no sentido direto), à medida que o $\Delta G^{0'}$ para aquela conversão também é próximo a zero, e a ligação acil-fosfato retém a energia da oxidação do aldeído. Esse é um exemplo de como a catálise covalente por uma enzima pode resultar na conservação de energia entre diferentes tipos de ligação.

Leituras Sugeridas

Cole AS, Eastoe JE. Biochemistry and Oral Biology. 2nd Ed. Boston: Butterworth, 1988:490-519.

Robinson BH. Lacticacidemia: Disorders of pyruvate carboxylase and pyruvate dehydrogenase. In: Scriver CR, Beudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, vol. I. 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:4451-4480.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 22

1. Qual das seguintes alternativas representa o principal papel da glicólise?

   (A) Sintetizar glicose
   (B) Produzir energia
   (C) Produzir FAD(2H)
   (D) Sintetizar glicogênio
   (E) Utilizar ATP para produzir calor

2. Iniciando com gliceraldeído-3-fosfato e sintetizando uma molécula de piruvato, a liberação total de ATP seria?

   (A) 1 ATP, 1 NADH
   (B) 1 ATP, 2 NADH
   (C) 1 ATP, 4 NADH
   (D) 2 ATP, 1 NADH
   (E) 2 ATP, 2 NADH
   (F) 2 ATP, 4 NADH
   (G) 3 ATP, 1 NADH
   (H) 3 ATP, 2 NADH
   (I) 3 ATP, 4 NADH

3. Quando glicogênio é degradado, glicose-1-fosfato é formada. A glicose-1-fosfato pode ser isomerizada a glicose-6-fosfato. Iniciando com glicose-1-fosfato e terminando com 2 moléculas de piruvato, qual é a liberação total da glicólise, em termos de ATP e NADH formado?

   (A) 1 ATP, 1 NADH
   (B) 1 ATP, 2 NADH
   (C) 1 ATP, 3 NADH
   (D) 2 ATP, 1 NADH
   (E) 2 ATP, 2 NADH
   (F) 2 ATP, 3 NADH
   (G) 3 ATP, 1 NADH
   (H) 3 ATP, 2 NADH
   (I) 3 ATP, 3 NADH

4. Qual das seguintes afirmações descreve corretamente um aspecto da glicólise?

   (A) O ATP é formado por fosforilação oxidativa.
   (B) 2 ATP são utilizados no início da rota.
   (C) A piruvato-quinase é a enzima limitante da velocidade.
   (D) Um piruvato e três CO_2 são formados a partir da oxidação de uma molécula de glicose.
   (E) As reações ocorrem na matriz da mitocôndria.

5. Quantos moles de ATP são produzidos pela oxidação aeróbica completa de 1 mol de glicose a 6 moles de CO_2?

   (A) 2-4
   (B) 10-12
   (C) 18-22
   (D) 30-32
   (E) 60-64

23 Oxidação de Ácidos Graxos e Corpos Cetônicos

O ácido graxo é o principal substrato energético para humanos e supre as necessidades de energia entre as refeições e durante períodos de demanda aumentada, como exercício. Durante uma noite de jejum, os ácidos graxos se tornam o principal substrato energético para o músculo cardíaco, o músculo esquelético e o fígado. O fígado converte os ácidos graxos em corpos cetônicos (acetoacetato e β-hidroxibutirato), os quais servem como substrato energético principal para tecidos (p. ex., o intestino). O cérebro, o qual não tem uma capacidade significativa para a oxidação de ácidos graxos, pode utilizar corpos cetônicos como combustível durante jejum prolongado.

A rota de metabolismo dos ácidos graxos depende um pouco do comprimento de sua cadeia. Os ácidos graxos em geral são classificados com ***ácidos graxos de cadeia muito longa*** *(maior do que C20),* ***ácidos graxos de cadeia longa*** *(C12-C20),* ***ácidos graxos de cadeia média*** *(C6-C12) e* ***ácidos graxos de cadeia curta*** *(C4).*

O ATP é produzido a partir da oxidação de ácidos graxos na rota da ***β-oxidação****. Entre as refeições e durante o jejum no período da noite, os* ***ácidos graxos de cadeia longa*** *são liberados a partir de triacilgliceróis do tecido adiposo. Eles circulam através do sangue ligados à* ***albumina*** *(Figura 23.1). Nas células, são convertidos em derivados* ***acil-CoA*** *por* ***acil-CoA-sintetases****. O grupo acila ativado é transportado para a matriz mitocondrial ligado à* ***carnitina****, onde a acil-CoA é regenerada. Na rota da* ***β-oxidação****, o grupo acila é seqüencialmente oxidado para liberar FAD(2H), NADH e acetil-CoA. A oxidação subseqüente de NADH e FAD(2H) na cadeia de transporte de elétrons e a oxidação de acetil-CoA em CO_2 no ciclo do TCA produzem ATP a partir de fosforilação oxidativa.*

Muitos ácidos graxos têm estruturas que necessitam de variações desse padrão básico. Os ácidos graxos de cadeia longa que são ***ácidos graxos insaturados*** *em geral necessitam de isomerização adicional e reações de oxirredução para rearranjar suas ligações duplas durante a β-oxidação. O metabolismo de* ***ácidos graxos de cadeia média*** *hidrossolúveis não necessita de carnitina e ocorre apenas no fígado. Os* ***ácidos graxos de cadeia ímpar*** *sofrem β-oxidação até o composto terminal de três carbonos* ***propionil-CoA****, o qual entra no ciclo do TCA como succinil-CoA.*

Os ácidos graxos que não sofrem prontamente a β-oxidação mitocondrial são primeiro oxidados por rotas alternativas que os convertem em substratos mais adequados ou produtos de excreção urinária. O ***excesso de ácidos graxos*** *sofre* ***ω-oxidação*** *microssomal, a qual os converte em* ***ácidos dicarboxílicos*** *que aparecem na urina. Os* ***ácidos graxos de cadeia muito longa*** *(tanto os ácidos graxos lineares como os* ***ramificados*** *como o ácido fitânico) são quebrados para caberem nos peroxissomas. A* ***α*** *e* ***β-oxidação*** *produz peróxido de hidrogênio (**H_2O_2**), NADH, acetil-CoA, ou propionil-CoA e uma acil-CoA de cadeia curta a média. Os produtos acil-CoA são transferidos para a mitocôndria para completar seu metabolismo.*

No fígado, muito da acetil-CoA produzida a partir da oxidação de ácidos graxos é convertido a corpos cetônicos, ***acetoacetato*** *e* ***β-hidroxibutirato****, os quais passam para o sangue (ver Figura 23.1). Em outros tecidos, esses corpos cetônicos são convertidos em acetil-CoA, a qual é oxidada no ciclo do TCA. O fígado sintetiza corpos cetônicos, mas não pode utilizá-los como substrato energético.*

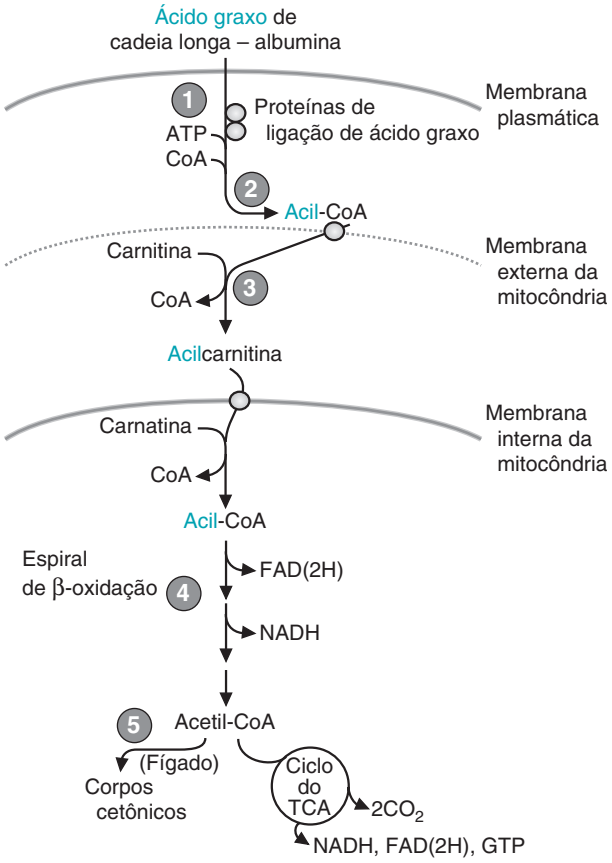


Figura 23.1 Visão geral do metabolismo de ácido graxo de cadeia longa. (1) As proteínas de ligação de ácido graxo (FaBPs, do inglês *fatty acid binding proteins*) transportam o ácido graxo através da membrana plasmática e os fixa no citosol. (2) A acil-CoA-sintetase ativa os ácidos graxos em acil-CoA. (3) A carnitina transporta os grupos acila ativados para dentro da mitocôndria. (4) A β-oxidação produz NADH, FAD(2H) e acetil-CoA. (5) No fígado, a acetil-CoA é convertida em corpos cetônicos.

*A **velocidade de oxidação de ácidos graxos** é conectada à velocidade de oxidação de NADH, FAD(2H) e acetil-CoA e, assim, à velocidade da fosforilação oxidativa e **utilização de ATP**. A regulação adicional ocorre por **malonil-CoA**, a qual inibe a formação de derivados da acilcarnitina. Ácidos graxos e corpos cetônicos são utilizados como substratos energético quando seu nível aumenta, o que é determinado por regulação hormonal da lipólise do tecido adiposo.*

SALA DE ESPERA

Otto Shape ficou desapontado por não se classificar na sua corrida de 5 km e decidiu que provavelmente a corrida de curta distância não é o certo para ele. Depois de muita reflexão, ele decidiu treinar para a maratona correndo 20 km três vezes por semana. Ele agora está 5,9 kg acima de seu peso ideal e planeja perder esse peso enquanto estuda para prova final de Farmacologia. Ele considera uma variedade de suplementos para aumentar sua resistência e seleciona um contendo carnitina, CoQ, pantotenato, riboflavina e creatina.



As transaminases hepáticas medidas no sangue são aspartato-aminotransferase (AST), a qual era previamente chamada de transaminase glutâmico-oxalacética sérica (SGOT, do inglês *serum glutamate-oxaloacetate transaminase*), e alanina-aminotransferase (ALT), a qual era previamente chamada de transaminase glutâmico-pirúvica sérica (SGPT, do inglês *serum glutamate pyruvate transaminase*). A elevação das enzimas hepáticas reflete lesão da membrana plasmática do fígado.



Durante a corrida de distância de **Otto** (um exercício de intensidade moderada), a insulina diminui e aumenta os hormônios contra-regulatórios, como adrenalina e noradrenalina, aumentando a lipólise do tecido adiposo. Assim, seus músculos estão sendo providos com um suprimento de ácidos graxos no sangue que eles podem utilizar como substrato energético.



Lofata Burne desenvolveu sintomas durante o jejum, quando a lipólise do tecido adiposo estava elevada. Sob essas circunstâncias, o tecido muscular, o fígado e muitos outros tecidos estão oxidando ácidos graxos como substrato energético. Após uma noite de jejum, aproximadamente 60 a 70% do suprimento de energia humano é derivado da oxidação de ácidos graxos.



Lofata Burne é uma menina de 16 anos. Desde os 14 anos ela sofre de episódios recorrentes de fadiga profunda associada a vômitos e transpiração aumentada, os quais requerem hospitalização. Esses episódios ocorrem apenas se ela não se alimenta por mais de oito horas. Devido ao fato de sua mãe lhe dar alimentos tarde da noite e ela acordar cedo pela manhã para tomar café, o desenvolvimento físico e mental de Lofata progrediu normalmente.

No dia da admissão por esse episódio, Lofata não tomou café da manhã e ao meio dia estava extremamente fatigada, enauseada e sem energia. Ela não era capaz de manter qualquer alimento no estômago e foi levada para o hospital, onde uma infusão de glicose foi iniciada por via intravenosa. Os sintomas responderam dramaticamente a essa terapia.

O nível inicial de glicose estava abaixo de 38 mg/dL (valores de referência para níveis de glicose de jejum = 70 a 100). O nível sangüíneo de nitrogênio da uréia (BUN, do inglês *blood urea nitrogen*) estava levemente aumentado em 26 mg/dL (valores de referência = 8 a 25) como resultado de seu vômito, o qual levou a um grau de desidratação. Os níveis de transaminases hepáticas estavam levemente elevados, embora o fígado não estivesse aumentado à palpação. Apesar dos níveis elevados de três ácidos graxos (4,3 nM) no sangue, os corpos cetônicos estavam abaixo do normal.



Di Abietes, uma mulher de 27 anos com diabetes melito tipo 1, foi internada há um ano no hospital em um coma cetoacidótico (ver Capítulo 4). Ela estava se sentindo sonolenta e tinha vomitado nas 24 horas anteriores à sua admissão. No momento da admissão, ela estava clinicamente desidratada, a pressão sangüínea estava baixa, e a respiração estava profunda e rápida (respiração de Kussmaul). O pulso rápido e a respiração tinham odor de acetona. O pH arterial era 7,08 (valores de referência, 7,36 a 7,44), e os níveis de corpos cetônicos eram de 15 mM (normal de aproximadamente 0,2 mM para uma pessoa com uma dieta normal).

I. ÁCIDOS GRAXOS COMO SUBSTRATOS ENERGÉTICOS

Os ácidos graxos oxidados como substratos energéticos são principalmente ácidos graxos de cadeia longa liberados das reservas de triacilglicerol do tecido adiposo entre as refeições, durante jejum noturno e durante períodos de demanda aumentada de substrato energético (p. ex., durante exercício). Os triacilgliceróis do tecido adiposo são derivados de duas fontes, lipídeos da dieta e triacilgliceróis sintetizados no fígado. Os principais ácidos graxos oxidados são ácidos graxos de cadeia longa, palmitato, oleato e estearato, pois são os mais altos nos lipídeos da dieta e também são sintetizados nos humanos.

Entre as refeições, um nível diminuído dos hormônios contra-regulatórios da insulina (p. ex., glucagon) ativa a lipólise, e os ácidos graxos livres são transportados para os tecidos ligados à albumina sérica. Nos tecidos, a energia é derivada da oxidação de ácidos graxos a acetil-CoA na rota de β-oxidação. A maioria das enzimas envolvidas na oxidação de ácidos graxos está presente como 2 a 3 isoenzimas, as quais têm especificidades diferentes, mas sobrepostas pela cadeia longa do ácido graxo. O metabolismo de ácidos graxos insaturados, ácidos graxos de cadeia ímpar e ácidos graxos de cadeia média necessita de variações desse padrão básico. A acetil-CoA produzida a partir da oxidação de ácido graxo é principalmente oxidada no ciclo do TCA ou convertida a corpos cetônicos no fígado.

A. Característica dos Ácidos Graxos Utilizados como Substratos Energéticos

A gordura constitui aproximadamente 38% das calorias da dieta média na América do Norte. Dessas, mais de 95% das calorias estão presentes como triacilgliceróis (três ácidos graxos esterificados em um esqueleto de glicerol). Durante a ingestão e a absorção, triacilgliceróis da dieta são quebrados em seus constituintes e, então, remontados para o transporte para o tecido adiposo em quilomícrons (ver Capítulo 2). Assim, a composição de ácido graxo do tecido adiposo varia com o tipo de alimento consumido.

Os ácidos graxos mais comuns são os ácidos graxos de cadeia longa palmitato (C16) e estearato (C18), o ácido graxo monossaturado oleato (C18:1) e o ácido graxo poliinsaturado essencial linoleato (C18:2) (para revisão da nomenclatura de ácido graxo, consulte Capítulo 5). A gordura animal contém principalmente os ácidos graxos de cadeia longa saturados e monoinsaturados, enquanto os óleos vegetais contêm linoleato e alguns ácidos graxos de cadeia mais longa e poliinsaturados. Eles também contêm quantidades menores de ácidos graxos de cadeia ramificada e de cadeia ímpar. Os ácidos graxos de cadeia média estão presentes principalmente na gordura do leite (p. ex., leite e manteiga), no leite materno e em óleos vegetais.

Os triacilgliceróis do tecido adiposo também contêm ácidos graxos sintetizados no fígado, principalmente a partir de excesso de calorias ingeridas como glicose. A rota da síntese de ácido graxo produz palmitato, o qual pode ser alongado para formar estearato e insaturado para formar oleato. Esses ácidos graxos são reunidos em triacilgliceróis e transportados para o tecido adiposo como lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL, do inglês *very-low-density lipoprotein*).

B. Transporte e Ativação de Ácidos Graxos de Cadeia Longa

Os ácidos graxos de cadeia longa são hidrofóbicos e insolúveis em água. Além disso, eles são tóxicos para as células, pois podem romper ligações hidrofóbicas entre cadeias laterais de aminoácidos em proteínas. Conseqüentemente, eles são transportados no sangue e nas células ligados a proteínas.

1. CAPTAÇÃO CELULAR DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA LONGA

Durante jejum e outras condições de necessidade metabólica, os ácidos graxos de cadeia longa são liberados dos triacilgliceróis do tecido adiposo pelas lipases. Eles são transportados no sangue ligados no nincho de ligação hidrofóbica da albumina, a principal proteína sérica (ver Figura 23.1).

Os ácidos graxos entram nas células por um processo de transporte saturável e por difusão através da membrana plasmática lipídica. Uma proteína de ligação de ácidos graxos na membrana plasmática facilita o transporte. Essa proteína liga o ácido graxo intracelular e pode facilitar seu transporte para a mitocôndria. A concentração de ácido graxo nas células é, portanto, extremamente baixa.

2. ATIVAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA LONGA

Os ácidos graxos devem ser ativados a derivados acil-CoA antes de poderem participar na β-oxidação e em outras rotas metabólicas (Figura 23.2). O processo de ativação envolve uma acil-CoA-sintetase (também chamada de tioquinase) que utiliza energia de ATP para formar a ligação tioéster acil-CoA. Nessa reação, a β-ligação do ATP é quebrada para formar um intermediário acil-AMP e pirofosfato (PP_i). A quebra subseqüente do PP_i auxilia a conduzir a reação.

A acil-CoA-sintetase que ativa os ácidos graxos de cadeia longa, 12 a 20 carbonos de comprimento, está presente em três localizações na célula: no retículo endoplasmático, nas membranas externas da mitocôndria e na membrana dos peroxissomas (Tabela 23.1). Essa enzima não tem atividade sobre ácidos graxos C22 ou mais longos e tem pouca atividade abaixo de C12. Em contraste, a sintetase para a ativação de ácidos graxos de cadeia muito longa está presente nos peroxissomas, e a enzima ativadora de ácidos graxos de cadeia média está presente apenas na matriz mitocondrial do fígado e das células renais.

3. DESTINO DAS ACIL-COA

A formação de acil-CoA, como a fosforilação da glicose, é um pré-requisito para o metabolismo de ácido graxo na célula (Figura 23.3). As múltiplas localizações da sintetase de acil-CoA de cadeia longa refletem a localização de diferentes rotas metabólicas tomadas por derivados acil-CoA na célula (p. ex., síntese de triacilglicerol e fosfolipí-

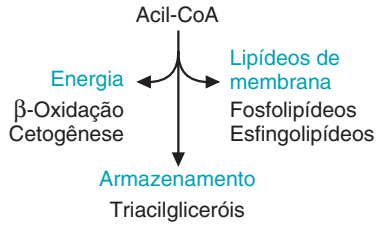


Figura 23.3 Rotas metabólicas principais para as acil-CoA de cadeia longa. Os ácidos graxos são ativados em compostos acil-CoA para a degradação na β-oxidação mitocondrial ou a incorporação em triacilgliceróis ou lipídeos de membrana. Quando a β-oxidação está bloqueada por uma deficiência de enzima hereditária, ou regulação metabólica, o excesso de ácidos graxos é desviado para a síntese de triacilglicerol.

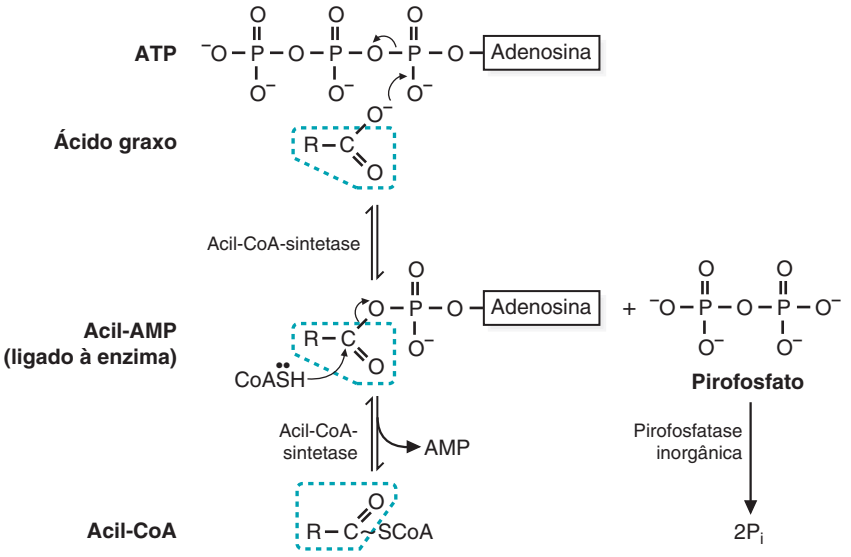


Figura 23.2 Ativação de um ácido graxo por uma acil-CoA-sintetase. O ácido graxo é ativado por reação com ATP para formar um acil-AMP rico em energia e pirofosfato. O AMP é, então, trocado por CoA. O pirofosfato é quebrado por uma pirofosfatase.

Tabela 23.1 Especificidade pelo Comprimento da Cadeia das Enzimas de Ativação e Oxidação de Ácido Graxo

Enzima	Comprimento da Cadeia	Comentários
Acil-CoA-sintetases		
Cadeia muito longa	14-26	Encontrada apenas nos peroxissomas.
Cadeia longa	12-20	Enzima presente nas membranas do RE, mitocôndria e peroxissomas para facilitar diferentes rotas das acil-CoA.
Cadeia média	6-12	Existe como muitas variantes, presente apenas na matriz mitocondrial dos rins e do fígado. Também envolvida no metabolismo xenobiótico.
Acetil	2-4	Presente no citoplasma e possivelmente na matriz mitocondrial.
Aciltransferases		
CPTI	12-16	Embora a atividade máxima seja para ácidos graxos com 12-16 carbonos de comprimento, ela também age sobre derivados de acil-CoA muito menores.
Cadeia média (octanoilcarnitina-transferase)	6-12	Os substratos são derivados de acil-CoA de cadeia média produzidos durante a oxidação nos peroxissomas.
Carnitina aciltransferase	2	Alto nível no músculo esquelético e no coração para facilitar a utilização de acetato como substrato energético.
Acil-CoA-desidrogenase		
VLCAD	14-20	Presente na membrana interna da mitocôndria.
LCAD	12-18	Membros da mesma família de enzimas, a qual também inclui acil-CoA-desidrogenase para esqueleto de carbono de aminoácidos de cadeia ramificada.
MCAD	4-12	
SCAD	4-6	
Outras enzimas		
Enoil-CoA-hidratase, cadeia curta	> 4	Também chamada de crotonase. A atividade diminui com o aumento do comprimento da cadeia.
L-3-hidroxiacil-CoA-desidrogenase, cadeia curta	4-16	A atividade diminui com o aumento do comprimento da cadeia.
Acetoacetil-CoA-tiolase	4	Especificidade por acetoacetil-CoA.
Proteína trifuncional	12-16	Complexo de enoil-hidratase de cadeia longa, acil-CoA-desidrogenase e uma tiolase com especificidade ampla. Mais ativa com cadeias mais longas.

deos no retículo endoplasmático, oxidação e síntese de plasmalogênio no peroxissoma e β-oxidação na mitocôndria). No fígado e em outros tecidos, os ácidos graxos que não estão sendo utilizados para a produção de energia são reincorporados (reesterificados) em triacilgliceróis.

4. TRANSPORTE DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA LONGA PARA DENTRO DA MITOCÔNDRIA

A carnitina serve como carreador que transporta grupos acila ativados de cadeia longa através da membrana interna da mitocôndria (Figura 23.4). As carnitina-acil-transferases são capazes de transferir de forma reversível um grupo acila ativado da CoA para o grupo hidroxila da carnitina para formar um éster acilcarnitina. A reação é reversível, de tal modo que derivados acil-CoA podem ser regenerados a partir de éster de carnitina.

A carnitina:palmitoil-transferase I (CPTI; também chamada de carnitina-aciltransferase I), a enzima que transfere grupos acila de cadeia longa a partir de carnitina, está localizada na membrana externa da mitocôndria (Figura 23.5). A acilcarnitina atravessa a membrana interna da mitocôndria com o auxílio de uma translocase. O grupo acila é transferido de volta para a CoA por uma segunda enzima, carnitina:palmitoiltransferase II (CPTII ou CATII). A carnitina liberada nessa reação retorna para o lado citosólico da membrana mitocondrial pela mesma translocase que leva a acilcarnitina para o lado da matriz. A acil-CoA de cadeia longa, agora localizada dentro da matriz mitocondrial, é um substrato para β-oxidação.

A carnitina é obtida da dieta ou sintetizada a partir da cadeia lateral da lisina por uma rota que inicia no músculo esquelético e é completada no fígado. As reações utilizam S-adenosilmetionina para doar grupos metila, e vitamina C (ácido ascórbico)

Diversas doenças hereditárias no metabolismo de carnitina ou acilcarnitinas foram descritas. Essas incluem defeitos nas seguintes enzimas ou sistemas: transportador para a captação de carnitina no músculo; CPT I; carnitina-acilcarnitina-translocase, e CPTII. A deficiência clássica de CPTII, a mais comum dessas doenças, é caracterizada por início na adolescência ou fase adulta de episódios recorrentes de mioglobinúria aguda precipitada por exercício ou jejum prolongado. Durante esses episódios, o paciente está fraco e pode estar um pouco hipoglicêmico com cetose diminuída (hipocetose), mas a descompensação metabólica não é grave. Os depósitos de lipídeos são encontrados nos músculos esqueléticos. Os níveis de CPK e acilcarnitinas de cadeia longa estão elevados no sangue. Os níveis de CPTII nos fibrosblastos estão aproximadamente 25% do normal. O restante da atividade da CPTII é responsável pelo efeito leve sobre o metabolismo do fígado. Em contraste, quando deficiência de CPTII aparece em bebês, os níveis de CPTII estão abaixo de 10% do normal, a hipoglicemia e a hipocetose são graves, ocorre hepatomegalia a partir dos depósitos de triacilgliceróis, e a cardiomiopatia também está presente.

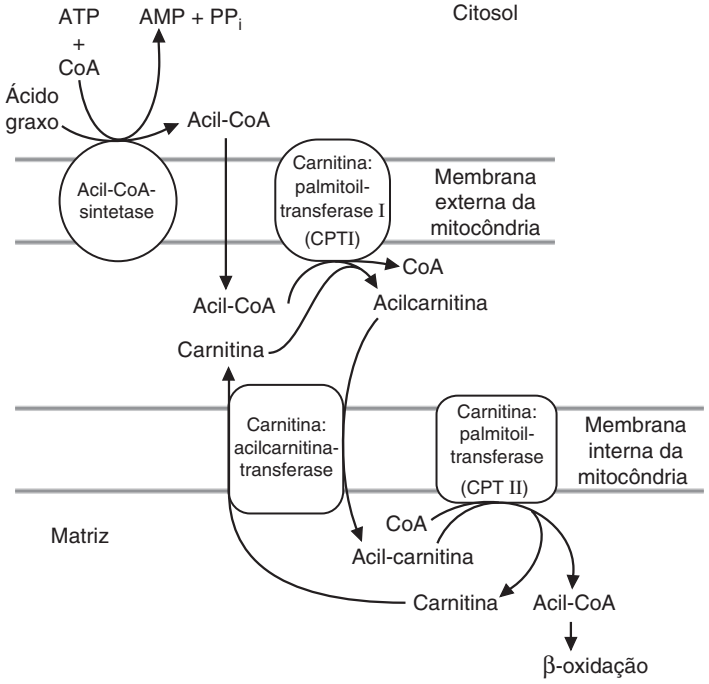
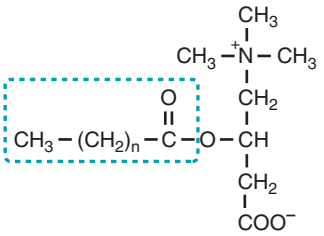


Figura 23.5 Transporte de ácidos graxos de cadeia longa na mitocôndria. A acil-CoA atravessa a membrana externa da mitocôndria. A carnitina:palmitoiltransferase I na membrana externa da mitocôndria transfere o grupo acila para a carnitina e libera CoASH. A acilacarnitina é translocada para dentro da matriz mitocondrial à medida que carnitina sai. A carnitina:palmitoiltransferase II na membrana interna da mitocôndria transfere o grupo acila de volta para CoASH, para formar acil-CoA na matriz.



Acilcarnitina

Figura 23.4 Estrutura da acilcarnitina. As carnitina:palmitoiltransferases catalisam a transferência reversível de um grupo acil de cadeia longa a partir da acil-CoA para o grupo hidroxila da carnitina. Os átomos nas caixas tracejadas se originam da acil-CoA.

O suplemento energético de **Otto Shape** contém carnitina. Contudo, seu corpo pode sintetizar carnitina suficiente para corresponder às suas necessidades, e sua dieta contém carnitina. A deficiência de carnitina foi encontrada apenas em bebês alimentados com uma fórmula a base de soja e que não era suplementada com carnitina. É provável que os outros suplemento da mesma maneira não forneçam benefício, mas são designados para facilitar a oxidação de ácido graxo durante exercício. A riboflavina é a vitamina precursora de FAD, a qual é necessária para acil-CoA-desidrogenases e ETF. A CoQ é sintetizada no corpo, mas é o recipiente na cadeia de transporte de elétrons para elétrons passados pelos complexos I e II e ETF. Alguns relatos sugerem que a suplementação com pantotenato, o precursor de CoA, melhora a *performance*.

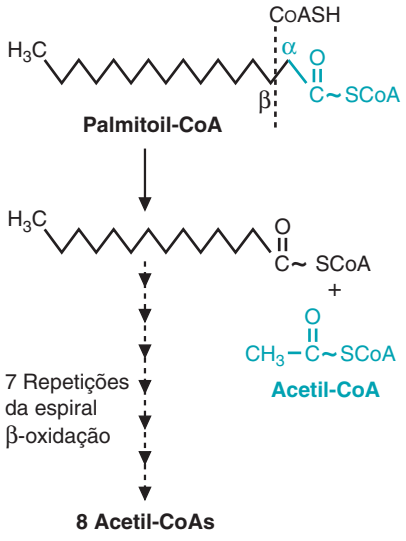


Figura 23.6 Visão geral da β-oxidação. A oxidação do carbono β é seguida por quebra da ligação α-β, liberando acetil-CoA e um acil-CoA que é dois carbonos menor do que a original. Os carbonos quebram para formar acetil-CoA (mostrados em azul). As espirais sucessivas de β-oxidação quebram completamente uma acil-CoA de cadeia par em acetil-CoA.

também é necessária para essas reações. Os músculos esqueléticos têm um sistema de alta afinidade para a carnitina, e a maioria da carnitina no corpo é armazenada no músculo esquelético.

C. β-Oxidação de Ácidos Graxos de Cadeia Longa

A oxidação de ácidos graxos em acetil-CoA na espiral de β-oxidação conserva energia como FAD(2H) e NADH. FAD(2H) e NADH são oxidados na cadeia de transporte de elétrons, produzindo ATP a partir da fosforilação oxidativa. A acetil-CoA é oxidada no ciclo do TCA ou convertida a corpos cetônicos.

1. A ESPIRAL DE β-OXIDAÇÃO

A rota de β-oxidação de ácido graxo quebra seqüencialmente o grupo acila em duas unidades carbono acetil-CoA, iniciando com a extremidade carboxila terminal ligada a CoA (Figura 23.6). Antes da quebra, o carbono β é oxidado a um grupo cetônico em duas reações que produzem NADH e FAD(2H); assim, a rota é chamada de β-oxidação. À medida que cada grupo acetila é liberado, o ciclo da β-oxidação inicia novamente, mas a cada vez o grupo acila é dois carbonos mais curto.

Há quatro tipos de reações na rota da β-oxidação (Figura 23.7). Na primeira etapa, uma ligação dupla é formada entre os carbonos α e β por uma acil-CoA-desidrogenase

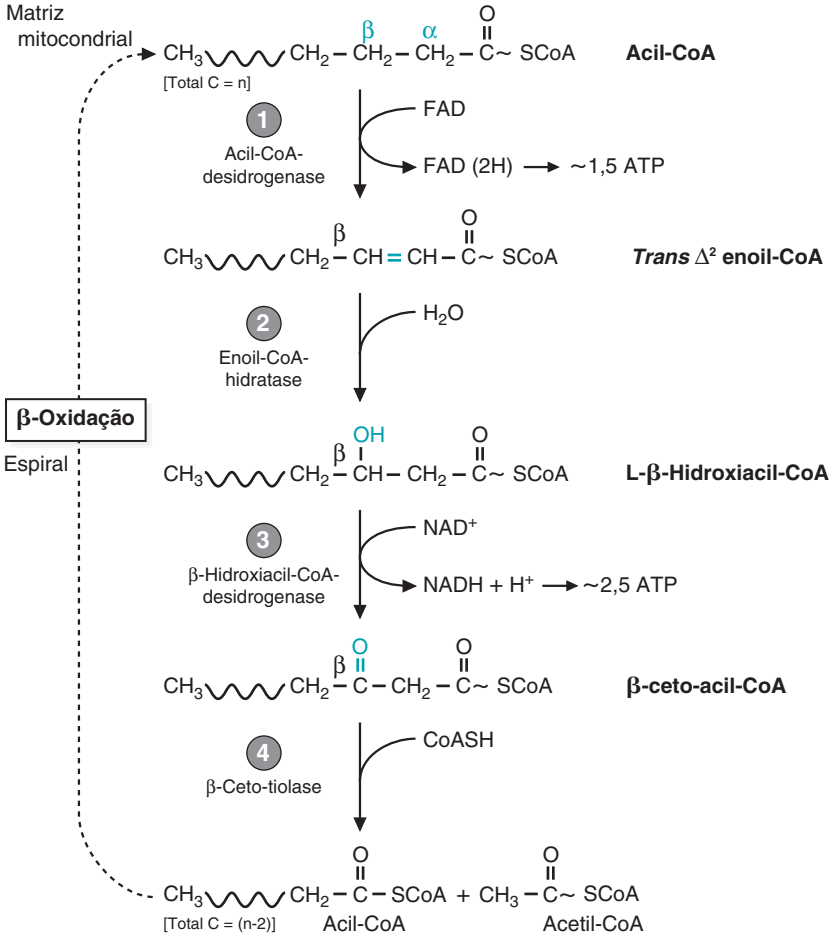


Figura 23.7 Etapas da β-oxidação. As quatro etapas são repetidas até que um ácido graxo de cadeia par seja completamente convertido a acetil-CoA. O FAD(2H) e o NADH são reoxidados pela cadeia de transporte de elétrons, produzindo ATP.

que transfere elétrons para FAD. A ligação dupla está na configuração *trans* (uma ligação dupla Δ^2-*trans*). Na próxima etapa, um OH da água é adicionado ao carbono β, e um H da água é adicionado ao carbono β. A enzima é chamada de enoil-hidratase (as hidratases adicionam os elementos da água, e o "ene" em um nome indica uma ligação dupla). Na terceira etapa da β-oxidação, o grupo hidroxila no carbono β é oxidado a uma cetona pela hidroxiacil-CoA-desidrogenase. Nessa reação, como na conversão da maioria dos alcoóis em cetonas, os elétrons são transferidos para NAD^+ para formar NADH. Na última reação da seqüência, a ligação entre os carbonos β e α é quebrada por uma reação que liga CoASH ao carbono β, e acetil-CoA é liberada. Essa é uma reação tiolítica (lise se refere à quebra da ligação, e tio se refere ao enxofre), catalisada por enzimas chamadas de β-cetotiolases. A liberação de dois carbonos a partir da extremidade carboxila da acil-CoA original produz acetil-CoA e uma acil-CoA que é dois carbonos mais curta do que a original.

A acil-CoA mais curta repete essas quatro etapas até que todos os seu carbonos sejam convertidos a acetil-CoA. A β-oxidação é, assim, mais uma espiral do que um ciclo. Na última volta da espiral, a quebra da acil-CoA de quatro carbonos (butiril-CoA) produz duas acetil-CoA. Assim, um ácido graxo de cadeia par como a palmitoil-CoA, a qual tem 16 carbonos, é quebrado sete vezes, produzindo 7 FAD(2H)s, 7 NADH e 8 acetil-CoA.

2. LIBERAÇÃO DE ENERGIA DA β-OXIDAÇÃO

Como o FAD em todas as flavoproteínas, o FAD(2H) ligado na acil-CoA-desidrogenase é oxidado novamente a FAD sem se dissociar da proteína (Figura 23.8). As flavoproteínas de transferência de elétron (ETF, do inglês *electron transfer flavoproteins*) na matriz mitocondrial captam elétrons a partir do FAD(2H) ligado à enzima e transferem esses elétrons para a ETF-QO (flavoproteína de transferência de elétron-CoQ-oxidoredutase, do inglês *electron transfer flavoprotein-CoQ oxidoreductase*) na membrana interna da mitocôndria. A ETF-QO, também uma flavoproteína, transfere os elétrons para a CoQ na cadeia de transporte de elétrons. A fosforilação oxidativa assim produz aproximadamente 1,5 ATP para cada FAD(2H) produzido na espiral de β-oxidação.

A energia total liberada a partir da oxidação de 1 mol de palmitil-CoA em 8 moles de acetil-CoA é, portanto, 28 moles de ATP: 1,5 para cada um dos 7 FAD(2H), e 2,5 para cada um dos NADH. Para calcular a liberação de energia de 1 mol de palmitato, dois ATP necessitam ser subtraídos do total devido ao fato de duas ligações de fosfato ricas em energia serem quebradas quando o palmitato é ativado a palmitil-CoA.

3. ESPECIFICIDADE DE COMPRIMENTO DE CADEIA NA β-OXIDAÇÃO

As quatro reações de β-oxidação são catalisadas por grupos de enzimas que são cada uma específica para ácidos graxos de comprimentos de cadeia diferentes (ver Tabela 23.1). As acil-desidrogenases, as quais catalisam a primeira etapa da rota, são parte de uma família de enzimas que têm quatro faixas distintas de especificidade. As etapas subseqüentes da espiral utilizam enzimas específicas para enoil-CoA de cadeia longa

A espiral de β-oxidação utiliza os mesmos tipos de reações vistos no ciclo do TCA quando succinato é convertido a oxaloacetato.

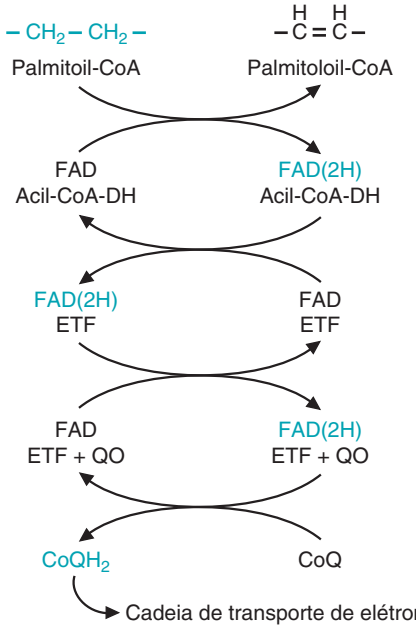


Figura 23.8 Transferência de elétrons a partir da acil-CoA-desidrogenase para a cadeia de transporte de elétrons. Abreviações: ETF = flavoproteína de transferência de elétron; ETF-QO = flavoproteína de transferência de elétron-Coenzima Q-oxirredutase.

Qual é a liberação total de ATP para a oxidação de 1 mol de ácido palmítico em dióxido de carbono e água?

Após revisar os registros hospitalares prévios de **Lofata Burne**, um especialista suspeitou que os problemas médicos da paciente eram causados por um distúrbio no metabolismo de ácidos graxos. Uma bateria de testes mostrou que o sangue de Lofata continha níveis elevados de diversos ácidos graxos de cadeia média parcialmente oxidados, como ácido octanóico (8:0) e ácido 4-decenóico (10:1, Δ4). Uma amostra de urina mostrou um aumento nos metabólitos de ácidos orgânicos de ácidos graxos de cadeia média contendo 6 a 10 carbonos, incluindo derivados da acilcarnitina de cadeia média. O perfil das espécies de acilcarnitina na urina foi característico de uma deficiência geneticamente determinada de acil-CoA-desidrogenase de cadeia média (MCAD, do inglês *medium-chain acyl CoA dehydrogenase*). Nessa doença, ácidos graxos de cadeia longa são metabolizados por β-oxidação em uma acil-CoA de cadeia média, como a octanoil-CoA. Devido ao fato de a oxidação posterior desse composto estar bloqueada na deficiência de MCAD, o grupo acila de cadeia média é transferido de volta para a carnitina. Essas acilcarnitinas são solúveis em água e aparecem no sangue e na urina. A deficiência de enzima específica foi demonstrada em cultura de fibroblastos da pele de Lofata e de seus leucócitos monocíticos circulantes.

Na deficiência LCAD (Acil-CoaA-desidrogenase de cadeia longa, do inglês *long-chain acyl CoA dehydrogenase*), as acilcarnitinas se acumulam no sangue. Aquelas contendo 14 carbonos predominam. Contudo, não aparecem na urina.

R: O ácido palmítico tem 16 carbonos sem ligações duplas, de tal modo que necessita de 7 espirais de oxidação para ser completamente convertido a acetil-CoA. Após 7 espirais, há liberação de 7 FAD(2H)s, 7 NADHs e 8 acetil-CoAs. Cada NADH produz 2,5 ATP; cada FAD(2H); 1,5 ATP; e cada acetil-CoA; 10 ATP à medida que é oxidada pelo ciclo do TCA. Esse, então, libera 17,5 + 10,5 + 80,5 = 108 ATP. Contudo, a ativação de ácido palmítico em palmitoil-CoA necessita de duas ligações ricas em energia, de tal modo que o balancete energético é 108 – 2, ou 106 moles de ATP.

O linoleato, embora abundante na dieta, não pode ser sintetizado nos humanos e é um ácido graxo essencial. Ele é necessário para a formação de araquidonato, o qual está presente nos lipídeos plasmáticos, e é utilizado para a síntese de eicosanóides. Portanto, apenas uma porção do *pool* de linoleato é rapidamente oxidada.

A sintetase de acil-CoA de cadeia média tem uma faixa de especificidade para compostos de aproximadamente o mesmo tamanho que contêm um grupo carboxila, como fármacos (salicilato, do metabolismo da aspirina, e valproato, o qual é utilizado para tratar convulsões), ou benzoato, um componente comum de plantas. Uma vez que o fármaco-acil-CoA é formado, o grupo acila é conjugado com glicina para formar um produto de excreção urinária. Em certos distúrbios da oxidação de ácidos graxos, as acilglicinas de cadeias curta e média podem aparecer na urina, junto com acilcarnitinas ou ácidos dicarboxílicos.

ou curta. Embora essas enzimas sejam estruturalmente distintas, suas especificidades se sobrepõem em alguma extensão.

À medida que cadeias acil são encurtadas pela quebra consecutiva de duas unidades acetila, elas são transferidas das enzimas que agem sobre cadeias mais longas para aquelas que agem sobre cadeias mais curtas. As Acil-CoA de cadeia curta ou média que podem ser formadas a partir de ácidos graxos da dieta, ou transferidas dos peroxissomas, entram na espiral na enzima mais ativa para os ácidos graxos do seu comprimento de cadeia.

4. OXIDAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS

Aproximadamente metade dos ácidos graxos da dieta humana são insaturados, contendo ligações duplas *cis*, com oleato (C18:1, Δ^9) e linoleato (18:2, $\Delta^{9,12}$) sendo as mais comuns. Na β-oxidação de ácidos graxos saturados, uma ligação dupla *trans* é criada entre o segundo e o terceiro (α e β) carbono. Para ácidos graxos insaturados entrarem na espiral de β-oxidação, suas ligações *cis* devem ser isomerizadas para ligações duplas *trans* que ficarão entre o segundo e o terceiro carbono durante a β-oxidação, ou a ligação dupla deve ser reduzida. O processo está ilustrado com o ácido graxo poliinsaturado linoleato na Figura 23.9. O linoleato sofre β-oxidação até uma ligação dupla entre os carbonos 3 e 4 próximos à extremidade carboxila da cadeia acil, e outra entre os carbonos 6 e 7. Uma isomerase move a ligação dupla da posição 3,4, de tal modo que ela seja *trans* e esteja na posição 2,3, e a β-oxidação continua. Quando um par de ligações duplas conjugadas é formado (duas ligações duplas separadas por uma ligação simples) nas posições 2 e 4, uma redutase NADPH-dependente reduz o par a uma ligação dupla na posição 3. Assim a isomerização e a β-oxidação continuam.

No oleato (C18:1, Δ^9), existe apenas uma ligação dupla entre os carbonos 9 e 10. Ela é alterada por uma reação de isomerização similar àquela mostrada para a ligação dupla na posição 9 do linoleato.

5. ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA ÍMPAR

Os ácidos graxos contendo um número ímpar de átomos de carbono sofrem β-oxidação, produzindo acetil-CoA, até a última espiral, quando restam cinco carbonos na acil-CoA. Nesse caso, a quebra pela tiolase produz acetil-CoA e uma acil-CoA de três carbonos, a propionil-CoA (Figura 23.10). A carboxilação da propionil-CoA libera metilmalonil-CoA, a qual é finalmente convertida em succinil-CoA em uma reação dependente de vitamina B12 (Figura 23.11). A propionil-CoA também se origina da oxidação de aminoácidos de cadeia ramificada.

A rota de propionil-CoA a succinil-CoA é uma rota anaplerótica principal para o ciclo do TCA e é utilizada para a degradação de valina, isoleucina e diversos outros compostos. No fígado, essa rota fornece precursores de oxaloacetato, o qual é convertido em glicose. Assim, essa pequena porção de ácido graxo de cadeia ímpar pode ser convertida em glicose. Em contraste, a acetil-CoA formada por β-oxidação de ácidos graxos de cadeia par no fígado entra no ciclo do TCA, onde é principalmente oxidada a CO_2 ou é convertida em corpos cetônicos.

D. Oxidação de Ácidos Graxos de Cadeia Média

Os ácidos graxos de cadeia média da dieta são mais hidrossolúveis do que os ácidos graxos de cadeia longa e não são armazenados nos triacilgliceróis adiposos. Após uma refeição, eles entram no sangue e passam pela veia porta para o fígado. No fígado, eles entram na matriz mitocondrial pelo transportador de monocarboxilato e são ativados em derivados de acil-CoA na matriz mitocondrial (ver Figura 23.1). As acil-CoA de cadeia média, como as acil-CoA de cadeia longa, são oxidadas a acetil-CoA por espiral de β-oxidação. As acil-CoA também podem se originar da rota de oxidação peroxissomal.

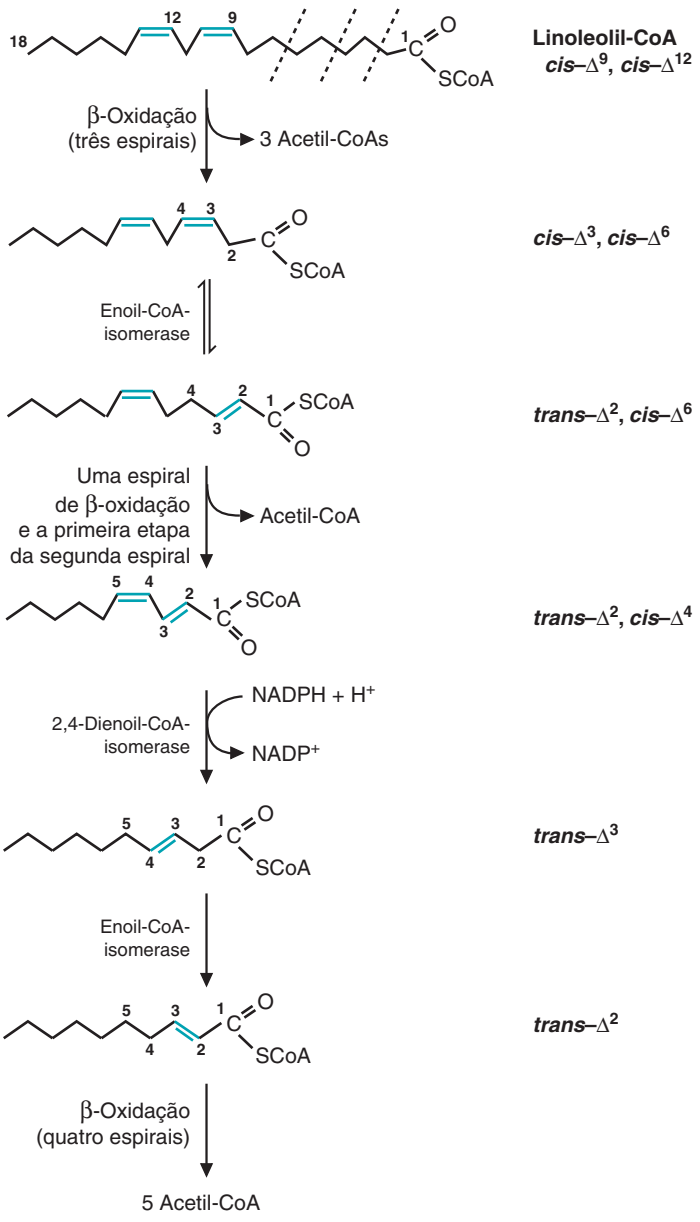


Figura 23.9 Oxidação de linoleato. Após três espirais de β-oxidação (linhas tracejadas), há uma ligação dupla *cis* 3,4 e uma ligação dupla *cis* 6,7. A ligação dupla *cis* 3,4 é isomerizada em uma ligação dupla *trans* 2,3, a qual está na configuração apropriada para as enzimas normais agirem. Uma espiral de β-oxidação ocorre, mais a primeira etapa de uma segunda espiral. Uma redutase que utiliza NADPH converte essas duas ligações duplas (entre carbonos 2 e 3 e carbonos 4 e 5) a uma ligação dupla entre os carbonos 3 e 4 em uma configuração *trans*. A isomerase (a qual pode agir sobre ligações duplas que têm configuração *cis* ou *trans*) move essa ligação dupla para a posição *trans* 2,3, e a β-oxidação pode continuar.

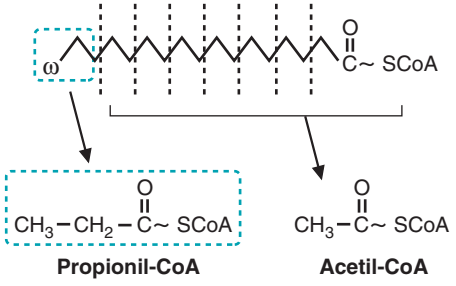


Figura 23.10 Formação de propionil-CoA de ácidos graxos de cadeia ímpar. As espirais sucessivas de β-oxidação quebram cada uma das ligações marcadas com linhas tracejadas, produzindo acetil-CoA exceto para os três carbonos na extremidade ω, os quais produzem propionil-CoA.

E. Regulação da β-Oxidação

Os ácidos graxos são utilizados como substratos energéticos principalmente quando são liberados dos triacilgliceróis do tecido adiposo em resposta a hormônios que sinalizam jejum ou demanda aumentada. Muitos tecidos, como músculo e rins, oxidam

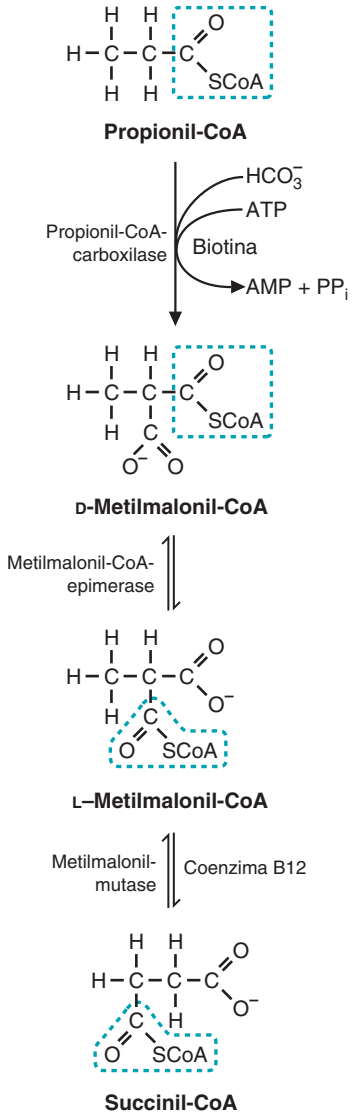


Figura 23.11 Conversão de propionil-CoA em succinil-CoA. A succinil-CoA, um intermediário do ciclo do TCA, pode formar malato, o qual pode ser convertido a glicose no fígado por processo de gliconeogênese. Certos aminoácidos também formam glicose por essa rota (ver Capítulo 39).

Quando **Otto Shape** corre, seus músculos esqueléticos aumentam o uso de ATP e a taxa de oxidação de substrato energético. A oxidação de ácido graxo é acelerada pela velocidade aumentada da cadeia de transporte de elétrons. Quando ATP é utilizado e AMP aumenta, uma proteína-quinase dependente de AMP age para facilitar a utilização de substrato energético e mantém a homeostasia do ATP. A fosforilação da acetil-CoA-carboxilase resulta em um nível diminuído de malonil-CoA e em atividade aumentada de carnitina:palmitoil-CoA-transferase I. Ao mesmo tempo, a proteína-quinase dependente de AMP facilita o recrutamento de transportadores de glicose para a membrana plasmática do músculo esquelético, aumentando, assim, a velocidade de captação da glicose. AMP e sinais hormonais também aumentam o fornecimento de glicose-6-P a partir da glicogenólise. Assim, os músculos são supridos com mais substratos energéticos, e todas as rotas oxidativas são aceleradas.

completamente ácidos graxos a CO_2 e H_2O. Nesses tecidos, a acetil-CoA produzida por β-oxidação entra no ciclo do TCA. O FAD(2H) e o NADH da β-oxidação e do ciclo do TCA são reoxidados por cadeia de transporte de elétrons, e o ATP é produzido. O processo de β-oxidação é regulado por necessidades celulares de energia (ou seja, pelos níveis de ATP e NADH), pois ácidos graxos não podem ser oxidados mais rápido do que NADH e FAD(2H) são reoxidados na cadeia de transporte de elétrons.

A oxidação de ácido graxo também pode ser restrita pela quantidade de CoASH mitocondrial. As unidades de acetil-CoA devem entrar no ciclo do TCA ou em outras rotas metabólicas para regenerar a CoASH necessária para a formação de qualquer derivado acil-CoA a partir de acilcarnitina.

Um tipo adicional de regulação ocorre na carnitina:palmitoiltransferase I (CPTI). A carnitina:palmitoiltransferase I é inibida por malonil-CoA, a qual é sintetizada no citosol de muitos tecidos pela acetil-CoA-carboxilase (Figura 23.12). A acetil-CoA-carboxilase é regulada por diversos mecanismos diferentes, alguns dos quais são tecido-dependentes. Em músculos esqueléticos e no fígado, ela é inibida quando fosforilada por proteína-quinase B, uma proteína-quinase dependente de AMP. Assim, durante exercício, quando os níveis de AMP aumentam, a proteína-quinase dependente de AMP, fosforila a acetil-CoA-carboxilase, a qual se torna inativa. Conseqüentemente, os níveis de malonil-CoA diminuem, a carnitina:palmitoiltransferase I é ativada, e a β-oxidação de ácidos graxos é capaz de reestabelecer a homeostase de ATP e os níveis de AMP diminuídos. No fígado, além da regulação por proteína-quinase dependente de AMP, a acetil-CoA-carboxilase é ativada por mecanismos dependentes de insulina, a qual promove a conversão de malonil-CoA em palmitato na rota da síntese de ácidos graxos. Assim, no fígado, a inibição da CPTI por malonil-CoA impede os ácidos graxos recém-sintetizados de serem oxidados.

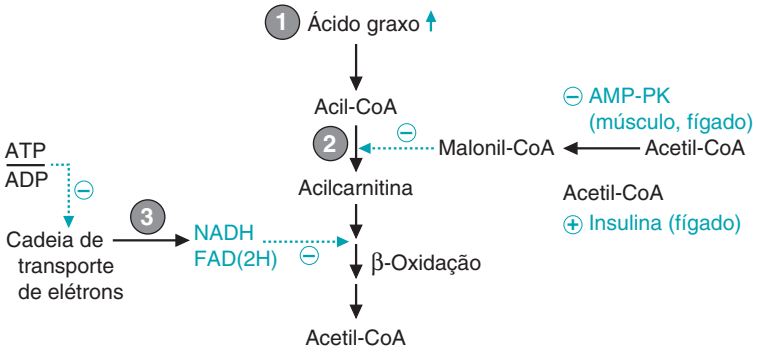


Figura 23.12 Regulação da β-oxidação. (1) Os hormônios controlam o fornecimento de ácidos graxos no sangue. (2) A carnitina:palmitoiltransferase I é inibida por malonil-CoA, a qual é sintetizada por acetil-CoA-carboxilase (ACC). A AMP-PK é a proteína-quinase dependente de AMP. (3) A velocidade de utilização de ATP controla a velocidade da cadeia de transporte de elétrons, a qual regula as enzimas oxidativas da β-oxidação no ciclo do TCA.

A β-oxidação é uma rota estritamente aeróbica, dependente de oxigênio, um bom suprimento de sangue, e níveis adequados de mitocôndrias. Os tecidos que não têm mitocôndrias, como as células sangüíneas vermelhas, não podem oxidar ácidos graxos por β-oxidação. Os ácidos graxos também não servem como substrato energético para o cérebro. Eles não são utilizados por adipócitos, cuja função é armazenar triacilgliceróis para fornecer um substrato energético para outros tecidos. Aqueles tecidos que não utilizam ácidos graxos como substrato energético, ou os utilizam apenas em uma extensão limitada, são capazes, no entanto, de utilizar corpos cetônicos.

II. ROTAS ALTERNATIVAS DA OXIDAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos que não são prontamente oxidados pelas enzimas da β-oxidação entram nas rotas alternativas de oxidação, incluindo a oxidação α e β peroxissomal e a oxidação ω. A função dessas rotas é converter tanto quanto possível os ácidos graxos incomuns em compostos que podem ser utilizados como substratos energéticos ou precursores de rotas de biossíntese e converter o restante em compostos que podem ser excretados na bile ou na urina. Durante jejum prolongado, os ácidos graxos liberados de triacilgliceróis adiposos podem entrar na rota de oxidação ω ou oxidação β peroxissomal, embora tenham uma composição normal. Essas rotas não apenas utilizam os ácidos graxos, mas eles agem sobre os ácidos carboxílicos xenobióticos, que são grandes moléculas hidrofóbicas semelhantes aos ácidos graxos.

Xenobiótico: um termo utilizado para denominar todos os compostos orgânicos que são estranhos para um organismo. Isso também pode incluir compostos que ocorrem naturalmente, que são administrados por rotas alternativas ou em concentrações incomuns. Fármacos podem ser considerados xenobióticos.

A. Oxidação Peroxissomal de Ácidos Graxos

Uma pequena proporção da dieta humana consiste em ácidos graxos de cadeia muito longa (20 ou mais carbonos) ou ácidos graxos de cadeia ramificada que se originam a partir de produtos da degradação da clorofila. A síntese de ácidos graxos de cadeia muito longa também ocorre dentro do corpo, especialmente em células do cérebro e do sistema nervoso, as quais os incorporam nos esfingolipídeos da mielina. Esses ácidos graxos são oxidados pelas rotas de oxidação α e β peroxissomal, as quais são essencialmente rotas de encurtamento de cadeia.

1. ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA MUITO LONGA

Os ácidos graxos de cadeia muito longa de 24 a 26 carbonos são oxidados exclusivamente em peroxissomas por uma seqüência de reações similares a β-oxidação mitocondrial, pois elas produzem acetil-CoA e NADH. Contudo, a oxidação peroxissomal de ácidos graxos de cadeia linear pára quando a cadeia atinge o comprimento de 4 a 6 carbonos. Alguns dos ácidos graxos de cadeia longa também podem ser oxidados por essa rota.

A acil-CoA-sintetase de ácido graxo de cadeia longa está presente na membrana peroxissomal, e os derivados da acil-CoA entram no peroxissoma por um transporte que não necessita de carnitina. A primeira enzima da β-oxidação peroxissomal é uma oxidase, a qual doa elétrons diretamente para o oxigênio molecular e produz peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Figura 23.13) (em contraste, a primeira enzima da β-oxidação mitocondrial é uma desidrogenase que contém FAD e transfere os elétrons para a cadeia de transporte de elétrons por meio de ETF). Assim, a primeira enzima da oxidação peroxissomal não está ligada à produção de energia. As três etapas restantes da β-oxidação são catalisadas por enoil-CoA-hidratase, hidroxiacil-CoA-desidrogenase e tiolase, enzimas com atividades similares àquelas encontradas na β-oxidação mitocondrial, mas codificadas por genes diferentes. Assim, são produzidos, para cada volta da espiral, um NADH e uma acetil-CoA. A espiral de β-oxidação peroxissomal continua produzindo acetil-CoA até que uma acil-CoA de cadeia média, a qual pode ser tão pequena quato a butiril-CoA, seja formada (Figura 23.14).

Dentro do peroxissoma, os grupos acetila podem ser transferidos da CoA para carnitina por uma acetilcarnitina-transferase, ou podem passar para o citosol. Uma reação

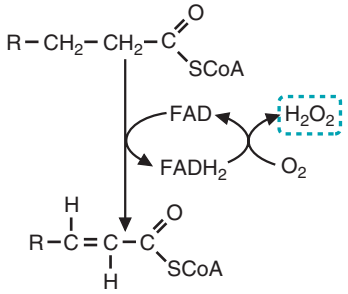


Figura 23.13 Oxidação de ácidos graxos em peroxissomas. A primeira etapa da β-oxidação é catalisada por uma oxidase que contém FAD. Os elétrons são transferidos de FAD(2H) para O_2, o qual é reduzido a peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

Diversas deficiências hereditárias de enzimas peroxissomais foram descritas. A síndrome de Zellweger, a qual resulta da biogênese defeituosa de peroxissomas, leva ao complexo desenvolvimento e ao metabolismo de fenótipos afetando principalmente o fígado e o cérebro. Uma das características dessas doenças é uma elevação nos níveis de ácidos graxos C26:0 e C26:1 no plasma. A doença de Refsum é causada por uma deficiência em uma única enzima peroxissomal, a fitanoil-CoA-hidroxilase, que realiza a α-oxidação do ácido fitânico. Os sintomas incluem retinite pigmentosa, ataxia cerebelar e polineuropatia crônica. Devido ao fato de o ácido fitânico ser obtido apenas da dieta, colocar o paciente em uma dieta baixa em ácido fitânico resultou em melhora importante.

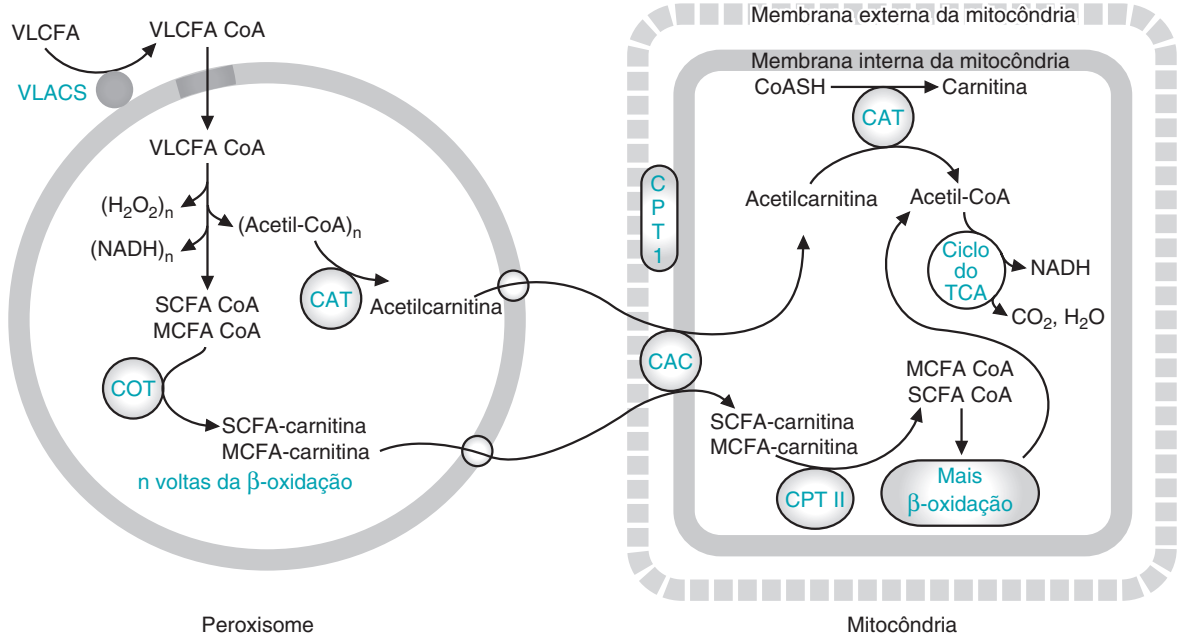


Figura 23.14 Encurtamento de cadeia por β-oxidação peroxissomal. VLCFA, acil de cadeia muito longa; VLACS, acil-CoA-sintetase de cadeia muito longa; MCFA, acil de cadeia média; SCFA, acil de cadeia curta; CAT, carnitina:acetiltransferase; COT, carnitina:octanoiltransferase; CAC, carreador carnitina:acilcarnitina; CPT1, carnitina:palmitoiltransferase 1; CPT2, carnitina:palmitiltransferase 2; OMM, membrana externa da mitocôndria; IMM, membrana interna da mitocôndria. Acil-CoA de cadeia muito longa e algumas acil-CoA de cadeia longa são oxidadas nos peroxissomas por n ciclos de β-oxidação até o estágio de acil-CoA de cadeia curta ou média. Essas acil-CoA de cadeia curta ou média são convertidas a derivados da carnitina por COT ou CAT nos peroxissomas. Na mitocôndria, as SCFA-carnitinas são convertidas novamente em derivados acil-CoA pela CPT2 ou CAT.

similar converte acil-CoA de cadeia média e a butiril-CoA de cadeia curta em derivados acilcarnitina. Essas acilcarnitinas difundem do peroxissoma para a mitocôndria, passam através da membrana externa da mitocôndria e são transportadas através da membrana interna da mitocôndria pelo sistema carnitina-translocase.

Eles são convertidos novamente a acil-CoA por carnitina:aciltransferases apropriadas para seu comprimento de cadeia e entram nas rotas normais para β-oxidação e metabolismo da acetil-CoA. Os elétrons do NADH e acetil-CoA também podem passar do peroxissoma para o citosol. A exportação de NADH contendo elétrons ocorre pelo uso de um sistema de lançadeiras similar àqueles descritos para a transferência do elétron do NADH para dentro da mitocôndria.

Os peroxissomas estão presentes em quase todos os tipos celulares e contêm muitas enzimas de degradação, além de acil-CoA-oxidase, que produz peróxido de hidrogênio. H_2O_2 pode produzir radicais livres tóxicos. Assim, essas enzimas estão confinadas aos peroxissomas, onde o H_2O_2 pode ser neutralizado pela enzima de defesa contra o radical livre, catalase. A catalase converte H_2O_2 em água e O_2.

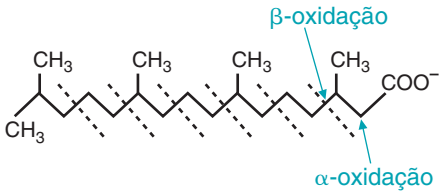


Figura 23.15 Oxidação do ácido fitânico. Uma α-hidroxilase peroxissomal oxida o carbono α, e sua oxidação subseqüente em um grupo carboxila libera o carbono carboxila como CO_2. As espirais subseqüentes da β-oxidação peroxissomal alternativamente liberam propionil-CoA e acetil-CoA. Em um comprimento de cadeia de aproximadamente oito carbonos, o ácido graxo ramificado remanescente é transferido para a mitocôndria como derivado da carnitina de cadeia média.

2. ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA LONGA RAMIFICADA

Dois dos ácidos graxos de cadeia ramificada mais comuns na dieta são o ácido fitânico e o ácido pristânico, os quais são produtos da degradação da clorofila e, assim, são consumidos nos vegetais verdes (Figura 23.15). Animais não sintetizam ácidos graxos de cadeia ramificada. Esses dois ácidos graxos multimetilados são oxidados nos peroxissomas até o nível de ácido graxo C8, o qual é, então, transferido para a mitocôndria. A rota, assim, é similar àquela para a oxidação de ácidos graxos de cadeia linear muito longa.

O ácido fitânico, um ácido graxo C20 multimetilado, é primeiro oxidado a ácido pristânico utilizando a rota da α-oxidação (ver Figura 23.15). A hidrolase do ácido fitânico introduz um grupo hidroxila no carbono α, o qual é, então, oxidado a um grupo carboxila com a liberação do grupo carboxila original como CO_2. Pelo encurtamento

do ácido graxo em um carbono, os grupos metila aparecerão no carbono α e não no carbono β durante a espiral de β-oxidação, e não podem mais interferir na oxidação do carbono β. A β-oxidação peroxissomal, assim, pode prosseguir normalmente, liberando propionil-CoA e acetil-CoA em voltas alternadas da espiral. Quando uma cadeia média de aproximadamente oito carbonos é alcançada, o ácido graxo é transferido para a mitocôndria como um derivado da carnitina, e a β-oxidação continua.

B. ω-Oxidação de Ácidos Graxos

Os ácidos graxos também podem ser oxidados no carbono ω da cadeia (o grupo metila terminal) por enzimas do retículo endoplasmático (Figura 23.16). O grupo ω-metila é primeiro oxidado em um álcool por uma enzima que utiliza citocromo P450, oxigênio molecular e NADPH. As desidrogenases convertem o grupo álcool em um ácido carboxílico. Os ácidos dicarboxílicos produzidos por ω-oxidação podem sofrer β-oxidação, formando compostos com 6 a 10 carbonos que são solúveis em água. Tais compostos podem então passar para o sangue como ácidos graxos de cadeia média ou ser excretados na urina como ácidos dicarboxílicos de cadeia média.

As rotas da oxidação α e β peroxissomal e a rota da oxidação ω microssomal não são reguladas por retroalimentação. Estas rotas funcionam para diminuir níveis de ácidos graxos insolúveis em água ou de compostos xenobióticos com uma estrutura semelhante a um ácido graxo que se tornariam tóxicos para as células em altas concentrações. Assim, sua velocidade é regulada pela disponibilidade de substrato.

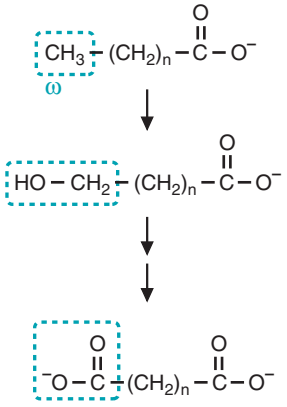


Figura 23.16 A ω-oxidação de ácidos graxos os converte em ácidos dicarboxílicos.

Normalmente, a ω-oxidação é um processo menor. Contudo, em condições que interferem com a β-oxidação (como a deficiência de carnitina ou a deficiência de uma enzima da β-oxidação), a ω-oxidação produz ácidos dicarboxílicos em quantidades aumentadas. Esses ácidos dicarboxílicos são excretados na urina.

Lofata Burne estava excretando ácidos dicarboxílicos em sua urina, particularmente ácido adípico (o qual tem seis carbonos) e ácido subérico (o qual tem oito carbonos).
$^{-}$OOC—CH2—CH2—CH2—CH2—COO^{-}
Ácido adípico
$^{-}$OOC—CH2—CH2—CH2—CH2—CH2—CH2—COO^{-} Ácido subérico

III. METABOLISMO DE CORPOS CETÔNICOS

De maneira geral, os ácidos graxos liberados dos triacilgliceróis adiposos servem como o principal substrato energético para o corpo durante o jejum. Esses ácidos graxos são completamente oxidados a CO_2 e H_2O por alguns tecidos. No fígado, grande parte da acetil-CoA produzida pela β-oxidação de ácidos graxos é utilizada para a síntese dos corpos cetônicos acetoacetato e β-hidroxibutirato, os quais passam para o sangue (Figura 23.17). No músculo esquelético e em outros tecidos, esses corpos

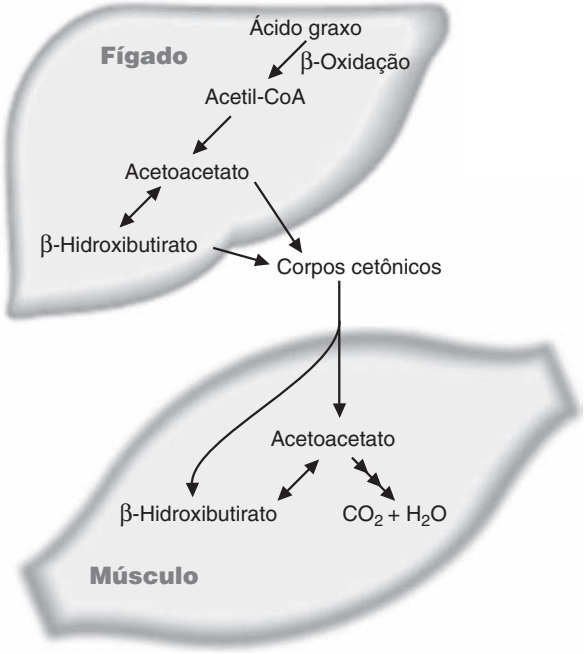


Figura 23.17 Os corpos cetônicos, acetoacetato e β-hidroxibutirato são sintetizados no fígado. Seu principal destino é a conversão de volta a acetil-CoA e a oxidação no ciclo do TCA em outros tecidos.

cetônicos são convertidos novamente a acetil-CoA, a qual é oxidada no ciclo do TCA com produção de ATP. Um destino alternativo do acetoacetato nesses tecidos é a formação de acetil-CoA citosólica.

A. Síntese de Corpos Cetônicos

No fígado, os corpos cetônicos são sintetizados na matriz mitocondrial a partir da acetil-CoA produzida pela oxidação de ácido graxo (Figura 23.18). A reação da tiolase da oxidação de ácido graxo, a qual converte acetoacetil-CoA em duas moléculas de acetil-CoA, é uma reação reversível, embora a formação de acetoacetil-CoA não seja um

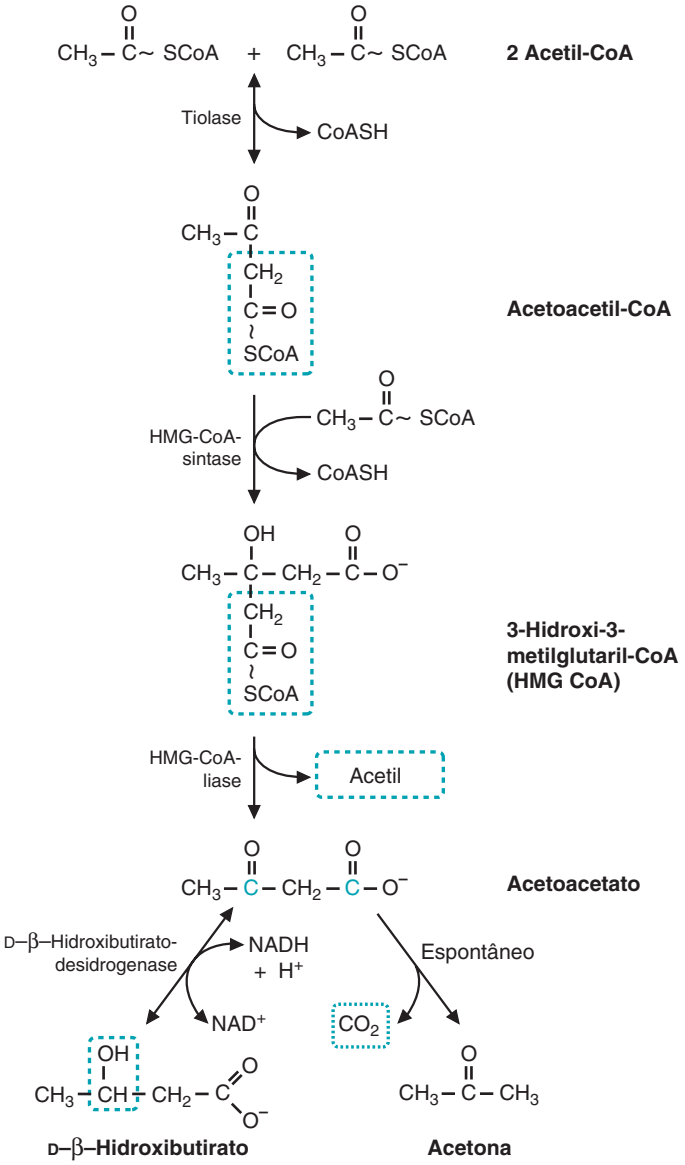


Figura 23.18 Síntese de corpos cetônicos acetoacetato, β-hidroxibutirato e acetona. A porção da HMG-CoA mostrada em azul é liberada como acetil-CoA, e o restante da molécula forma acetoacetato. O acetoacetato é reduzido a β-hidroxibutirato ou descarboxilado a acetona. Observe que a desidrogenase que interconverte acetoacetato em β-hidroxibutirato é específica para o isômero D. Assim, ela difere das desidrogenases da β-oxidação, a qual age sobre derivados de 3-hidroxiacil-CoA e é específica para o isômero L.

procedimento favorável. Ela pode, assim, quando os níveis de acetil-CoA estão altos, produzir acetoacetil-CoA para a síntese de corpos cetônicos. A acetoacetil-CoA reagirá com acetil-CoA para produzir 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA). A enzima que catalisa essa reação é a HMG-CoA-sintase. Na reação seguinte da rota, a HMG-CoA-liase catalisa a quebra de HMG-CoA para formar acetil-CoA e acetoacetato.

O acetoacetato pode passar diretamente para o sangue ou pode ser reduzido pela β-hidroxibutirato-desidrogenase a β-hidroxibutirato, o qual passa para o sangue (ver Figura 23.18). Essa reação da desidrogenase é prontamente reversível e interconverte esses corpos cetônicos, os quais existem em uma razão de equilíbrio determinada pela razão NADH/NAD^+ da matriz mitocondrial. Sob condições normais, a razão de β-hidroxibutirato e acetoacetato no sangue é de aproximadamente 1:1.

Um destino alternativo do acetoacetato é a descarboxilação espontânea, uma reação não-enzimática que quebra acetoacetato em CO_2 e acetona (ver Figura 23.18). Devido ao fato de a acetona ser volátil, ela é expirada pelos pulmões. Uma pequena quantidade de acetona pode ser posteriormente metabolizada no corpo.

B. Oxidação de Corpos Cetônicos como Substratos Energéticos

Acetoacetato e β-hidroxibutirato podem ser oxidados como substratos energéticos na maioria dos tecidos, incluindo músculo esquelético, cérebro, certas células dos rins e células da mucosa intestinal. As células transportam ambos acetoacetato e β-hidroxibutirato do sangue circulante para o citosol e para dentro da matriz mitocondrial. Aqui o β-hidroxibutirato é oxidado novamente a acetoacetato pela β-hidroxibutirato-desidrogenase. Essa reação produz NADH. As etapas subseqüentes convertem acetoacetato em acetil-CoA (Figura 23.19).

Na mitocôndria, o acetoacetato é ativado a acetoacetil-CoA pela succinil-CoA: acetoacetato-CoA-transferase. Como o nome sugere, a CoA é transferida da succinil-CoA, um intermediário do ciclo do TCA, para acetoacetato. Embora o fígado produza corpos cetônicos, ele não os usa, pois essa enzima tiotransferase não está presente em quantidade suficiente.

A acetoacetil-CoA é quebrada em duas moléculas de acetil-CoA pela acetoacetil-CoA-tiolase, a mesma enzima envolvida na β-oxidação. O principal destino dessa acetil-CoA é a oxidação no ciclo do TCA.

A liberação de energia a partir da oxidação de acetoacetato é equivalente à liberação de energia da oxidação de 2 acetil-CoA no ciclo do TCA (20 ATP) menos a energia para a ativação do acetoacetato (1 ATP). A energia de ativação é calculada em uma ligação de fosfato rica em energia, pois a succinil-CoA normalmente é convertida a succinato no ciclo do TCA, com a produção de uma molécula de GTP (o equivalente de energia do ATP). Contudo, quando a ligação de tioéster rica em energia da succinil-CoA é transferida para o acetoacetato, o succinato é produzido sem a produção desse GTP. A oxidação de β-hidroxibutirato produz um NADH adicional. Portanto, a energia total liberada de uma molécula de β-hidroxibutirato é de aproximadamente 21,5 moléculas de ATP.

C. Rotas Alternativas do Metabolismo de Corpos Cetônicos

Embora a oxidação de ácido graxo em geral seja a principal fonte de corpos cetônicos, eles também podem ser produzidos a partir do catabolismo de certos aminoácidos: leucina, isoleucina, lisina, triptofano, fenilalanina e tirosina. Esses aminoácidos são chamados de aminoácidos cetogênicos, pois seu esqueleto de carbono é catabolizado em acetil-CoA ou acetoacetil-CoA, as quais podem entrar na rota de síntese de corpos cetônicos no fígado. Leucina e isoleucina também formam acetil-CoA e acetoacetil-CoA em outros tecidos, bem como no fígado.

O acetoacetato pode ser ativado a acetoacetil-CoA no citosol por uma enzima similar à acil-CoA-sintetase. Essa acetoacetil-CoA pode ser utilizada diretamente na síntese de colesterol. Ela também pode ser quebrada em duas moléculas de acetil-CoA por uma tiolase citosólica. A acetil-CoA citosólica é necessária para processos como a síntese de acetilcolina nas células neuronais.

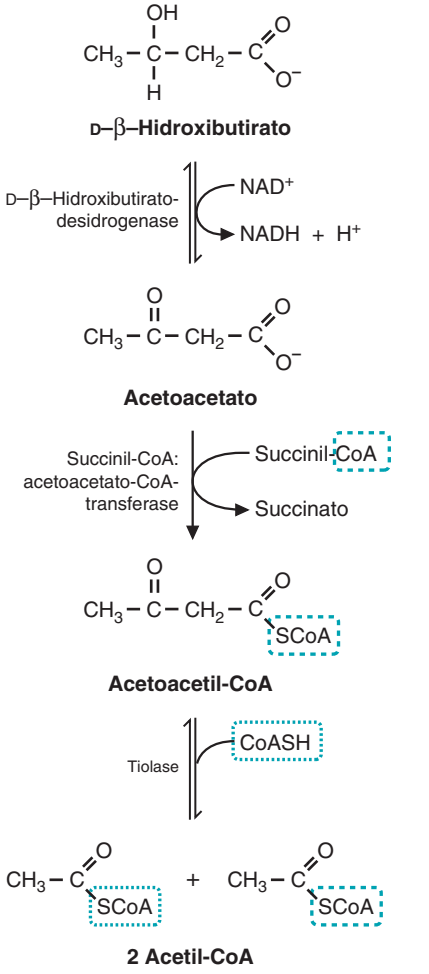


Figura 23.19 Oxidação de corpos cetônicos. O β-hidroxibutirato é oxidado a acetoacetato, o qual é ativado pela captação de um grupo CoA da succinil-CoA. A acetoacetil-CoA é quebrada em duas acetil-CoA, as quais entram no ciclo do TCA e são oxidadas.



Dietas cetogênicas, as quais são dietas ricas em gordura com uma razão 3:1 de lipídeos para carboidratos, estão sendo utilizadas para reduzir a freqüência de convulsões em crianças. As razões para sua efetividade no tratamento de epilepsia não são conhecidas. As dietas cetogênicas também são utilizadas para tratar crianças com deficiência de piruvato-desidrogenase. Os corpos cetônicos podem ser utilizados como substrato energético pelo cérebro na ausência de piruvato-desidrogenase. Eles também podem fornecer uma fonte de acetil-CoA citosólica para a síntese de acetilcolina. Essas dietas com freqüência contêm triacilgliceróis de cadeia média, os quais induzem a cetose de forma mais efetiva do que os triacilgliceróis de cadeia longa.

IV. O PAPEL DE ÁCIDOS GRAXOS E CORPOS CETÔNICOS NA HOMEOSTASE DE SUBSTRATOS ENERGÉTICOS

Sempre que os ácidos graxos se apresentam com níveis elevados no sangue, eles são utilizados como substratos energéticos, isto é, durante jejum, nos períodos de fome, como resultado de uma dieta rica em gordura, baixa em carboidratos, ou durante exercício prolongado de intensidade baixa ou leve. Sob essas condições, uma diminuição nos níveis de insulina e um aumento nos níveis de glucagon, adrenalina ou outros hormônios estimulam a lipólise do tecido adiposo. Os ácidos graxos começam a aumentar no sangue cerca de 3 a 4 horas após uma refeição e aumentam progressivamente com o período de jejum de aproximadamente 2 a 3 dias (Figura 23.20). No fígado, a velocidade de síntese de corpos cetônicos aumenta quando o fornecimento de ácidos graxos aumenta. Contudo, o nível sangüíneo de corpos cetônicos continua a aumentar, pois sua utilização pelos músculos esqueléticos diminui.

Após 2 a 3 dias de jejum, os corpos cetônicos se elevam no sangue para permitir que entrem nas células cerebrais, onde são oxidados, reduzindo, assim, a quantidade de glicose necessária pelo cérebro. Durante jejum prolongado, eles podem fornecer tanto quanto dois terços das necessidades de energia do cérebro. A redução nas necessidades de glicose poupa proteína do músculo esquelético, a qual é uma fonte principal de precursores de aminoácidos para a síntese hepática de glicose a partir de gliconeogênese.



Crianças têm maior tendência a cetose do que adultos, pois seus corpos entram no estado de jejum mais rapidamente. Eles utilizam mais energia por unidade de massa (pois sua razão músculo/tecido adiposo é maior), e as reservas de glicogênio são depletadas de forma mais rápida (a razão de sua massa cerebral/massa hepática é maior). Em crianças, os níveis de corpos cetônicos atingem 2 mM em 24 horas; em adultos, demora mais de três dias para alcançar esse nível. Infecções pediátricas leves causando anorexia e vômitos são a causa mais comum de cetose em crianças. Cetose leve é observada em crianças após exercício prolongado, talvez atribuível a uma diminuição abrupta na utilização muscular de ácidos graxos liberados durante o exercício. O fígado, então, oxida esses ácidos graxos e produz corpos cetônicos.

A. Utilização Preferencial de Ácidos Graxos

À medida que os ácidos graxos aumentam no sangue, eles são utilizados pelos músculos esqueléticos e por determinados tecidos em preferência à glicose. A oxidação de ácido graxo produz NADH e FAD(2H) por β-oxidação e ciclo do TCA, resultando em razões NADH/NAD^+, concentração de acetil-CoA, níveis de ATP/ADP ou ATP/AMP relativamente altos. Em músculos esqueléticos, a proteína-quinase dependente de AMP (ver Seção I.E.) ajusta a concentração de malonil-CoA, de tal maneira que CPT1 e β-oxidação funcionam em uma velocidade que é capaz de sustentar a homeostase de ATP. Com níveis de ATP obtidos a partir da oxidação de ácido graxo (ou corpos cetônicos), a velocidade da glicólise está diminuída. A atividade de enzimas regulatórias da glicólise e do ciclo do TCA (piruvato-desidrogenase e PFK-1) está diminuída pelas alterações na concentração de seus reguladores alostéricos (ADP, um ativador da PDH, diminui

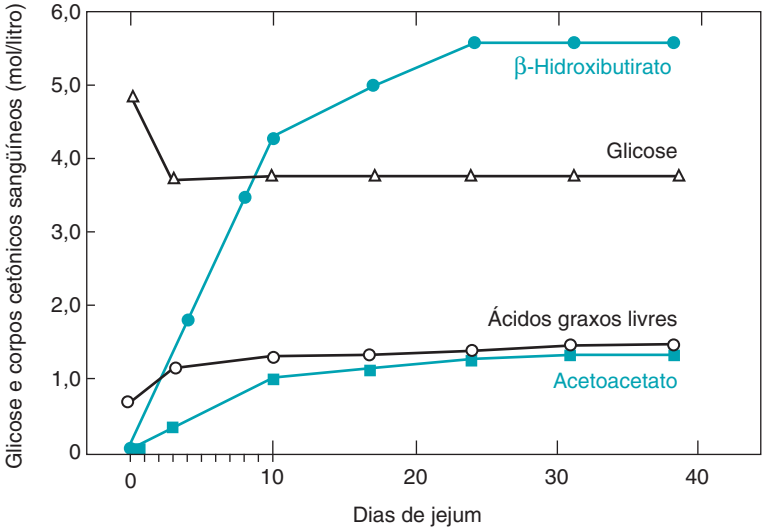


Figura 23.20 Níveis de corpos cetônicos no sangue em vários períodos durante jejum. Os níveis de glicose permanecem relativamente constantes, assim como os níveis de ácidos graxos. Os níveis de corpos cetônicos, contudo, aumentam bastante, elevando-se para níveis nos quais podem ser utilizados pelo cérebro e por outros tecidos nervosos. De Cahill GF Jr, Aoki TT. Med Times 1970;98:109.

em concentração; NADH e acetil-CoA, inibidores da PDH, estão aumentados sob essas condições, e ATP e citrato, inibidores da PFK-1, estão aumentados em concentração). Como conseqüência, glicose-6-P se acumula. A glicose-6-P inibe a hexoquinase, diminuindo, assim, a velocidade de entrada na glicólise e sua captação a partir do sangue. Nos músculos esqueléticos, esse padrão de metabolismo de substrato energético é facilitado pela diminuição na concentração de insulina (ver Capítulo 36). A utilização preferencial de ácidos graxos não restringe, contudo, a habilidade da glicólise de responder a um aumento nos níveis de AMP ou ADP, tal como pode ocorrer durante exercício ou limitação de oxigênio.

B. Tecidos que Utilizam Corpos Cetônicos

Os músculos esqueléticos, o coração, o fígado e muitos outros tecidos utilizam ácidos graxos como seu principal substrato energético durante jejum e outras condições que aumentam os ácidos graxos no sangue. Contudo, diversos outros tecidos (ou tipos celulares), como o cérebro, utilizam corpos cetônicos em uma grande extensão. Por exemplo, as células da mucosa intestinal, as quais transportam os ácidos graxos do intestino para o sangue, utilizam corpos cetônicos e aminoácidos durante jejum prolongado, em vez de ácidos graxos. Os adipócitos, os quais armazenam ácidos graxos nos triacilgliceróis, não utilizam ácidos graxos como substratos energéticos durante o jejum, mas podem utilizar corpos cetônicos. Os corpos cetônicos atravessam a placenta e podem ser utilizados pelo feto. Quase todos os tecidos e tipos celulares, com a exceção do fígado e das células sangüíneas vermelhas, são capazes de utilizar corpos cetônicos como substratos energéticos.

C. Regulação da Síntese de Corpos Cetônicos

Diversos eventos, além do suprimento aumentado de ácidos graxos dos triacilgliceróis adiposos, promovem a síntese hepática de corpos cetônicos durante o jejum. A diminuição da razão insulina/glucagon resulta na inibição da acetil-CoA carboxilase e em níveis diminuídos de malonil-CoA, o que ativa CPT1, permitindo, assim, que a acil-CoA entre na rota da β-oxidação (Figura 23.21). Quando a oxidação de acil-CoA em acetil-CoA produz NADH e FAD(2H) suficiente para suprir as necessidades de ATP do fígado, a acetil-CoA é desviada do ciclo do TCA para cetogênese e o oxaloacetato no ciclo do TCA é desviado em direção a malato e para a síntese de glicose (gliconeogênese). Esse padrão é regulado pela razão $NADH/NAD^+$, a qual é relativamente alta durante a β-oxidação. À medida que a duração de tempo do jejum continua, a transcrição aumentada do gene da HMG-CoA-sintase mitocondrial facilita a velocidade alta de produção de corpos cetônicos. Embora o fígado tenha sido descrito como "altruísta" por fornecer corpos cetônicos para os outros tecidos, ele simplesmente está se livrando de substratos energéticos de que não necessita.



O nível total de corpos cetônicos no sangue de **Lofata Burne** excede bastante os níveis normais e de cetose leve produzidos durante exercício. Em uma pessoa com horários normais de alimentação, os corpos cetônicos sangüíneos totais raramente excedem 0,2 mM. Durante jejum prolongado, eles podem se elevar para 4 a 5 mM. Os níveis acima de 7 mM são considerados evidência de cetoacidose, pois o ácido produzido deve atingir esse nível para exceder o sistema bicarbonato de tamponamento no sangue e a respiração compensatória (respiração de Kussmaul) (ver Capítulo 4).



Por que as células sangüíneas vermelhas não podem utilizar os corpos cetônicos para energia?

COMENTÁRIOS CLÍNICOS



Quando **Otto Shape** corre, ele aumenta a velocidade com a qual seus músculos oxidam todos os substratos energéticos. A utilização rápida de ATP estimula a cadeia de transporte de elétrons, a qual oxida NADH e FAD(2H) mais rápido, aumentando, assim, a velocidade com a qual os ácidos graxos são oxidados. Durante exercício, ele também utiliza reservas de glicogênio do músculo, o que contribui com glicose para a glicólise. Em algumas fibras, a glicose é utilizada anaerobicamente, produzindo, assim, lactato. Parte do lactato será utilizada pelo coração, parte será captada pelo fígado para ser convertida em glicose. À medida que ele treina, aumenta sua capacidade mitocondrial, bem como seu fornecimento de oxigênio, resultando em uma habilidade aumentada de oxidar ácidos graxos e corpos cetônicos. Quando ele corre, aumenta a liberação de ácidos graxos de triacilgliceróis do tecido adiposo. No fígado, os ácidos graxos estão sendo convertidos a corpos cetônicos, fornecendo outro substrato energético para os músculos. Como conseqüência, ele sofre uma cetose leve após uma corrida de 19,31 km.

R: As células sangüíneas vermelhas não têm mitocôndrias, as quais são o local de utilização de corpos cetônicos.

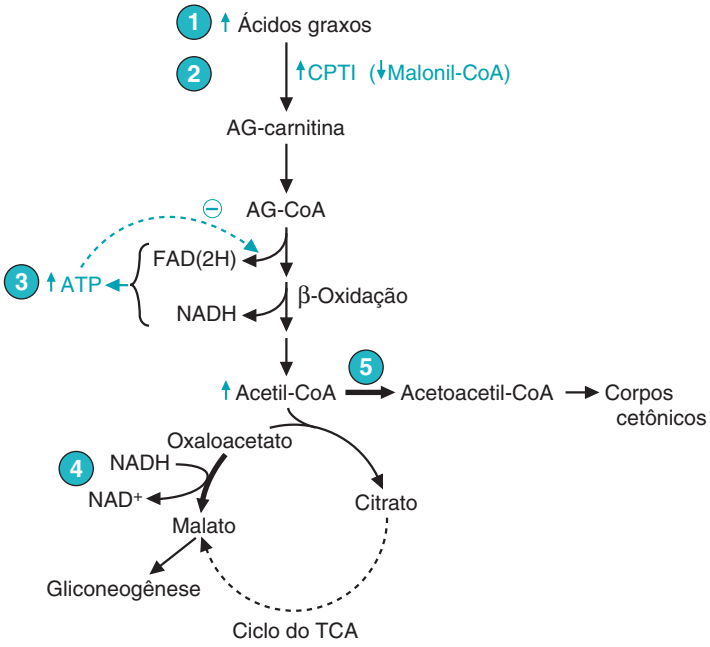


Figura 23.21 Regulação da síntese de corpos cetônicos. (1) O fornecimento de ácidos graxos está aumentado. (2) A inibição da CPT1 pela malonil-CoA é suspensa pela inativação da acetil-CoA-carboxilase. (3) A β-oxidação fornece NADH e FAD(2H), os quais são utilizados pela cadeia de transporte de elétrons para a fosforilação oxidativa. Quando os níveis de ATP se elevam, menos NADH é oxidado, e a razão NADH/NAD^+ é aumentada. (4) O oxaloacetato é convertido em malato devido aos altos níveis de NADH, e o malato entra no citoplasma para a gliconeogênese. (5) A acetil-CoA é desviada do ciclo do TCA para a cetogênese, em parte, devido aos baixos níveis de oxaloacetato, os quais reduzem a velocidade da reação da citrato-sintase.

Mais de 25 enzimas e proteínas transportadoras específicas participam do metabolismo mitocondrial de ácidos graxos. Pelo menos 15 dessas foram relacionadas com doenças hereditárias nos humanos.

Recentemente, deficiência de acil-CoA-desidrogenase de cadeia média (MCAD), a causa do problema de **Lofata Burne**, surgiu como um dos erros inatos do metabolismo mais comuns, com uma freqüência de carreador variando de 1 em 40 em populações do norte da Europa a 1 em 100 em asiáticos. De maneira geral, a freqüência prevista para a deficiência de MCAD é 1 em 15.000 pessoas.

A deficiência de MCAD é um distúrbio autossômico recessivo causado pela substituição de uma T por uma A na posição 985 do gene MCAD. Essa mutação causa a substituição de um resíduo de glutamato por lisina na proteína, resultando na produção de uma desidrogenase instável.

A manifestação mais freqüente de deficiência de MCAD é a hipoglicemia hipocetótica intermitente durante jejum (níveis baixos de corpos cetônicos e níveis baixos de glicose no sangue). Os ácidos graxos normalmente seriam oxidados a CO_2 e H_2O sob essas condições. Na deficiência de MCAD, contudo, os ácidos graxos são oxidados apenas até atingirem uma cadeia de comprimento médio. Como resultado, o corpo deve depender em grande parte da oxidação da glicose sangüínea para corresponder às suas necessidades de energia.

Contudo, a gliconeogênese hepática parece estar diminuída na MCAD. A inibição da gliconeogênese pode ser causada pela falta de oxidação hepática de ácidos graxos para fornecer energia necessária para a gliconeogênese ou pelo acúmulo de metabólitos de ácidos graxos não-oxidados que inibe as enzimas gliconeogênicas. Como conseqüência, as reservas de glicogênio hepático são consumidas, e isso resulta em hipoglicemia. A diminuição na oxidação hepática de ácidos graxos resulta em menos acetil-CoA para a síntese de corpos cetônicos, e, conseqüentemente, se desenvolve uma hipoglicemia hipocetótica.

Acredita-se agora que alguns dos sintomas uma vez atribuídos à hipoglicemia são causados pelo acúmulo de intermediários tóxicos de ácidos graxos, especialmente naqueles pacientes apenas com reduções leves dos níveis de glicose sangüínea. A eleva-

ção leve nas transaminases hepáticas no sangue de **Lofata Burne** pode refletir uma infiltração de células hepáticas com ácidos graxos de cadeia média não-oxidados.

O manejo de pacientes deficientes de MCAD inclui ingerir uma dieta relativamente rica em carboidratos e evitar o jejum prolongado.

Di Abietes, uma mulher de 26 anos com diabetes melito tipo 1, foi admitida no hospital com cetoacidose diabética. Nessa complicação do diabetes melito, uma deficiência aguda de insulina, acoplada a um excesso relativo de glucagon, resulta em uma mobilização rápida de reservas de substratos energéticos do músculo (aminoácidos) e do tecido adiposo (ácidos graxos). Alguns dos aminoácidos são convertidos em glicose, e os ácidos graxos são convertidos em cetonas (acetoacetato, β-hidroxibutirato e acetona). A razão glucagon/insulina alta promove a produção hepática de cetonas. Em resposta ao "estresse" metabólico, os níveis de hormônios antagonistas à insulina, como catecolaminas, glicocorticóides e hormônio do crescimento, estão aumentados no sangue. A deficiência de insulina reduz ainda a utilização periférica de glicose e cetonas. Como resultado desse distúrbio de metabolismo interrelacionado, os níveis de glicose sangüínea chegam a 500 mg/dL (27,8 mmol/L) ou mais (os níveis normais em jejum são de 70 a 100 mg/dL, ou 3,9 a 5,5 mmol/L), e as cetonas plasmáticas se elevam para níveis de 8 a 15 mmol/L ou mais (o normal está na faixa de 0,2 a 2 mmol/L, dependendo do estado alimentar do indivíduo).

A glicose aumentada que se apresenta ao glomérulo renal induz uma diurese osmótica, a qual depleta ainda mais o volume intravascular, reduzindo mais a excreção de íons hidrogênio e glicose. Como resultado, a acidose metabólica piora, e a hiperosmolaridade do sangue aumenta, algumas vezes excedendo 330 mOsm/kg (o normal está na faixa de 285 a 295 mOsm/kg). A gravidade do estado hiperosmolar se correlaciona estreitamente com o grau de disfunção do sistema nervoso central e pode terminar em coma e mesmo morte se não tratado.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

A fruta não-madura da árvore "castanheiro-da-África" produz uma toxina, a hipoglicina, a qual causa uma condição conhecida como doença do vômito jamaicano. As vítimas da toxina em geral são crianças desavisadas que comem a fruta verde e desenvolvem hipoglicemia grave, a qual com freqüência é fatal.

Embora a hipoglicina cause hipoglicemia, ela age pela inibição de uma acil-CoA-desidrogenase envolvida na β-oxidação que tem especificidade por ácidos graxos de cadeia curta e média. Devido à habilidade diminuída dos ácidos graxos de servirem como substratos energéticos para compensar isso, mais glicose dever ser oxidada, e os níveis sangüíneos de glicose podem diminuir para níveis extremamente baixos. Os níveis de ácidos graxos, contudo, elevam-se devido à β-oxidação diminuída. Como resultado dos níveis elevados de ácidos graxos, a α-oxidação aumenta, e os ácidos dicarboxílicos são excretados na urina. A capacidade diminuída de oxidar ácidos graxos na mitocôndria hepática resulta em níveis diminuídos de acetil-CoA, o substrato para a síntese de corpos cetônicos.

Leituras Sugeridas

Laffel L. Ketone bodies: a review of physiology, pathophysiology and application of monitoring to diabetes. Diabetes Metab Rev 1999;15:412-426.

Roe CR, Ding J. Mitochondrial fatty acid oxidation disorders. In: Scriver CR, Beudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, vol 1, 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:2297-2326.

Wanders JA, Jakobs C, Skjeldal OH. Refsum disease. In: Scriver CR, Beudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, vol 1, 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:3303-3321.

Ronald JA, Tein I. Metabolic myopathies. Seminars in Pediatric Neurology 1996;3:59-98.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 23

1. Uma falta da enzima ETF:CoQ-oxirredutase leva à morte. Isso ocorre devido a qual das seguintes razões?

   (A) A liberação de energia a partir da utilização de glicose é dramaticamente reduzida.
   (B) A liberação de energia a partir da utilização de álcool é dramaticamente reduzida.
   (C) A liberação de energia a partir da utilização de corpos cetônicos é dramaticamente reduzida.
   (D) A liberação de energia a partir da utilização de ácidos graxos é dramaticamente reduzida.
   (E) A liberação de energia a partir da utilização de glicogênio é dramaticamente reduzida.

2. A produção de ATP a partir da oxidação completa de 1 mol de um ácido graxo C18:0 a dióxido de carbono e água seria mais próxima a qual das seguintes?

   (A) 105
   (B) 115
   (C) 120
   (D) 125
   (E) 130

3. A oxidação de ácidos graxos é mais bem descrita por qual dos seguintes grupos de reações?

   (A) oxidação, hidratação, oxidação, quebra de ligação carbono-carbono
   (B) oxidação, desidratação, oxidação, quebra de ligação carbono-carbono
   (C) oxidação, hidratação, redução, quebra de ligação carbono-carbono
   (D) oxidação, desidratação, redução, oxidação, quebra de ligação carbono-carbono
   (E) redução, hidratação, oxidação, quebra de ligação carbono-carbono

4. Uma pessoa com uma deficiência de uma enzima na rota da síntese de carnitina não está comendo quantidades adequadas de carnitina na dieta. Qual dos seguintes efeitos seriam esperados durante o jejum quando comparado com uma pessoa com uma ingesta e uma síntese de carnitina adequadas?

   (A) A oxidação de ácidos graxos está aumentada.
   (B) A síntese de corpos cetônicos está aumentada.
   (C) Os níveis de glicose sangüínea estão aumentados.
   (D) Os níveis de ácidos dicarboxílicos no sangue estariam aumentados.
   (E) Os níveis de ácidos graxos de cadeia muito longa no sangue estariam aumentados.

5. Em qual dos períodos listados a seguir os ácidos graxos seriam a principal fonte de substrato energético para o corpo?

   (A) Imediatamente após café da manhã.
   (B) Minutos após um lanche.
   (C) Imediatamente após o jantar.
   (D) Enquanto estiver correndo os primeiros quilômetros de uma maratona.
   (E) Enquanto estiver correndo os últimos quilômetros de uma maratona.

24 Toxicidade do Oxigênio e Danos por Radicais Livres

*O **O_2** é essencial à vida humana e, ao mesmo tempo, **tóxico**. Ele é necessário para as reações de oxidação das rotas de geração de adenosina-trifosfato (ATP), detoxificação e biossíntese. Entretanto, quando aceita um único elétron, ele é transformado em **radicais de oxigênio** altamente reativos, que danificam lipídeos, proteínas e DNA celulares. O dano por radicais livres contribui para a morte celular e a degeneração em um amplo espectro de doenças (Tabela 24.1).*

***Radicais** são compostos que possuem apenas um elétron no orbital mais externo. O oxigênio é um **birradical**, uma molécula que tem dois elétrons desemparelhados em orbitais diferentes (Figura 24.1). Por meio de vários processos enzimáticos e não-enzimáticos que ocorrem rotineiramente nas células, o O_2 recebe **um elétron** para formar **espécies reativas de oxigênio** (**ROS**, do inglês **r**eactive **o**xygen **s**pecies). As ROS são radicais de oxigênio altamente reativos ou compostos que são prontamente convertidos nesses radicais reativos nas células. As ROS formadas pela redução do oxigênio são o radical **superóxido** (**O_2^-**), o não-radical **peróxido de hidrogênio** (**H_2O_2**) e o **radical hidroxil** (**OH•**).*

*As ROS podem ser geradas como subprodutos acidentais ou produtos principais de reações enzimáticas ou não-enzimáticas. O superóxido pode ser produzido não-enzimaticamente a partir da CoQ ou de enzimas que contêm metais (p. ex., **citocromo P450**, **xantina-oxidase** e **NADPH-oxidase**). O radical hidroxil, altamente tóxico, é formado não-enzimaticamente a partir do superóxido na presença de **Fe^{2+}** ou **Cu^+** pela **reação de Fenton** e a partir de peróxido de hidrogênio na **reação de Haber-Weiss**.*

*Os radicais de oxigênio e seus derivados podem ser fatais para as células. O radical hidroxil causa dano oxidativo a proteínas e ao DNA. Ele também forma **peróxidos lipídicos** e **malondialdeído** a partir de lipídeos de membrana que contêm **ácidos graxos poliinsaturados**. Em alguns casos, o dano por radicais livres é a causa direta de um estado patológico (p. ex., dano tecidual iniciado por exposição à radiação ionizante). Nas **doenças neurodegenerativas**, como a doença de Parkinson, ou na lesão de isquemia-reperfusão, as ROS podem perpetuar o dano celular causado por um outro processo.*

*Somam-se aos radicais de oxigênio em seus danos destrutivos o radical livre **óxido nítrico** (**NO**) e a espécie reativa de oxigênio **ácido hipocloroso** (**HOCl**). O NO se combina com o O_2 ou com o superóxido para formar **espécies reativas de oxigênio***

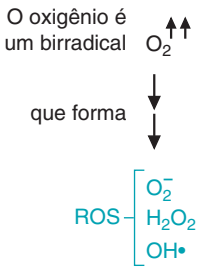


Figura 24.1 O O_2 é um birradical. Ele possui dois elétrons antiligantes com *spins* paralelos, representados pelas setas paralelas. Ele tem a tendência de formar espécies reativas de oxigênio (ROS) tóxicas, como o superóxido (O_2^-), o não-radical peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxil (OH•).

Tabela 24.1 Alguns Estados Patológicos Associados a Danos por Radicais Livres

Aterogênese	Distúrbios cerebrovasculares
Bronquite enfisematosa	Dano por isquemia/reperfusão
Distrofia muscular tipo-Duchenne	Distúrbios neurodegenerativas
Gestação/pré-eclampsia	Esclerose lateral amiotrófica (Doença de Lou Gehrig)
Câncer cervical	Doença de Alzheimer
Doença hepática induzida por álcool	Síndrome de Down
Hemodiálise	Derrame seguido de dano por isquemia/reperfusão
Diabetes	Doenças da *Oxphos* (desordens do DNA mitocondrial)
Insuficiência renal aguda	Esclerose múltipla
Envelhecimento	Doença de Parkinson
Fibroplasia retrolental	

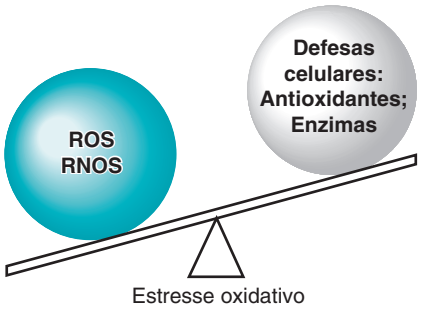


Figura 24.2 Estresse oxidativo. O estresse oxidativo ocorre quando a taxa de produção de ROS e RNOS ultrapassa a taxa de remoção pelos mecanismos de defesa celular. Esses incluem várias enzimas e antioxidantes. Os antioxidantes em geral reagem não-enzimaticamente com as ROS.

Os gânglios da base são parte de uma alça de *feedback* neuronal que modula e integra o fluxo de informação do córtex cerebral para os neurônios motores da medula espinal. O neoestriado é a principal estrutura de entrada do córtex cerebral. A *pars compacta* da substância negra consiste em neurônios que fornecem a entrada integrativa para o neoestriado através dos neurônios pigmentados que utilizam dopamina como neurotransmissor (a via nigroestriatal). A informação integrada retroalimenta os gânglios da base e o córtex cerebral para controlar o movimento voluntário. Na doença de Parkinson, uma diminuição da quantidade de dopamina que chega aos gânglios da base resulta na desordem de movimento.

Na fibrilação ventricular, batimentos prematuros rápidos a partir de um foco irritativo no músculo ventricular ocorrem em duração variável. A fibrilação persistente compromete o débito cardíaco, levando à morte. Essa arritmia pode resultar de uma isquemia severa (falta de fluxo sangüíneo) no músculo ventricular do coração causada por trombos formados em locais de ruptura de placas ateroscleróticas. Entretanto, os batimentos rápidos de **Cora Nari** começaram durante a infusão de TPA quando o trombo foi rompido. Assim, eles provavelmente resultaram da reperfusão com sangue oxigenado de uma área previamente isquêmica do seu coração. Esse fenômeno é conhecido como dano por isquemia-reperfusão e é causado por ROS citotóxicas derivadas do oxigênio do sangue que reperfunde as células previamente submetidas à hipoxia. O dano por isquemia-reperfusão também pode ocorrer quando a oxigenação tecidual é interrompida durante cirurgia ou transplante.

***e nitrogênio (RNOS)**, tais como o não-radical peroxinitrito e o radical dióxido de nitrogênio. As RNOS estão presentes no meio ambiente (p. ex., fumaça de cigarro) e são geradas nas células. Durante a fagocitose de microrganismos invasores, as células do sistema imunológico produzem O_2^-, HOCl e NO por meio das ações de **NADPH-oxidase**, **mieloperoxidase** e **óxido-nítrico-sintase induzível**, respectivamente. Além de destruir microrganismos invasores fagocitados, esses metabólitos tóxicos podem danificar os componentes próximos a eles.*

*As células se **protegem** contra o dano por ROS e outros radicais por meio de **processos de reparo**, **compartimentalização** da produção de radicais livres, **enzimas de defesa** e **antioxidantes endógenos e exógenos** (**scavengers de radicais livres**). A enzima de defesa **superóxido-dismutase** (**SOD**) remove o radical livre superóxido. A catalase e a glutationa-peroxidase removem peróxido de hidrogênio e peróxidos lipídicos. A **vitamina E**, a **vitamina C** e os **flavonóides vegetais** agem como **antioxidantes**. O **estresse oxidativo** ocorre quando a velocidade de geração de ROS excede a capacidade da célula de removê-las (Figura 24.2).*

SALA DE ESPERA

Dois anos atrás, **Les Dopaman** (menos dopamina), um homem de 62 anos, observou um tremor aumentado de sua mão direita quando sentado em repouso (tremor de repouso). O tremor desaparecia se ele utilizava ativamente essa mão para movimentos com algum propósito. À medida que o sintoma progrediu, ele também se queixou de rigidez nos músculos, que diminuía seus movimentos (bradicinesia). Sua esposa notou uma alteração na sua marcha; ele começou a caminhar com passos curtos, trôpegos e a se inclinar para frente quando caminhava (desequilíbrio postural). Ele freqüentemente parecia estar olhando para frente com uma expressão facial imóvel. Ela notou um tremor de suas pálpebras quando ele estava dormindo e, recentemente, um tremor de suas pernas quando ele estava em repouso. Devido a esses sintomas progressivos e algumas alterações sutis de personalidade (ansiedade e labilidade emocional), ela convenceu Les a consultar seu médico de família.

O médico suspeitou que seu paciente tinha um parkinsonismo primário ou idiopático (doença de Parkinson) e o encaminhou para um neurologista. Na doença de Parkinson, neurônios da *pars compacta* da substância negra, contendo o pigmento melanina e o neurotransmissor dopamina, degeneram.

Cora Nari tem estado bem desde a lise de seus coágulos sangüíneos nas suas artérias coronárias com o uso intravenoso de ativador do plasminogênio tecidual (TPA; do inglês, ***t**issue **p**lasminogen **a**ctivator*) recombinante (ver Capítulos 19 e 21). Essa terapia aliviou rapidamente a dor em aperto no peito (angina) que ela sofreu quando ganhou na loteria. Na sua primeira consulta após a alta hospitalar, o cardiologista de Cora lhe disse que ela tinha desenvolvido múltiplas contrações prematuras do músculo ventricular do coração quando os coágulos foram lisados. Esse processo poderia ter levado a uma arritmia com risco à vida conhecida como fibrilação ventricular. Contudo, a arritmia de Cora respondeu rapidamente à supressão farmacológica e não ocorreu novamente durante o resto da hospitalização.

I. O O_2 E GERAÇÃO DE ROS

A geração de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês ***r**eactive **o**xygen **s**pecies*) a partir do O_2 nas células é uma ocorrência diária natural. Elas são formadas como produtos acidentais de reações enzimáticas e não-enzimáticas. Em certas circunstâncias,

elas são sintetizadas deliberadamente em reações catalisadas por enzimas. A radiação ultravioleta e os poluentes do ar podem aumentar a formação de compostos tóxicos que contêm oxigênio.

A. A Natureza Radical do O_2

Um radical, por definição, é uma molécula que possui um elétron desemparelhado isolado em um orbital. Um radical livre é aquele que pode existir de modo independente (radicais formados em sítios ativos de enzimas durante a reação, por exemplo, não são considerados radicais livres, a menos que eles possam se dissociar da proteína para interagir com outras moléculas). Os radicais são altamente reativos e iniciam reações em cadeia por extrair um elétron de uma molécula das proximidades para completar seus próprios orbitais. Embora os metais de transição (p. ex., Fe, Cu e Mo) tenham elétrons isolados em seus orbitais, eles não são, em geral, considerados radicais livres, porque são relativamente estáveis, não iniciam reações em cadeia e estão ligados a proteínas na célula.

O átomo de oxigênio é um birradical, o que significa que ele possui dois elétrons isolados em orbitais diferentes. Esses elétrons não podem ficar em um mesmo orbital porque têm *spins* paralelos (giram na mesma direção). Embora o oxigênio seja muito reativo do ponto de vista termodinâmico, os seus elétrons isolados não podem reagir rapidamente com elétrons pareados encontrados nas ligações covalentes das moléculas orgânicas. Como conseqüência disso, o O_2 reage lentamente pela aceitação de elétrons isolados em reações que necessitem de um catalisador (tais como as enzimas que contêm metais).

O O_2 tem a capacidade de receber um total de quatro elétrons, o que o reduz à água (Figura 24.3). Quando ele recebe um elétron, o superóxido é formado. Esse ainda é um radical, pois possui um elétron desemparelhado remanescente. Essa reação não é termodinamicamente favorável e requer um agente redutor moderadamente forte que possa doar elétrons isolados (p. ex., a CoQH• na cadeia transportadora de elétrons). Quando o superóxido recebe um elétron, ele é reduzido a peróxido de hidrogênio, que não é um radical. O radical hidroxil é formado no próximo passo de redução de um-elétron na seqüência de reduções. Finalmente, a aceitação do último elétron reduz o radical hidroxil à água.

B. Características das Espécies Reativas de Oxigênio

As espécies reativas de oxigênio (ROS) são compostos contendo oxigênio que são radicais livres altamente reativos ou compostos que se convertem prontamente nesses radicais livres de oxigênio na célula. Os principais metabólitos do oxigênio produzidos pela sua redução de um-elétron (superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxil) são classificados como ROS (Tabela 24.2).

Os radicais livres reativos extraem elétrons (em geral, como átomos de hidrogênio) de outros compostos para completar seus próprios orbitais e, dessa forma, iniciam reações em cadeia de radicais livres. O radical hidroxil provavelmente é o mais potente entre as ROS; ele inicia reações em cadeia que formam peróxidos lipídicos e radicais orgânicos e é adicionado diretamente aos compostos. O ânion superóxido também é bastante reativo, mas possui solubilidade limitada em lipídeos e não pode se difundir para muito longe. Entretanto, ele pode gerar os radicais hidroxil e hidroperoxi mais reativos por reagir não-enzimaticamente com o peróxido de hidrogênio na reação de Haber-Weiss (Figura 24.4).

Para diminuir a ocorrência da reação de Fenton, a acessibilidade aos metais de transição, como Fe^{2+} e Cu^{+}, é altamente restrita nas células ou no corpo como um todo. Os eventos que liberam o ferro dos seus estoques celulares, como no dano por contusão, estão associados ao aumento dos danos por radicais livres.

Os dois elétrons desemparelhados no oxigênio têm o mesmo (paralelo) *spin* e são chamados elétrons antiligantes. Já as ligações carbono-carbono e carbono-hidrogênio contêm, cada uma, dois elétrons, os quais têm *spins* antiparalelos e formam um par termodinamicamente estável. Como conseqüência, o O_2 não pode oxidar prontamente uma ligação covalente, pois um dos seus elétrons precisaria inverter seu *spin* para formar novos pares. A dificuldade da troca de *spins* é chamada de **restrição de *spin***. Sem a restrição de *spin*, formas de vida orgânica não poderiam ter se desenvolvido em uma atmosfera de oxigênio na Terra, pois elas seriam espontaneamente oxidadas pelo O_2. Em vez disso, o O_2 está restrito a reações de um-elétron mais lentas catalisadas por metais (ou metaloenzimas).

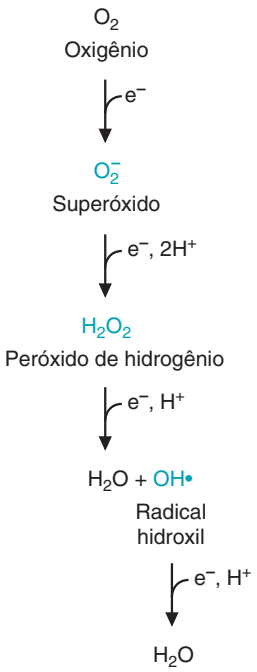


Figura 24.3 Redução do oxigênio por quatro etapas de um-elétron. As quatro etapas de redução de um-elétron para o oxigênio geram, progressivamente, superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxil mais água. Algumas vezes, o superóxido é representado por O_2^{-}• para ilustrar melhor seu elétron isolado não-emparelhado. O H_2O_2, a forma semi-reduzida do O_2, aceitou dois elétrons e, portanto, não é um radical de oxigênio.

Tabela 24.2 Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) e Espécies Reativas de Nitrogênio e Oxigênio (RNOS)

Espécies Reativas	Propriedades
O_2^- Ânion superóxido	Produzido pela cadeia de transporte de elétrons e em outros locais. Não pode se difundir para muito longe do local de origem. Gera outras ROS.
H_2O_2 Peróxido de hidrogênio	Não é um radical livre, mas pode gerar radicais livres pela reação com um metal de transição (p. ex., Fe^{2+}). Pode se difundir para dentro e através das membranas.
OH• Radical hidroxil	A espécie mais reativa no ataque às moléculas biológicas. Produzido a partir de H_2O_2 na reação de Fenton na presença de Fe^{2+} ou Cu^+.
RO•, R•, R-S• Radicais orgânicos	Radicais livres orgânicos (R representa o restante do composto). Produzido a partir de ROH, RH (p. ex., no carbono de uma ligação dupla em um ácido graxo) ou RSH pelo ataque do OH•.
RCOO• Radical peroxil	Um radical peroxil orgânico, tal como ocorre durante a degradação de lipídeos (também representado LOO•).
HOCl Ácido hipocloroso	Produzido em neutrófilos durante a explosão respiratória para destruir os organismos invasores. A toxicidade se dá por reações de halogenação e oxidação. A espécie de ataque é o OCl^-.
$O_2^{\downarrow\uparrow}$ Oxigênio *singlet*	Oxigênio com *spins* antiparalelos. Produzido sob altas tensões de oxigênio pela absorção de luz *uv*. Decai tão rapidamente que é provável que não seja uma fonte de toxicidade significativa *in vivo*.
NO Óxido nítrico	RNOS. Um radical livre produzido endogenamente pela óxido nítrico sintase. Liga-se a íons de metais. Combina-se com o O_2 e outros radicais que contêm oxigênio para produzir RNOS adicionais.
$ONOO^-$ Peroxinitrito	RNOS. Um forte agente oxidante que não é um radical livre. Pode gerar NO_2 (dióxido de nitrogênio), que é um radical.

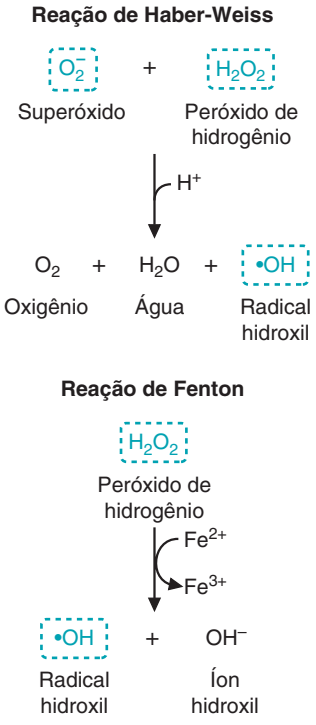


Figura 24.4 Geração do radical hidroxil pelas reações não-enzimáticas de Haber-Weiss e Fenton. Na versão simplificada das reações mostradas na figura, a transferência de elétrons isolados gera o radical hidroxil. As ROS estão representadas em azul. Além de Fe^{2+}, o Cu^+ e muitos outros metais também podem servir como doadores de elétrons isolados na reação de Fenton.

O peróxido de hidrogênio, embora não seja realmente um radical, é um agente oxidante fraco classificado como uma ROS porque pode gerar o radical hidroxil (OH•). Os metais de transição, como o Fe^{2+} ou o Cu^+, catalisam a geração do radical hidroxil a partir do peróxido de hidrogênio na reação não-enzimática de Fenton (ver Figura 24.4). Como o peróxido de hidrogênio é lipossolúvel, ele pode se difundir através das membranas e gerar OH• em locais que contenham Fe^{2+} ou Cu^+, como as mitocôndrias. O peróxido de hidrogênio também é o precursor do ácido hipocloroso (HOCl), um agente oxidante potente que é produzido endógena e enzimaticamente por células fagocíticas.

Radicais orgânicos são gerados quando o superóxido ou o radical hidroxil extrai de forma indiscriminada elétrons de outras moléculas. Os radicais peróxi orgânicos são intermediários de reações em cadeia, como a lipoperoxidação. Outros radicais orgânicos, como o radical etóxi, são intermediários de reações enzimáticas que escapam para a solução (ver Tabela 24.2).

Um grupo adicional de radicais, denominados RNOS (do inglês, ***r**eactive **n**itrogen and **o**xygen **s**pecies*), contém nitrogênio além de oxigênio. Eles são derivados, principalmente, do radical livre óxido nítrico (NO), o qual é produzido de maneira endógena pela enzima óxido-nítrico-sintase. O óxido nítrico se combina com o O_2 ou o superóxido para produzir RNOS adicionais.

C. Principais Fontes das Espécies Reativas de Oxigênio na Célula

As ROS estão sendo constantemente formadas na célula; cerca de 3 a 5 % do oxigênio consumido são convertidos em radicais livres de oxigênio. Alguns desses são produzidos como derivados acidentais de reações enzimáticas normais que escapam do sítio ativo de enzimas que contêm metais durante reações de oxidação. Outros, como o peróxido de hidrogênio, são produtos fisiológicos de oxidases nos peroxissomas. A produção deliberada de radicais livres tóxicos ocorre na resposta inflamatória. Drogas, radiação natural, poluentes do ar e outras substâncias químicas também podem aumentar a formação de radicais livres nas células.

1. A CoQ GERA SUPERÓXIDO

Um dos principais locais de geração de superóxido é a coenzima Q (CoQ) na cadeia de transporte de elétrons mitocondrial (Figura 24.5). A forma reduzida de um-elétron da CoQ (CoQH•) está livre dentro da membrana e pode, acidentalmente, transferir um elétron ao O_2 dissolvido formando, desse modo, superóxido. Quando o O_2 se liga à

Com oxigênio insuficiente, as mitocôndrias do músculo cardíaco isquêmico de **Cora Nari** eram incapazes de manter os níveis celulares de ATP, o que resultou no aumento intracelular dos níveis de Na^+ e Ca^{2+}. O estado reduzido dos carreadores de elétrons na ausência de oxigênio e a perda dos gradientes iônicos mitocondriais e da integridade da membrana levam ao aumento da produção de superóxido quando o oxigênio se torna disponível durante a reperfusão. O dano pode se autoperpetuar especialmente se o ferro ligado aos componentes da cadeia de transporte de elétrons se torna disponível para a reação de Fenton ou se a transição de permeabilidade mitocondrial é ativada.

citocromo-oxidase e recebe elétrons, ao contrário, nenhum dos intermediários radicais de O_2 são liberados da enzima, e nenhuma ROS é gerada.

2. OXIDASES, OXIGENASES E PEROXIDASES

A maioria das oxidases, peroxidases e oxigenases na célula ligam O_2 e transferem elétrons isolados para ele por meio de um metal. Os radicais livres intermediários dessas reações podem ser acidentalmente liberados antes de a redução se completar.

As enzimas citocromo P450 são a principal fonte de "escape" de radicais livres a partir de reações. Como essas enzimas catalisam reações nas quais elétrons isolados são transferidos para O_2 e para um substrato orgânico, a possibilidade de, acidentalmente, intermediários de radicais livres serem gerados e liberados é alta (ver Capítulos 19 e 25). A indução de enzimas P450 por álcool, drogas ou toxinas químicas leva ao aumento do dano celular. Quando os substratos das enzimas de citocromo P450 não estão presentes, seu potencial para o dano destrutivo é diminuído por repressão da transcrição gênica.

O peróxido de hidrogênio e os peróxidos lipídicos são gerados enzimaticamente como produtos principais de reação por várias oxidases presentes nos peroxissomas, nas mitocôndrias e no retículo endoplasmático. A monoamina-oxidase, por exemplo, a qual degrada oxidativamente o neurotransmissor dopamina, gera H_2O_2 na membrana mitocondrial de certos neurônios. A oxidase de ácidos graxos peroxissomal gera H_2O_2 em vez de FAD(2H) durante a oxidação de ácidos graxos de cadeia muito longa (ver Capítulo 23). A xantina-oxidase, uma enzima de degradação de purina que pode reduzir O_2 a O_2^- ou a H_2O_2 no citosol, é considerada um dos principais contribuintes para o dano da isquemia-reperfusão, especialmente nas células intestinais endoteliais e da mucosa. Os peróxidos lipídicos também são formados enzimaticamente como intermediários nas rotas de síntese de muitos eicosanóides, incluindo os leucotrienos e as prostaglandinas.

3. RADIAÇÃO IONIZANTE

Raios cósmicos que bombardeiam continuamente a Terra, substâncias radioativas e raios X são formas de radiação ionizante. Essa radiação tem um nível de energia alto o suficiente para separar a água em radicais hidroxil e hidrogênio, causando, portanto, dano por radiação à pele, mutações, câncer e morte celular (Figura 24.6). Ela também pode gerar radicais orgânicos por meio da colisão direta com os componentes celulares orgânicos.

A produção de ROS pela xantina-oxidase nas células endoteliais pode estar aumentada durante a isquemia-reperfusão no coração de **Cora Nari**. Nos tecidos íntegros, a xantina-oxidase apresenta a forma de uma desidrogenase e utiliza NAD^+ em vez de O_2 como aceptor de elétron na via de degradação de purinas (hipoxantina ↔ xantina ↔ ácido úrico; ver Capítulo 41). Quando os níveis de oxigênio diminuem, a fosforilação do ADP para ATP diminui, e a degradação de ADP e adenina por meio da xantina-oxidase aumenta. Nesse processo, a xantina-desidrogenase é convertida em uma oxidase. Enquanto os níveis de O_2 estiverem abaixo do alto K_m da enzima para o O_2, pouco dano acontece. Entretanto, durante a reperfusão, quando os níveis de O_2 voltam ao normal, a xantina-oxidase gera H_2O_2 e O_2^- no local de injúria.

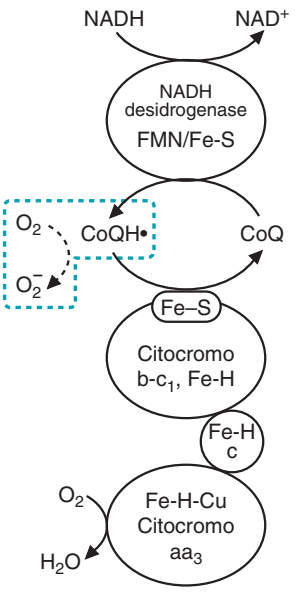


Figura 24.5 Geração de superóxido pela CoQ na cadeia de transporte de elétrons. No processo de transporte de elétrons para o O_2, alguns elétrons escapam quando a CoQH• interage acidentalmente com o O_2 para formar superóxido. Fe-H representa o centro Fe-heme dos citocromos.

O tetracloreto de carbono (CCl_4), o qual é usado como solvente em indústrias de lavagem a seco, é convertido pela citocromo P450 em um radical livre altamente reativo que causou necrose hepatocelular em trabalhadores. Quando o CCl_4 ligado à enzima aceita um elétron, ele se dissocia em CCl_3• e Cl•. O radical CCl_3•, o qual não pode continuar a seqüência de reação da P450, "escapa" do sítio ativo da enzima e inicia reações em cadeia nos lipídeos poliinsaturados do retículo endoplasmático próximo a ele. Essas reações se espalham para a membrana plasmática e para proteínas, resultando finalmente em edema celular, acumulação de lipídeos e morte celular.

Les Dopaman, que está nas fases iniciais da doença de Parkinson, é tratado com um inibidor da monoamina-oxidase B, a qual é uma enzima que contém cobre e inativa a dopamina nos neurônios, produzindo H_2O_2. O fármaco foi originalmente administrado para inibir a degradação de dopamina, entretanto teorias atuais sugerem que a sua eficácia também está relacionada à diminuição da formação de radical livre nas células dos gânglios da base. Os neurônios dopaminérgicos envolvidos são particularmente suscetíveis aos efeitos citotóxicos de ROS e RNOS que podem ser formadas a partir do H_2O_2.

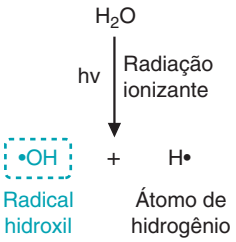


Figura 24.6 Geração de radicais livres por radiação.

O aparecimento de grânulos de lipofuscina em muitos tecidos aumenta durante o envelhecimento. O pigmento lipofuscina (do grego *lipos* para lipídeos e do latim *fuscus* para escuro) consiste em uma mistura heterogênea de lipídeos e proteínas polimerizados por ligações cruzadas formadas por reações entre resíduos de aminoácidos e produtos da lipoperoxidação, como o malondialdeído. Esses produtos de ligação cruzada são provavelmente derivados de organelas celulares que sofreram dano peroxidativo que foram autofagocitadas por lisossomas, mas não puderam ser digeridas. Quando esses pigmentos escuros aparecem na pele das mãos de pessoas idosas, eles são referidos como "manchas de fígado", um marcador tradicional de envelhecimento. Em **Les Dopaman** e outros pacientes com doença de Parkinson, a lipofuscina aparece como corpúsculos de Lewy nos neurônios em degeneração.

Evidências de dano protéico aparecem em muitas doenças, em particular naquelas associadas ao envelhecimento. Em pacientes com catarata, as proteínas do cristalino do olho exibem danos por radicais livres e contêm resíduos de metionina-sulfóxido e produtos de degradação de triptofano.

II. REAÇÕES DE RADICAIS DE OXIGÊNIO COM COMPONENTES CELULARES

Os radicais de oxigênio produzem disfunção celular por reagirem com lipídeos, proteínas, carboidratos e DNA para extrair elétrons (como resumido na Figura 24.7). Evidências de danos por radicais livres foram descritas em mais de 100 estados patológicos. Em alguns desses, o dano por radicais livres é a causa primária da doença; em outros, ele aumenta as complicações da doença.

A. Ataque à Membrana: Formação de Radicais Lipídicos e Peroxilipídicos

As reações em cadeia que formam radicais livres e peróxidos lipídicos nas membranas exercem a principal contribuição para o dano induzido por ROS (Figura 24.8). Um iniciador (como um radical hidroxil produzido localmente na reação de Fenton) começa a reação em cadeia. Ele extrai um átomo de hidrogênio preferencialmente de uma ligação dupla de um ácido graxo poliinsaturado em um lipídeo de membrana. A reação em cadeia é propagada quando o O_2 é adicionado para formar radicais peroxil lipídicos e peróxidos lipídicos. Por fim, a degradação lipídica ocorre, formando produtos como o malondialdeído (a partir de ácidos graxos com três ou mais ligações duplas) e etano e pentano (a partir de carbonos ω-terminais de ácidos graxos 3 e 6, respectivamente). O malondialdeído aparece em sangue e urina e é utilizado como um indicador de dano por radicais livres.

A peroxidação de moléculas de lipídeos invariavelmente altera ou danifica a estrutura molecular lipídica. Além da natureza autodestrutiva da lipoperoxidação de membrana, os aldeídos que são formados podem fazer ligações cruzadas de proteínas. Quando os lipídeos danificados são constituintes de membranas biológicas, o arranjo coeso da bicamada lipídica e a organização estrutural estável são perdidos (ver Figura 24.7). A perturbação da integridade da membrana mitocondrial pode resultar na produção adicional de radicais livres.

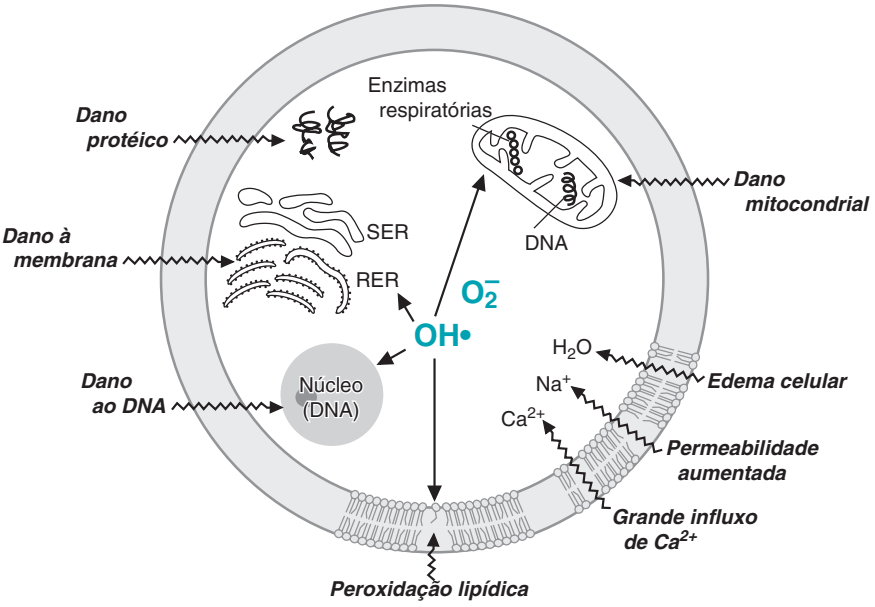


Figura 24.7 Dano celular mediado por radicais livres. O superóxido e o radical hidroxil iniciam a lipoperoxidação nas membranas celular, mitocondrial, nuclear e do retículo endoplasmático. O aumento da permeabilidade celular provoca o influxo de Ca^{2+}, o qual causa dano mitocondrial adicional. Os grupamentos sulfidril de cisteína e outros resíduos de aminoácidos nas proteínas são oxidados e degradados. O DNA nuclear e o mitocondrial podem ser oxidados, resultando em quebras de fita e outros tipos de danos. As RNOS (NO, NO_2 e peroxinitrito) têm efeitos similares.

B. Proteínas e Peptídeos

Nas proteínas, os aminoácidos prolina, histidina, arginina, cisteína e metionina são particularmente suscetíveis ao ataque do radical hidroxil e ao dano oxidativo. Como conseqüência desse último, as proteínas podem se fragmentar ou os resíduos podem formar ligações cruzadas com outros resíduos. O ataque de radicais livres a resíduos de cisteína de proteínas pode resultar em ligações cruzadas e na formação de agregados que previnem sua degradação. Entretanto, o dano oxidativo aumenta a suscetibilidade de outras proteínas à digestão proteolítica.

O ataque de radicais livres e a oxidação de resíduos sulfidril de cisteína do tripeptídeo glutationa (γ-glutamil-cisteinil-glicina; ver Seção V.A.3) aumentam o dano oxidativo em toda a célula. A glutationa é o principal componente da defesa celular contra a injúria por radicais livres, e sua oxidação reduz seus efeitos protetores.

C. DNA

Os radicais livres derivados do oxigênio também são a principal fonte de dano ao DNA. Cerca de 20 tipos de moléculas de DNA alteradas oxidativamente foram identificados. A ligação não-específica de Fe^{2+} ao DNA facilita a produção localizada do radical hidroxil, o qual pode causar alterações de bases no DNA (Figura 24.9). Ele também pode atacar o esqueleto de desoxirribose e causar rompimentos de fita. Esse dano ao DNA pode ser reparado, até certo ponto, pela célula (ver Capítulo 12) ou minimizado por apoptose da célula.

III. ÓXIDO NÍTRICO E ESPÉCIES REATIVAS DE NITROGÊNIO E OXIGÊNIO (RNOS)

O óxido nítrico (NO) é um radical livre que contém oxigênio e, como o O_2, é essencial à vida e tóxico. Ele possui um elétron isolado e, portanto, liga-se a outros compostos que contêm elétrons isolados, como o Fe^{3+}. Como um gás, difunde-se através do citosol e das membranas lipídicas e para dentro das células. Em baixas concentrações, age fisiologicamente como um neurotransmissor e um hormônio que causa vasodilatação. Entretanto, em altas concentrações, combina-se com o O_2 ou com o superóxido para formar espécies tóxicas e reativas adicionais que contêm nitrogênio e oxigênio (RNOS). As RNOS estão envolvidas em doenças neurodegenerativas, como a doença de Parkinson, e em doenças inflamatórias crônicas, como a artrite reumatóide.

A. Óxido-Nítrico-Sintase

Em baixas concentrações, o óxido nítrico age como um neurotransmissor ou um hormônio. Ele é sintetizado a partir da arginina pelas óxido-nítrico-sintases (Figura 24.10). Como um gás, ele é capaz de se difundir através da água e de membranas lipídicas e para dentro das células-alvo. Nessas células, ele exerce seus efeitos fisiológicos pela ligação de alta afinidade ao Fe-heme na enzima guanilil-ciclase, desse modo ativando uma cascata de transdução de sinal. Entretanto, o NO é rapidamente inativado pela ligação inespecífica a muitas moléculas, e, portanto, as células que o produzem precisam estar próximas das células-alvo.

O organismo tem três diferentes isoformas tecido-específicas de NO-sintase, cada uma codificada por um gene diferente: a óxido-nítrico-sintase-neuronal (nNOS, isoforma I), a óxido-nítrico-sintase induzível (iNOS, isoforma II) e a óxido-nítrico-sintase endotelial (eNOS, isoforma III). A nNOS e a eNOS são fortemente reguladas pelas concentrações de Ca^{2+} para produzir as pequenas quantidades de NO necessárias para



A nitroglicerina, na forma de tablete, é com freqüência utilizada em pacientes com doença arterial coronariana que tiveram dor torácica induzida por isquemia (angina). Ela se decompõe no sangue formando NO, um potente vasodilatador, o qual aumenta o fluxo sangüíneo para o coração e é eficaz no tratamento da angina.

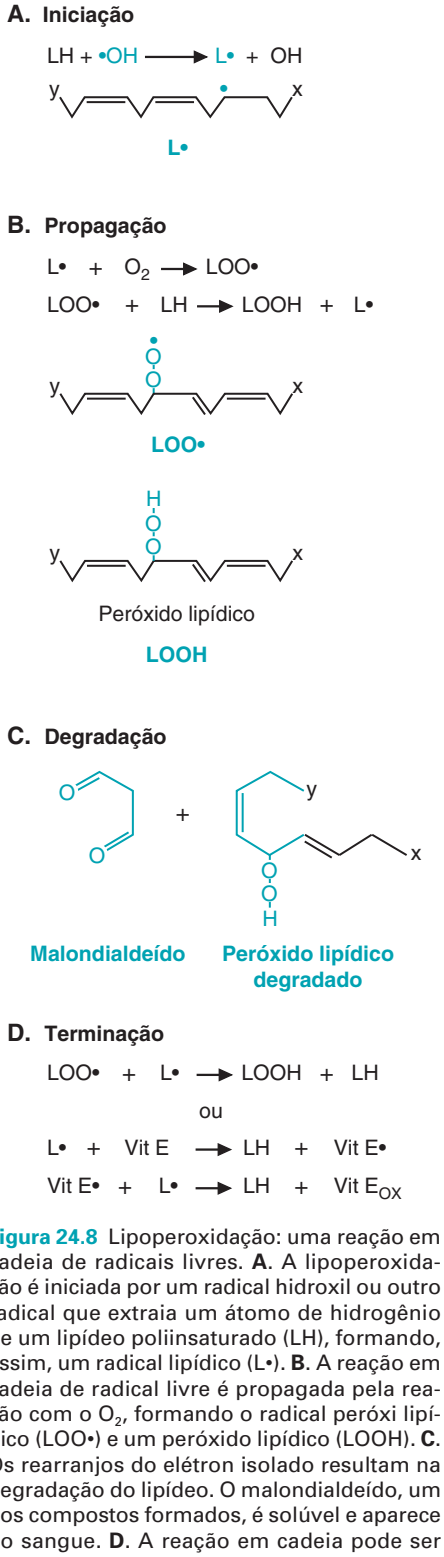


Figura 24.8 Lipoperoxidação: uma reação em cadeia de radicais livres. **A**. A lipoperoxidação é iniciada por um radical hidroxil ou outro radical que extraia um átomo de hidrogênio de um lipídeo poliinsaturado (LH), formando, assim, um radical lipídico (L•). **B**. A reação em cadeia de radical livre é propagada pela reação com o O_2, formando o radical peróxi lipídico (LOO•) e um peróxido lipídico (LOOH). **C**. Os rearranjos do elétron isolado resultam na degradação do lipídeo. O malondialdeído, um dos compostos formados, é solúvel e aparece no sangue. **D**. A reação em cadeia pode ser terminada pela vitamina E e outros antioxidantes lipossolúveis que doem elétrons isolados. Duas etapas subseqüentes de redução formam um antioxidante oxidado estável.

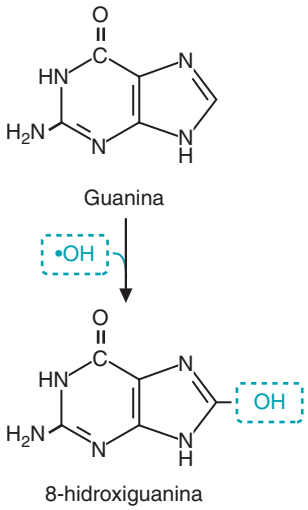


Figura 24.9 Conversão de guanina em 8-hidroxiguanina pelo radical hidroxil. A quantidade de 8-hidroxiguanina presente nas células pode ser utilizada para estimar a extensão do dano oxidativo. A adição de um grupo hidroxila à guanina permite que ela pareie erroneamente com resíduos T, levando à formação de molécula-filhas com pares de base G-T nessa posição.

o seu papel como neurotransmissor ou hormônio. A iNOS, ao contrário, está presente em muitas células do sistema imunológico e tipos celulares com uma linhagem similar, como os macrófagos e a astróglia cerebral. Ela é regulada principalmente pela indução da transcrição gênica e não por mudanças na concentração de Ca^{2+} e produz níveis altos e tóxicos de NO para ajudar na eliminação de microrganismos invasores. São esses níveis muito altos de NO que estão associados à geração de RNOS e a toxicidade do NO.

B. Toxicidade do NO

As ações tóxicas do NO podem ser divididas em duas categorias: efeitos tóxicos diretos causados pela ligação a proteínas que contêm Fe e efeitos indiretos mediados por compostos formados quando o NO se combina com o O_2 ou com o superóxido para formar RNOS.

1. EFEITOS TÓXICOS DIRETOS DO NO

O NO, como um radical, exerce efeitos tóxicos diretos pela combinação com compostos que contêm Fe, o qual também possui elétrons isolados. Os principais sítios de destruição do ataque incluem os centros Fe-S (p. ex., complexos I-III da cadeia de transporte de elétrons e aconitase) e as proteínas de Fe-heme (p. ex., hemoglobina e citocromos da cadeia de transporte de elétrons). Entretanto, geralmente ocorre um dano pequeno, pois o NO está presente em baixas concentrações, e os compostos de Fe-heme, em excesso. Contudo, o NO pode causar sérios danos por meio da inibição direta da respiração em células que já estão comprometidas por doenças da fosforilação oxidativa ou isquemia.

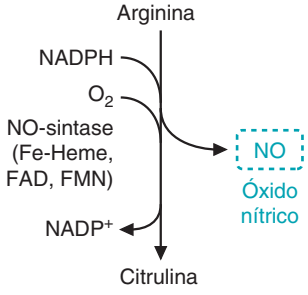


Figura 24.10 A óxido-nítrico-sintase sintetiza o radical livre NO. Assim como as enzimas citocromo P450, a NO-sintase utiliza Fe-heme, FAD e FMN para transferir elétrons isolados do NADPH para o O_2.

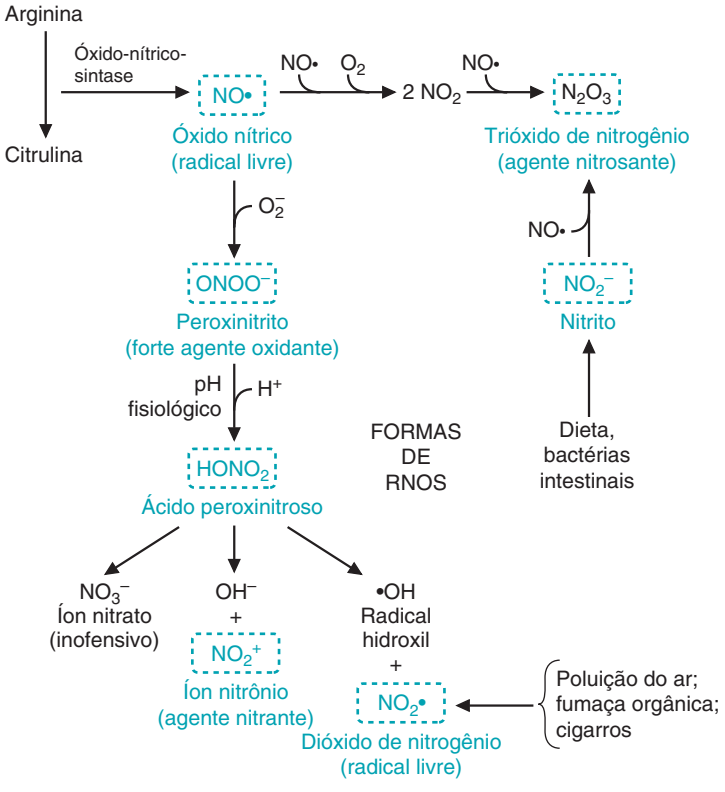


Figura 24.11 Formação de RNOS a partir de óxido nítrico. As RNOS estão representadas em azul. O tipo de dano causado por cada RNOS está entre parênteses. De todos os compostos que contêm nitrogênio e oxigênio representados, apenas o nitrato é relativamente não-tóxico.

2. TOXICIDADE DE RNOS

Quando presente em concentrações muito altas (p. ex., durante a inflamação), o NO se combina não-enzimaticamente com o superóxido para formar o peroxinitrito ($ONOO^-$), ou com o O_2 para formar N_2O_3 (Figura 24.11). O peroxinitrito, embora não seja um radical livre, é um forte agente oxidante estável e diretamente tóxico. Ele pode se difundir através da célula e das membranas lipídicas para interagir com uma ampla variedade de alvos, incluindo metionina de proteína e grupamentos -SH (p. ex., centros de Fe-S na cadeia de transporte de elétrons). Ele também se degrada para formar RNOS adicionais, incluindo o radical livre dióxido de nitrogênio (NO_2), um iniciador eficiente da lipoperoxidação. O peroxinitrito também produz anéis aromáticos de nitrato, formando compostos como a nitrotirosina ou a nitroguanosina. O N_2O_3, o qual pode ser derivado do NO_2 ou do nitrito, é o agente do estresse nitrosativo e nitrosila sulfidril e grupos reativos similares na célula. A nitrosilação, em geral, interferirá na ação apropriada de proteínas ou de lipídeos que foram modificados. Portanto, as RNOS podem produzir dano oxidativo e por radical livre tanto quanto as ROS que não contêm nitrogênio o fazem, e também por nitração e nitrosilação de compostos. O resultado é amplo e inclui a inibição de um grande número de enzimas, a lipoperoxidação mitocondrial, a inibição da cadeia de transporte de elétrons com depleção energética, o rompimento de fitas duplas e simples de DNA e a modificação de bases no DNA.



O NO_2 é um dos agentes tóxicos presentes em poluição do ar, descarga de automóveis, fogões a gás, chamas-piloto, fumaça de cigarro e de incêndios florestais e urbanos.

IV. FORMAÇÃO DE RADICAIS LIVRES DURANTE A FAGOCITOSE E A INFLAMAÇÃO

Em resposta a agentes infecciosos e outros estímulos, as células fagocíticas do sistema imunológico (neutrófilos, eosinófilos e monócitos/macrófagos) exibem um rápido consumo de O_2, chamado de explosão respiratória. Essa é uma das principais fontes de superóxido, peróxido de hidrogênio, radical hidroxil, ácido hipocloroso (HOCl) e RNOS. A geração de radicais livres é parte do sistema de defesa antimicrobiano humano e é destinada à destruição de microrganismos invasores, células tumorais e outras células marcadas para remoção.

A. NADPH-Oxidase

A explosão respiratória resulta da atividade da NADPH-oxidase, a qual catalisa a transferência de um elétron do NADPH para o O_2 para formar superóxido (Figura 24.12). A NADPH-oxidase é formada a partir do citosol e de proteínas membranosas recrutadas para dentro da membrana do fagolisossoma enquanto ela envolve um microrganismo invasor.

O superóxido é liberado para dentro do espaço intramembranas do fagolisossoma, onde é, em geral, convertido em peróxido de hidrogênio e outras ROS que são eficientes contra bactérias e fungos patógenos. O peróxido de hidrogênio é formado pela superóxido-dismutase, a qual pode vir da célula fagocítica ou do microrganismo invasor.



Em pacientes com doença granulomatosa crônica, os fagócitos apresentam defeitos genéticos na NADPH oxidase. Essa enzima possui quatro subunidades diferentes (duas na membrana celular e duas recrutadas do citosol), e o defeito pode ocorrer em qualquer dos genes que as codificam. A subunidade β catalítica de membrana da NADPH-oxidase é uma glicoproteína flavocitocromo de 91 kDa. Ela transfere elétrons do NADPH ligado para o FAD, o qual os transfere para os componentes Fe-heme. A subunidade α da membrana (p22) é necessária para a estabilização. Também são necessárias para a montagem do complexo duas proteínas citosólicas adicionais (p47phox e p67phox) e a Rac, uma GTPase monomérica da subfamília Ras da superfamília Rho (ver Capítulo 9). A subunidade de 91 kDa é mais freqüentemente afetada na doença granulomatosa crônica ligada ao X, enquanto a subunidade α é afetada em uma rara forma autossômica recessiva. As subunidades citosólicas são afetadas com mais freqüência em pacientes com a forma autossômica recessiva da doença granulomatosa, os quais, além do aumento da suscetibilidade a infecções por bactérias e fungos, sofrem de uma aparente desregulação das respostas inflamatórias normais.

B. Mieloperoxidase e HOCl

A formação de ácido hipocloroso a partir de H_2O_2 é catalisada pela mieloperoxidase, uma heme-enzima que está presente apenas nas células fagocíticas do sistema imunológico (predominantemente neutrófilos).

Mieloperoxidase **Dissociação**

$$H_2O_2 + Cl^- + H^+ \rightarrow HOCl + H_2O \rightarrow {}^-OCl + H^+ + H_2O$$

A mieloperoxidase contém dois centros de Fe tipo-heme, os quais dão a ela a cor verde vista no pus. O ácido hipocloroso é uma toxina potente que destrói a bactéria em segundos por meio de reações de halogenação e oxidação. Ela oxida muitos grupos que contêm S e Fe (p. ex., grupos sulfidrila, centros de ferro-enxofre, ferredoxina, hemeproteínas e metionina), descarboxila oxidativamente e desamina proteínas e rompe liga-

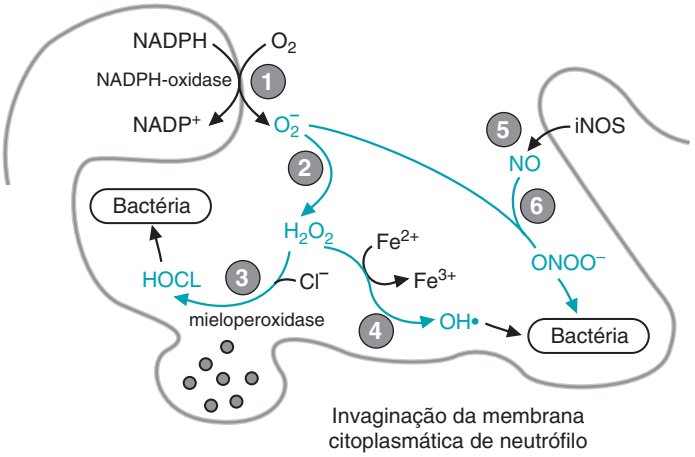


Figura 24.12 Produção de espécies ativas de oxigênio durante a explosão respiratória fagocítica por neutrófilos ativados. (1) A ativação da NADPH-oxidase no lado externo da membrana plasmática inicia a explosão respiratória com a geração de superóxido. Durante a fagocitose, a membrana plasmática sofre invaginação, de tal forma que o superóxido é liberado dentro do espaço do vacúolo. (2) O superóxido (espontaneamente, ou enzimaticamente via superóxido-dismutase [SOD]) gera H_2O_2. (3) Grânulos contendo mieloperoxidase são secretados para dentro do fagossoma, onde a mieloperoxidase gera HOCl e outros haletos. (4) O H_2O_2 também pode gerar o radical hidroxil a partir da reação de Fenton. (5) A óxido-nítrico-sintase induzível pode ser ativada e gerar NO. (6) O óxido nítrico se combina com o superóxido para formar peroxinitrito, o qual pode gerar RNOS adicionais. O resultado é um ataque a membranas e a outros componentes das células fagocitadas e, finalmente, sua lise. O processo como um todo é denominado explosão respiratória porque ele dura apenas de 30 a 60 minutos e consome O_2.

ções peptídicas. As bactérias aeróbicas sob ataque rapidamente perdem o transporte de membrana, possivelmente devido ao dano à ATP-sintase ou aos componentes da cadeia de transporte de elétrons (os quais encontram-se na membrana plasmática da bactéria).

C. RNOS e Inflamação

Quando os neutrófilos humanos do sistema imunológico são ativados para produzir NO, a NADPH-oxidase também é ativada. O NO reage rapidamente com o superóxido para gerar peroxinitrito, o qual forma RNOS adicionais, e também pode ser liberado para o meio circundante para se combinar com o superóxido nas células-alvo.

Em vários estados patológicos, a liberação de radicais livres por neutrófilos ou macrófagos durante a inflamação contribui para o dano aos tecidos vizinhos. Durante o derrame ou o infarto do miocárdio, as células fagocíticas que se movem para a área isquêmica para remover as células mortas podem aumentar a área e a gravidade do dano. O mecanismo de autoperpetuação da liberação de radicais pelos neutrófilos durante a inflamação e a formação do complexo imunológico podem explicar algumas das características da inflamação crônica em pacientes com artrite reumatóide. Como resultado da liberação de radicais livres, as proteínas de imunoglobulinas G (IgG) presentes no líquido sinovial são parcialmente oxidadas, o que melhora a sua ligação com o anticorpo de fator reumatóide. Essa ligação, por sua vez, estimula os neutrófilos a liberarem mais radicais livres.



Durante a isquemia de **Cora Nari** (fluxo sangüíneo diminuído), a capacidade de seu coração para gerar ATP a partir da fosforilação oxidativa estava comprometida. O dano pareceu acelerar-se quando o oxigênio foi inicialmente reintroduzido (reperfundido) no tecido. Durante a isquemia, a CoQ e outros componentes de um elétron da cadeia de transporte de elétrons se tornam saturados com elétrons. Quando o oxigênio é reintroduzido (reperfusão), a doação de elétron ao O_2 para formar superóxido aumenta, o que resulta na formação exagerada de peróxido de hidrogênio e de radical hidroxil. Os macrófagos que estão na área para limpar os detritos celulares do dano isquêmico produzem óxido nítrico, o qual pode danificar mais ainda as mitocôndrias pela geração de RNOS que atacam os centros de Fe-S e os citocromos da cadeia de transporte de elétrons e lipídeos de membrana. Assim, as RNOS aumentam a extensão do infarto.

V. DEFESAS CELULARES CONTRA A TOXICIDADE DO OXIGÊNIO

As defesas contra a toxicidade do oxigênio estão entre as categorias de enzimas de defesa antioxidantes, antioxidantes endógenos e da dieta (*scavengers* de radicais livres), compartimentalização celular, confinamento de metais e reparo dos componentes celulares danificados. As enzimas de defesa antioxidantes reagem com as ROS e com os produtos celulares das reações em cadeia de radicais livres para convertê-los em

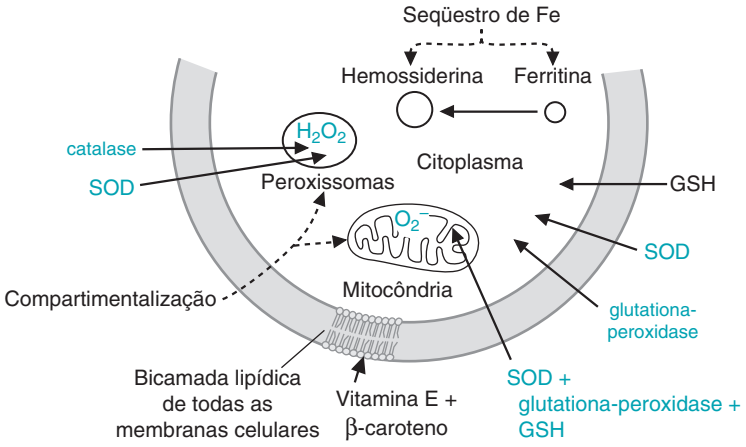


Figura 24.13 Compartimentalização das defesas de radicais livres. Várias defesas contra ROS são encontradas em diferentes compartimentos subcelulares. A localização das enzimas de defesa de radicais livres (mostrada em azul) coincide com o tipo e a quantidade de ROS gerada em cada compartimento subcelular. As maiores atividades dessas enzimas são encontradas no fígado, na glândula adrenal e no rim, onde o conteúdo mitocondrial e peroxissomal é alto e as enzimas de citocromo P450 são encontradas com abundância no RE liso. As enzimas superóxido-dismutase (SOD) e glutationa-peroxidase estão presentes como isoenzimas em diferentes compartimentos. Uma outra forma de compartimentalização envolve o seqüestro de Fe, o qual é armazenado como Fe mobilizável na ferritina. O excesso de Fe é armazenado em depósitos não-mobilizáveis de hemossiderina. A glutationa (GSH) é um antioxidante não-enzimático.

produtos não-tóxicos. Os antioxidantes da dieta, como a vitamina E e os flavonóides, e os endógenos, como o urato, podem terminar as reações em cadeia de radicais livres. A defesa por meio da compartimentalização se refere à separação de espécies e locais envolvidos na geração de ROS do resto da célula (Figura 24.13). Muitas das enzimas que produzem peróxido de hidrogênio, por exemplo, estão confinadas nos peroxissomas com um alto conteúdo de enzimas antioxidantes. Os metais estão ligados a uma ampla variedade de proteínas no sangue e nas células, prevenindo a sua participação na reação de Fenton. O ferro, por exemplo, é fortemente ligado à sua proteína de armazenamento (a ferritina) e não pode reagir com o peróxido de hidrogênio. Mecanismos de reparo do DNA e de remoção de ácidos graxos oxidados dos lipídeos de membrana estão disponíveis na célula. Os aminoácidos oxidados nas proteínas são continuamente reparados por meio da degradação protéica e da síntese de novas proteínas.

A. Enzimas de *Scavenging* Antioxidantes

As defesas enzimáticas contra as ROS incluem a superóxido-dismutase, a catalase e a glutationa-peroxidase.

1. SUPERÓXIDO-DISMUTASE (SOD)

A conversão de ânion superóxido em peróxido de hidrogênio e O_2 (dismutação) pela superóxido-dismutase (SOD) é freqüentemente chamada de defesa primária contra o estresse oxidativo, porque o superóxido é um forte iniciador de reações em cadeia (Figura 24.14). A SOD existe como três formas de isoenzimas: a forma de Cu^+-Zn^{2+}, presente no citosol; a forma de Mn^{2+}, presente nas mitocôndrias, e a forma de Cu^+-Zn^{2+}, encontrada extracelularmente. A atividade da Cu^+-Zn^{2+}-SOD é aumentada por substâncias químicas ou condições (como o oxigênio hiperbárico) que aumentam a produção de superóxido.

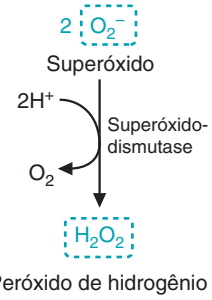


Figura 24.14 A superóxido-dismutase converte superóxido em peróxido de hidrogênio, o qual é não-tóxico, a menos que se converta em outras ROS.

No corpo, o ferro e outros metais são impedidos da interação com ROS e O_2 por suas ligações a proteínas de transporte no sangue (haptoglobina, hemoglobina, transferrina, ceruloplasmina e metalotioneína) e a proteínas de armazenamento intracelular (ferritina, hemossiderina). Os metais também estão ligados a muitas enzimas, particularmente aquelas que reagem com o O_2, as quais, em geral, têm mecanismos de reação que minimizam a transferência não-específica de um-elétron do metal para os outros componentes.

A forma intracelular de Cu^+-Zn^{2+}-superóxido-dismutase é codificada pelo gene SOD1. Até o momento, 58 mutações nesse gene foram descobertas em indivíduos afetados por esclerose lateral amiotrófica familiar (doença de Lou Gehrig). Ainda não foi compreendido como uma mutação nesse gene leva aos sintomas dessa doença. É importante registrar que apenas 5 a 10% do total de casos diagnosticados de esclerose lateral amiotrófica são causados pela forma familiar da doença.

Q: Por que a célula precisa de uma quantidade tão alta de SOD nas mitocôndrias?

Crianças prematuras com níveis baixos de surfactante pulmonar (ver Capítulo 33) necessitam de terapia com oxigênio. Os níveis de oxigênio devem ser rigidamente controlados para prevenir a retinopatia e a subseqüente cegueira (a retinopatia da prematuridade) e a displasia broncopulmonar. A tendência de essas complicações se desenvolverem é aumentada pela possibilidade de baixos níveis de SOD e de vitamina E nas crianças prematuras.

R: As mitocôndrias são o principal local para a geração de superóxido a partir da interação da CoQ com o O_2. A Mn^{2+}-superóxido-dismutase presente nas mitocôndrias não é regulada por indução/repressão da transcrição gênica, presumivelmente porque a taxa de geração de superóxido é sempre alta. As mitocôndrias também têm uma grande quantidade de glutationa e de glutationa-peroxidase e por isso podem converter H_2O_2 em H_2O e prevenir a lipoperoxidação.

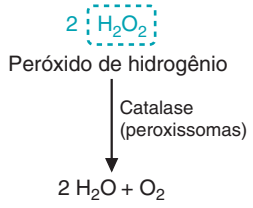


Figura 24.15 A catalase reduz o peróxido de hidrogênio. (A ROS está na caixa azul).

O selênio (Se) está presente nas proteínas humanas principalmente como selenocisteína (cisteína com o grupo enxofre substituído por Se, abreviado sec). Esse aminoácido age na catálise e é encontrado em 11 ou mais enzimas humanas, incluindo as quatro enzimas da família da glutationa-peroxidase. O selênio é fornecido na dieta na forma de selenometionina das plantas (metionina com o selênio substituindo o enxofre), selenocisteína de alimentos de origem animal e selênio inorgânico. O Se de todas essas fontes pode ser convertido em selenofosfato, o qual reage com um tRNA específico que contém serina ligada para formar um selenocisteína-tRNA, que, por sua vez, incorpora selenocisteína em determinadas proteínas enquanto essas estão sendo sintetizadas. A homeostasia do Se no organismo é controlada principalmente por meio da regulação da sua secreção na forma de Se metilado. A necessidade dietética atual é de aproximadamente 70 μg/dia para homens adultos e 55 μg para mulheres. Os sintomas da deficiência refletem a diminuição das defesas antioxidantes e incluem os sintomas da deficiência de vitamina E.

2. CATALASE

O peróxido de hidrogênio, uma vez formado, deve ser reduzido à água para prevenir a formação do radical hidroxil nas reações de Fenton e de Haber-Weiss (ver Figura 24.4). Uma das enzimas capazes de reduzir o peróxido de hidrogênio é a catalase (Figura 24.15), encontrada principalmente nos peroxissomas e, em menor quantidade, no citosol e na fração microssomal da célula. As maiores atividades são encontradas nos tecidos com grande quantidade de peroxissomas (rim e fígado). Nas células do sistema imunológico, a catalase serve para proteger a célula de sua própria explosão respiratória.

3. GLUTATIONA-PEROXIDASE E GLUTATIONA-REDUTASE

A glutationa (γ-glutamilcisteinilglicina) é uma das principais formas de proteção do organismo contra o dano oxidativo (ver também Capítulo 29). Ela é um tripeptídeo composto por glutamato, cisteína e glicina com um grupamento amino da cisteína unido por uma ligação peptídica ao grupo γ-carboxila do glutamato (Figura 24.16). Nas reações catalisadas por glutationa-peroxidases, os grupos sulfidrila reativos reduzem o peróxido de hidrogênio a água e os peróxidos lipídicos a alcoóis não-tóxicos. Nessas reações, duas moléculas de glutationa são oxidadas para formar uma única molécula, a glutationa-dissulfeto. Os grupos sulfidrila também são oxidados com radicais orgânicos em reações não-enzimáticas de terminação de reações em cadeia.

As glutationa-peroxidases são uma família de enzimas de selênio, com algumas diferenças nas suas propriedades e na distribuição tecidual. Nas células, são encontradas principalmente no citosol e nas mitocôndrias e são a principal maneira de remover o H_2O_2 produzido fora dos peroxissomas. Elas contribuem para a necessidade de selênio e são responsáveis pelo efeito protetor desse na prevenção ao dano por radicais livres.

Uma vez formada, a glutationa oxidada (GSSG) deve ser reduzida de volta à forma sulfidrila pela glutationa-redutase em um ciclo redox (Figura 24.17). A glutationa-redutase contém um FAD e catalisa a transferência de elétrons do NADPH para a ponte dissulfeto da GSSG. Portanto, o NADPH é essencial para a proteção contra os danos por radicais livres. A principal fonte de NADPH para essa reação é a via da pentose-fosfato (ver Capítulo 29).

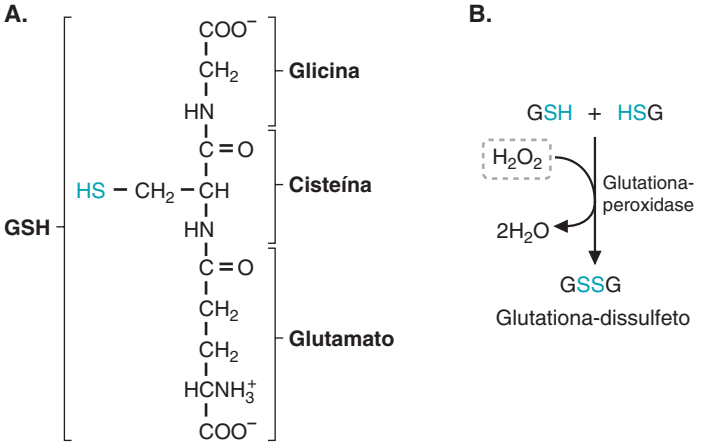


Figura 24.16 A glutationa-peroxidase reduz o peróxido de hidrogênio a água. **A**. Estrutura da glutationa. O grupamento sulfidrila da glutationa, o qual é oxidado a um dissulfeto, está representado em azul. **B**. A glutationa-peroxidase transfere elétrons da glutationa (GSH) para o peróxido de hidrogênio.

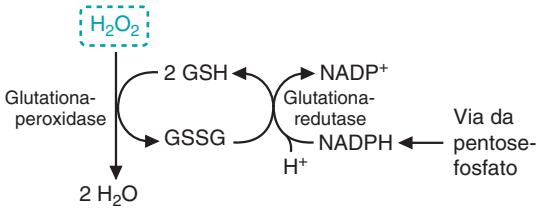


Figura 24.17 Ciclo redox da glutationa. A glutationa-redutase regenera a glutationa reduzida (a ROS está mostrada na caixa azul).

B. Antioxidantes Não-Enzimáticos (*Scavengers* de Radicais Livres)

Os *scavengers* de radicais livres convertem essas espécies em formas não-tóxicas não-radicais em reações não-enzimáticas. A maioria dos *scavengers* de radicais livres são antioxidantes, compostos que neutralizam os radicais livres por doarem um átomo de hidrogênio (com o seu elétron único) a um radical. Os antioxidantes, portanto, reduzem os radicais livres e são, eles próprios, oxidados na reação. Os *scavengers* de radicais livres da dieta (p. ex., vitamina E, ácido ascórbico, carotenóides e flavonóides), bem como os produzidos endogenamente (p. ex., urato e melatonina), têm uma característica estrutural comum, um sistema de ligação dupla conjugada que pode ser um anel aromático.

1. VITAMINA E

A vitamina E (α-tocoferol), o antioxidante mais amplamente distribuído na natureza, é uma vitamina antioxidante lipossolúvel que age principalmente na proteção contra a peroxidação lipídica nas membranas (ver Figura 24.13). Ela compreende um grande número de tocoferóis que diferem no seu padrão de metilação. Entre esses, o α-tocoferol é o antioxidante mais potente e presente em maior quantidade na dieta (Figura 24.18).

A vitamina E é um antioxidante eficiente e um terminador não-enzimático de reações em cadeia de radicais livres, além de possuir pequena atividade pró-oxidante. Quando a vitamina E doa um elétron a um radical peróxi lipídico, ela é convertida em uma forma de radical livre estabilizada por ressonância que pode agir como um pró-oxidante e abstrair um elétron de um lipídeo poliinsaturado; dessa forma, ela poderia oxidar esse lipídeo e propagar a reação em cadeia de radical livre. A química da vitamina E é tal que possui uma tendência muito maior para doar um segundo elétron e resultar na forma completamente oxidada.

2. ÁCIDO ASCÓRBICO

Embora o ascorbato (vitamina C) seja uma coenzima de oxirredução que age na síntese do colágeno e em outras reações, ele também participa da defesa contra radicais livres. O ascorbato reduzido pode regenerar a forma reduzida da vitamina E pela doação de elétrons em um ciclo redox (Figura 24.19). Ele é hidrossolúvel e circula não-ligado pelo sangue e pelo líquido extracelular, onde tem acesso à vitamina E lipossolúvel, presente nas membranas e nas partículas de lipoproteínas.

3. CAROTENÓIDES

Carotenóides é um termo aplicado ao β-caroteno (o precursor da vitamina A) e aos compostos similares com substituintes funcionais contendo oxigênio nos anéis, como zeaxantina e luteína (Figura 24.20). Esses compostos podem exercer efeitos antioxidantes bem como de *quench* de O_2 *singlet* (o oxigênio *singlet* é uma espécie de oxigênio altamente reativa, na qual há elétrons não-emparelhados nos orbitais mais externos, mas há um orbital completamente vazio). Estudos epidemiológicos mostraram uma

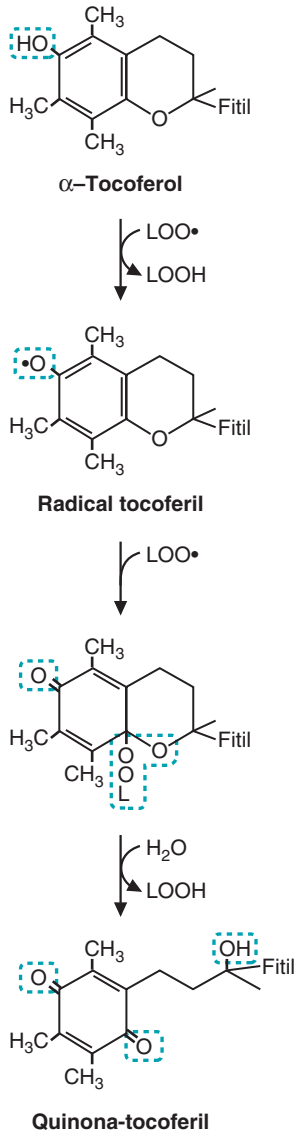


Figura 24.18 A vitamina E (α-tocoferol) termina a lipoperoxidação de radicais livres por doar elétrons isolados aos radicais peroxil lipídicos (LOO•) para formar o peróxido lipídico mais estável, o LOOH. Agindo dessa forma, o α-tocoferol é convertido em quinona-tocoferil completamente oxidada.

A vitamina E é encontrada na dieta na fração lipídica de alguns óleos vegetais e em fígado, gema de ovo e cereais. Ela é absorvida juntamente com os lipídeos, e a má absorção de gorduras provoca a deficiência sintomática. A vitamina E circula no sangue nas partículas de lipoproteínas. Sua deficiência causa sintomas neurológicos, provavelmente porque os lipídeos poliinsaturados na mielina e em outras membranas do sistema nervoso são particularmente sensíveis aos danos por radicais livres.

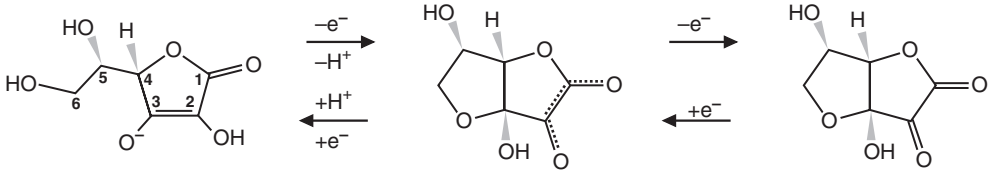


Figura 24.19 O L-ascorbato (a forma reduzida) doa elétrons isolados para radicais livres ou dissulfetos em duas etapas, conforme ele é oxidado a ácido deidro-L-ascórbico. Seu principal papel na defesa contra radicais livres é provavelmente a regeneração da vitamina E. Entretanto, ele também pode reagir com superóxido, peróxido de hidrogênio, hipoclorito, NO_2 e radicais hidroxil e peroxil.

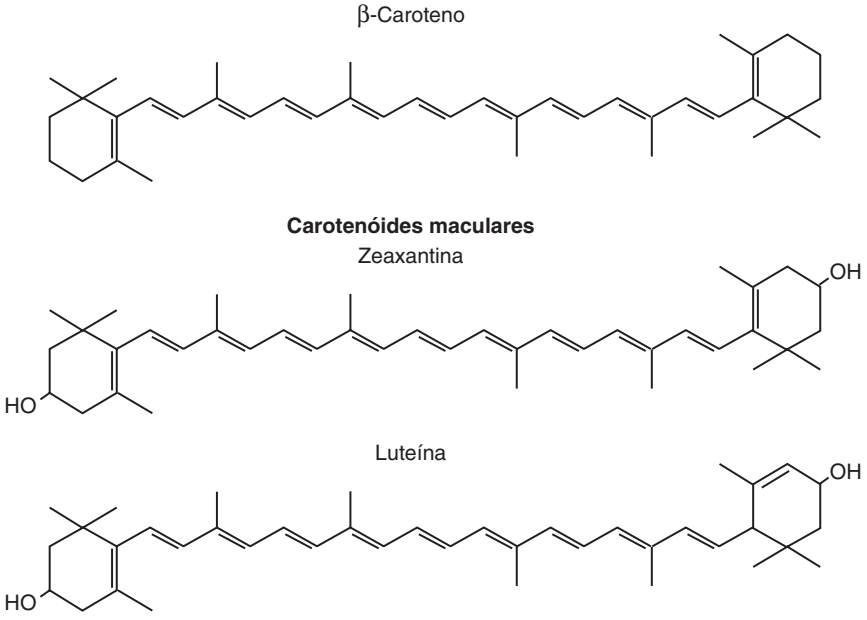


Figura 24.20 Os carotenóides são compostos relacionados estruturalmente ao β-caroteno. A luteína e a zeaxantina (os carotenóides maculares) são análogos que contêm grupamentos hidroxil.

Evidências epidemiológicas sugerem que indivíduos com uma alta ingestão de alimentos que contêm vitamina E, β-caroteno e vitamina C têm um risco um pouco menor de desenvolver câncer e outras doenças relacionadas a ROS do que indivíduos com dietas deficientes nessas vitaminas. Entretanto, estudos nos quais populações bem-nutridas receberam suplementos dessas vitaminas antioxidantes mostraram efeitos nulos ou deletérios quando comparados com os efeitos benéficos do consumo de alimentos que contêm uma ampla variedade de compostos antioxidantes. Dos suplementos químicos puros testados, existem evidências somente para a eficácia da vitamina E. Em dois estudos clínicos, o β-caroteno (ou β-caroteno + vitamina A) foi associado a uma maior incidência de câncer pulmonar em fumantes e a maiores taxas de mortalidade. Em um estudo, a ingestão de vitamina E foi associada a uma maior incidência de derrame hemorrágico (possivelmente devido a mimetismo da vitamina K).

correlação entre dietas ricas em frutas e vegetais e benefícios para a saúde, levando à hipótese de que os carotenóides devem retardar a progressão do câncer, da aterosclerose e de outras doenças degenerativas, agindo como antioxidantes que interrompem reações em cadeia. Entretanto, em estudos clínicos, suplementos de β-caroteno tiveram

A degeneração macular relacionada à idade (AMD, do inglês ***age-related macular degeneretion***) é a principal causa de cegueira nos Estados Unidos entre pessoas com mais de 50 anos de idade e afeta 1,7 milhão de pessoas em todo o mundo. Na AMD, a perda visual está relacionada ao dano oxidativo do epitélio pigmentar da retina (RPE, do inglês ***retinal pigment epithelium***) e do epitélio coriocapilar. O complexo fotorreceptor/pigmento retiniano está exposto à luz solar, é banhado por níveis de oxigênio próximos dos arteriais, e as membranas contêm altas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados, fatores que contribuem para o dano oxidativo. Grânulos de lipofuscina, os quais se acumulam no RPE por toda a vida, podem servir como fotossensibilizadores que iniciam o dano por absorver a luz azul e gerar oxigênio *singlet*, o qual forma outros radicais. Os óculos de sol (escuros) são protetores, e, conforme evidenciado por estudos epidemiológicos, a ingestão de luteína e zeaxantina em vegetais folhosos verde-escuros (p. ex., em espinafre e em uma variedade de couve verde) também pode agir dessa forma, pois a luteína e zeaxantina se acumulam na mácula e absorvem a luz azul e eliminam o oxigênio *singlet*.

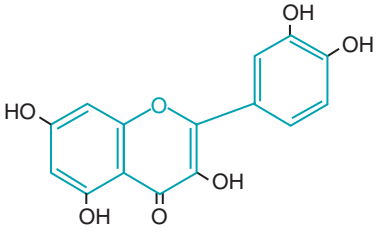
efeito nulo ou mesmo indesejável. Sua ineficácia pode ter sido devida à atividade pró-oxidante da sua forma de radical livre.

Estudos epidemiológicos relacionando a ingestão de zeaxantina e luteína com diminuição da incidência de degeneração macular relacionada à idade têm recebido cada vez mais atenção. Esses dois carotenóides estão concentrados na mácula (a porção central da retina) e são chamados carotenóides maculares.

4. OUTROS ANTIOXIDANTES DA DIETA

Os flavonóides são um grupo de compostos de estruturas semelhantes que contêm dois anéis aromáticos espacialmente separados. Eles são encontrados no vinho tinto, no chá verde, no chocolate e em outros alimentos vegetais (Figura 24.21) e têm sido considerados como contribuintes da defesa contra radicais livres por vários mecanismos. Alguns flavonóides inibem enzimas responsáveis pela produção de ânion superóxido, como a xantina-oxidase, outros são eficientes quelantes de Fe e Cu, tornando impossível a participação desses metais na reação de Fenton. Também podem agir como *scavengers* de radicais livres por doarem elétrons ao superóxido e aos radicais peróxi lipídicos, ou por estabilizarem os radicais livres formando complexos com eles.

É difícil de dizer quanto os flavonóides da dieta contribuem para o sistema de defesa contra radicais livres; eles possuem uma alta atividade pró-oxidante e são malabsorvidos. No entanto, em geral, são consumidos em grande quantidade (cerca de 800 mg/dia), e há evidências de sua contribuição para a manutenção da vitamina E como um antioxidante.



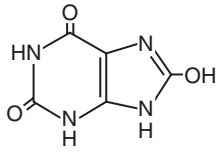
Um flavonóide

Figura 24.21 Flavonóide quercetina. Todos os flavonóides têm a mesma estrutura de anel, representada em azul, porém diferem nos substituintes do anel (=O, -OH e OCH_3). A quercetina é efetiva na quelação de Fe e na atividade antioxidante. Ela é amplamente distribuída em frutas (principalmente nas cascas) e em vegetais (p. ex., cebolas).

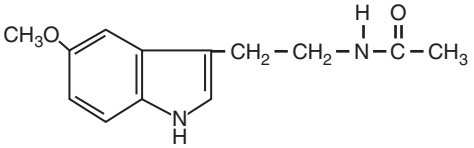
5. ANTIOXIDANTES ENDÓGENOS

Vários compostos sintetizados endogenamente para outras funções ou como produtos de excreção urinária também agem de forma não-enzimática, como antioxidantes de radicais livres. O ácido úrico é formado pela degradação de purinas e é liberado para o líquido extracelular, que inclui sangue, saliva e líquido de revestimento pulmonar (Figura 24.22). Juntamente com tióis protéicos, ele é responsável pela principal capacidade de seqüestro de radicais livres do plasma. É particularmente importante nas vias aéreas superiores, onde há outros poucos antioxidantes e, além disso, um *scavenger* direto de radicais hidroxil, de oxidantes oxi-heme formados pela reação de hemoglobina com radicais peróxi e de radicais peroxil entre si mesmos. Agindo como um *scavenger*, o ácido úrico produz uma gama de produtos de oxidação que são subseqüentemente excretados.

A melatonina, um produto secretório da glândula pineal, é um neuro-hormônio que age na regulação do ritmo circadiano, na transdução do sinal claro-escuro e na indução do sono. Além dessas funções mediadas por receptor, ela age como um *scavenger* não-enzimático de radicais livres que doa um elétron (como um hidrogênio) para "neutra-



Ácido úrico



Melatonina

Figura 24.22 Antioxidantes endógenos. O ácido úrico e a melatonina agem para neutralizar sucessivamente várias moléculas de ROS.

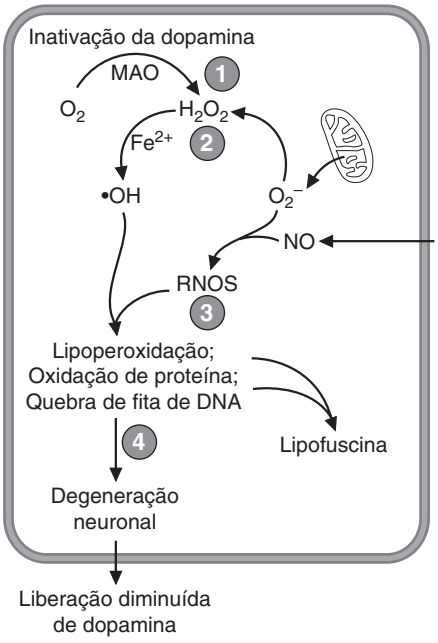


Figura 24.23 Um modelo do papel das ROS e das RNOS na degradação neuronal na doença de Parkinson. 1. Os níveis de dopamina são diminuídos pela monoamina-oxidase, o que gera H_2O_2. 2. O superóxido também pode ser produzido pelas mitocôndrias, e a SOD irá convertê-lo em H_2O_2. Os níveis de ferro aumentam, o que permite a realização da reação de Fenton, gerando radicais hidroxil. 3. O NO, produzido pela óxido-nítrico-sintase induzível, reage com o superóxido para gerar RNOS. 4. As RNOS e o radical hidroxil levam a reações radicalares em cadeia que resultam em lipoperoxidação, oxidação de proteína, formação de lipofuscina e degeneração neuronal. O resultado final é a produção e a liberação reduzidas de dopamina, o que produz os sintomas clínicos observados.

lizar" os radicais livres. Ela também pode reagir com as ROS e as RNOS para formar produtos de adição e, dessa forma, sofrer transformações suicidas. Sua efetividade está relacionada à falta de atividade pró-oxidante e à natureza conjunta hidrofílica/hidrofóbica que lhe permite passar através de membranas e da barreira sangue-cérebro.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Les Dopaman tem parkinsonismo "primário". A patogênese dessa doença não está bem estabelecida e pode ser multifatorial (Figura 24.23). Embora o agente que a inicia seja desconhecido, uma variedade de estudos sugere a participação dos radicais livres na doença de Parkinson. Os principais distúrbios clínicos na doença de Parkinson são resultado da depleção de dopamina no neoestriado, resultante da degeneração de neurônios dopaminérgicos cujos corpos celulares residem na *pars compacta* da substância negra. A diminuição na produção de dopamina é o resultado de degeneração grave desses neurônios nigro-estriatais. Neles, o *turnover* da dopamina está aumentado, os níveis de dopamina são mais baixos, a glutationa está diminuída, e a lipofuscina (corpúsculos de Lewy) está aumentada. Os níveis de ferro são mais altos, e a ferritina, a forma de armazenamento de ferro, está mais baixa. Além disso, a doença é mimetizada pelo composto 1-metil-4-fenilpiridina (MPP^+), um inibidor da NADH-desidrogenase que aumenta a produção de superóxido nesses neurônios. Mesmo assim, não se sabe se o estresse oxidativo tem uma contribuição primária ou secundária no processo da doença.

A terapia medicamentosa é baseada na gravidade da doença. Nas fases precoces da doença, um inibidor da monoamina-oxidase B é utilizado, o que inibe a degradação de dopamina e diminui a formação de peróxido de hidrogênio. Em estágios tardios da doença, os pacientes são tratados com levodopa (L-dopa), um precursor de dopamina.

Cora Nari teve angina causada por isquemia grave no músculo ventricular de seu coração. A isquemia foi causada por coágulos que se formaram no local de placas ateroscleróticas no lúmen das artérias coronárias. Quando o TPA foi infundido para dissolver os coágulos, a área isquêmica de seu coração foi reperfundida com sangue oxigenado, resultando em lesão por isquemia-reperfusão, o que, no seu caso, resultou em fibrilação ventricular.

Durante a isquemia, diversos eventos ocorrem simultaneamente nos cardiomiócitos. Um suprimento de O_2 diminuído resulta em produção de ATP diminuída a partir da fosforilação oxidativa mitocondrial e em inibição da contração do músculo cardíaco. Como conseqüência, a concentração citosólica de AMP aumenta, ativando a glicólise anaeróbica e a produção de ácido lático. Se os níveis de ATP são inadequados para manter a atividade da Na^+, K^+-ATPase, o Na^+ intracelular se eleva, resultando em edema celular, aumento adicional na concentração de H^+ e aumento dos níveis citosólicos e, subseqüentemente, mitocondriais de Ca^{2+}. A diminuição no ATP e o aumento no Ca^{2+} podem abrir poros de transição de permeabilidade mitocondrial, resultando na inibição permanente da fosforilação oxidativa. A lesão das membranas lipídicas é aumentada mais ainda pela ativação de fosfolipases pelo Ca^{2+}.

A reperfusão com O_2 permite a recuperação da fosforilação oxidativa, se as membranas mitocondriais mantiverem alguma integridade e os poros de transição mitocon-

Atualmente, um estudo intensivo de insultos isquêmicos em uma variedade de órgãos animais está em andamento em um esforço para descobrir maneiras de prevenir os danos da reperfusão. Isso inclui métodos projetados para aumentar a atividade de antioxidantes endógenos, reduzir a geração de radicais livres e, finalmente, desenvolver antioxidantes exógenos que, quando administrados antes da reperfusão, poderiam prevenir os efeitos danosos. Cada uma dessas abordagens tem encontrado algum sucesso, mas suas aplicações clínicas esperam por refinamentos adicionais. Com o crescente número de procedimentos invasivos que têm por objetivo restaurar o fluxo sangüíneo arterial através dos vasos coronarianos parcialmente obstruídos, como lise de trombo, angioplastia com balão ou a *laser* e derivação de artéria coronária por enxerto, o desenvolvimento de métodos para prevenir o dano por isquemia-reperfusão irá se tornar cada vez mais urgente.

driais possam se fechar. Contudo, ela também aumenta a produção de radicais livres. A transferência de elétrons da CoQ• para o O_2 para produzir superóxido está aumentada. A produção endotelial de superóxido pela xantina-oxidase também pode aumentar. Esses radicais podem prosseguir para formar o radical hidroxil, o qual pode aumentar o dano dos componentes da cadeia de transporte de elétrons e lipídeos mitocondriais, bem como ativar a transição de permeabilidade mitocondrial. À medida que macrófagos migram para a área para limpar os fragmentos celulares, eles podem produzir NO e superóxido, introduzindo, assim, peroxinitrito e outros radicais livres no local. Dependendo da rota e do momento envolvido, o resultado agudo pode ser a morte celular por necrose, com morte celular mais lenta por apoptose no tecido circundante.

No caso de **Cora Nari**, o oxigênio foi restabelecido antes de ocorrer lesão permanente da fosforilação oxidativa e o estágio de lesão irreversível ser atingido. Contudo, a reintrodução de oxigênio induziu a fibrilação ventricular, da qual ela se recuperou.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Proteção contra o ozônio no líquido de revestimento pulmonar. O líquido de revestimento pulmonar, uma fina camada fluida que se estende da cavidade nasal até aos alvéolos pulmonares mais distais, protege as células epiteliais que revestem as vias aéreas do ozônio e de outros poluentes. Embora o ozônio não seja uma espécie radicalar, muitos dos seus efeitos tóxicos são mediados pela geração de ROS clássicas, bem como de aldeídos e ozonídios. Os ácidos graxos poliinsaturados representam o alvo primário do ozônio, que também oxida proteínas, e a peroxidação de lipídeos de membrana é o mecanismo mais importante do dano induzido por ozônio.

O líquido de revestimento pulmonar tem duas fases: uma fase de gel, que bloqueia microrganismos e partículas grandes, e uma fase solúvel, a qual contém uma variedade de mecanismos de defesa contra ROS que previnem que poluentes alcancem as células epiteliais pulmonares subjacentes (Figura 24.24). Quando o nível de ozônio do ar inspirado é baixo, ele é neutralizado principalmente pelo ácido úrico (UA; do inglês,

Embora a maioria dos indivíduos seja capaz de se proteger contra as pequenas quantidades de ozônio da atmosfera, até mesmo pequenos aumentos de concentração de ozônio produzem sintomas respiratórios em 10 a 20 % da população sadia.

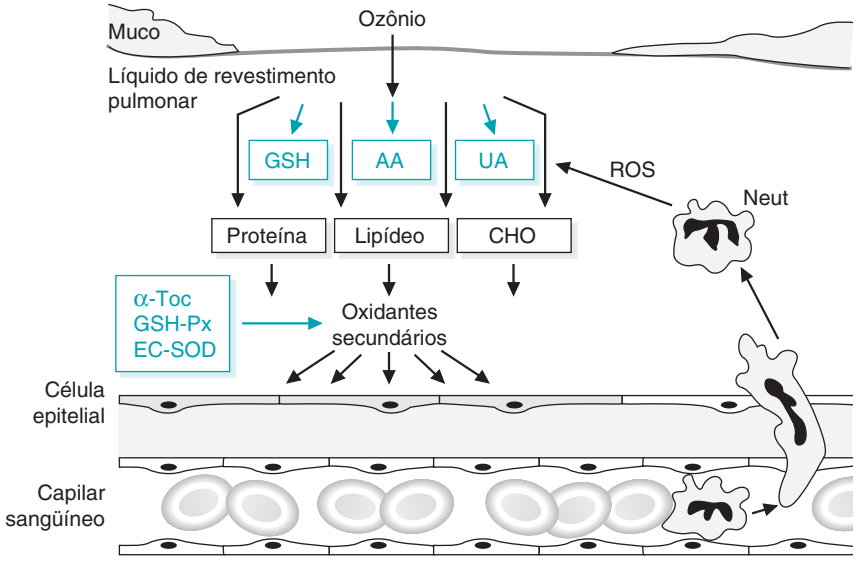


Figura 24.24 Proteção contra ozônio no líquido de revestimento pulmonar. GSH, glutationa; AA, ácido ascórbico (vitamina C); UA, ácido úrico; CHO, carboidrato; α-Toc, vitamina E; GSH-Px, glutationa-peroxidase; ED-SOD, superóxido-dismutase extracelular; Neut, neutrófilo.

***u**ric **a**cid*) presente no líquido que reveste a cavidade nasal. Nas regiões proximais e distais do trato respiratório, a glutationa (GSH) e o ácido ascórbico (AA), além do ácido úrico, reagem diretamente com o ozônio. O ozônio que escapa dessa proteção antioxidante pode reagir diretamente com proteínas, lipídeos e carboidratos (CHO) para gerar oxidantes secundários, como peróxidos lipídicos, que podem iniciar reações em cadeia. Uma segunda camada de defesa protege contra esses produtos de oxidação e de peroxidação: α-tocoferol (vitamina E) e glutationa reagem diretamente com radicais lipídicos; glutationa-peroxidase reage com peróxido de hidrogênio e com peróxidos lipídicos; e a superóxido-dismutase extracelular (EC-SOD) converte o superóxido em peróxido de hidrogênio. Entretanto, o estresse oxidativo ainda pode ultrapassar mesmo essa extensa rede de defesa, porque o ozônio também promove a migração de neutrófilos para o líquido de revestimento pulmonar. Uma vez ativados, os neutrófilos (Neut) produzem uma segunda onda de ROS (superóxido, HOCl e NO).

Leituras Sugeridas

Gutteridge JMC, Halliwell B. Antioxidants in Nutrition, Health and Disease. Oxford: Oxford University Press, 1994.

Halestrap AP. The mitochondrial permeability transition: its molecular mechanism and role in reperfusion injury. Biochem Soc Symp 1999;66:181-203.

Mudway IS, Kelly FJ. Ozone and the lung: a sensitive issue. Mol Aspects Med 2000;21:1-48.

Pietta P-G. Flavonoids as antioxidants. J Nat Prod 2000;63:1035-1042.

Reiter RJ, Tan D-X, Wenbo A, Manchester LC, Karownik M, Calvo JR. Pharmacology and physiology of melatonin in the reduction of oxidative stress in vivo. Biol Signals Recept 2000;9:160-171.

Shigenaga MK, Hagen TM, Ames BN. Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. Proc Natl Acad Sci USA 1994;92:10771-10778.

Winkler BS, Boulton ME, Gottsch JD, Sternberg P. Oxidative damage and age-related macular degeneration. Molecular Vision 1999;5:32.

Zhang Y, Dawson, VL, Dawson, TM. Oxidative stress and genetics in the pathogenesis of Parkinson's disease. Neurobiol Dis 2000;7:240-250.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 24

1. Qual das seguintes vitaminas ou enzimas é incapaz de proteger contra o dano por radicais livres?

   (A) β-Caroteno
   (B) Glutationa-peroxidase
   (C) Superóxido-dismutase
   (D) Vitamina B6
   (E) Vitamina C
   (F) Vitamina E

2. A superóxido dismutase catalisa qual das seguintes reações?

   (A) $O_2^- + e^- + 2H^+$, produzindo H_2O_2
   (B) $2\ O_2^- + 2H^+$, produzindo $H_2O_2 + O_2$
   (C) $O_2^- + HO\bullet + H^+$, produzindo $CO_2 + H_2O$
   (D) $H_2O_2 + O_2$, produzindo $4\ H_2O$
   (E) $O_2^- + H_2O_2 + H^+$, produzindo $2\ H_2O + O_2$

3. O mecanismo da vitamina E como um antioxidante é descrito de melhor maneira por qual das seguintes alternativas?

   (A) A vitamina E se liga a radicais livres e os seqüestra do conteúdo da célula.
   (B) A vitamina E participa da oxidação dos radicais.
   (C) A vitamina E participa da redução dos radicais.
   (D) A vitamina E forma uma ligação covalente com os radicais, dessa forma estabilizando o estado radicalar.
   (E) A vitamina E inibe enzimas que produzem radicais livres.

4. Um acúmulo de peróxido de hidrogênio em um compartimento celular pode ser convertido em formas radicalares perigosas na presença de qual metal?

   (A) Se
   (B) Fe

(C) Mn
(D) Mg
(E) Mb

5. O nível de dano oxidativo ao DNA mitocondrial é 10 vezes maior do que ao DNA nuclear. Isso pode ser devido, em parte, a qual das seguintes alternativas?

(A) A superóxido-dismutase está presente nas mitocôndrias.
(B) O núcleo não possui glutationa.
(C) A membrana nuclear representa uma barreira às espécies reativas de oxigênio.
(D) A membrana mitocondrial é permeável às espécies reativas de oxigênio.
(E) O DNA mitocondrial não possui histonas.

25 Metabolismo do Etanol

*O **etanol** é uma **fonte de energia dietética** metabolizada a acetato principalmente no fígado, com a regeneração de NADH. A principal rota do metabolismo do etanol é através da **álcool-desidrogenase** hepática, que oxida o etanol a **acetaldeído** no citosol (Figura 25.1). O acetaldeído é mais tarde oxidado pela **acetaldeído-desidrogenase** a **acetato**, principalmente **na mitocôndria**. O acetaldeído, que é tóxico, pode também entrar na corrente sangüínea. O **NADH** produzido por essas reações é utilizado para a geração de trifosfato de adenosina (ATP) por meio de fosforilação oxidativa. A maior parte do acetato que atinge o sangue é captada pelo músculo esquelético e por outros tecidos, onde é clivado a **acetil-CoA** e oxidado no ciclo TCA.*

*Cerca de 10 a 20% do etanol ingerido é oxidado por meio do sistema microssomal oxidante (**MEOS**), o qual compreende as enzimas do **citocromo P450** no retículo endoplasmático (especialmente **CYP2E1**). A CYP2E1 tem um alto K_m para etanol e é induzida por ele. Dessa forma, a proporção de etanol metabolizado por essa rota é maior em altas concentrações de etanol e após o consumo crônico dessa substância.*

***Efeitos agudos** da ingestão de álcool surgem principalmente pela geração de NADH, o qual aumenta bastante a fração **NADH/NAD$^+$** no fígado. Como conseqüência, a **oxidação de ácido graxo é inibida** e pode ocorrer **cetogênese**. A elevada fração de NADH/NAD$^+$ pode causar, também, **acidose láctica** e inibir a **gliconeogênese**.*

*O metabolismo do etanol pode resultar em **doenças hepáticas induzidas pelo álcool**, incluindo **esteatose hepática** (fígado gordo), **hepatite induzida por álcool** e **cirrose**. O principal produto tóxico do metabolismo do etanol inclui **acetaldeído** e **radicais livres**. O acetaldeído forma **aductos** com proteínas e outros compostos. O **radical hidroxietila** produzido por MEOS e outros radicais produzidos durante a inflamação causam alterações irreversíveis no fígado. Vários outros tecidos são afe-*

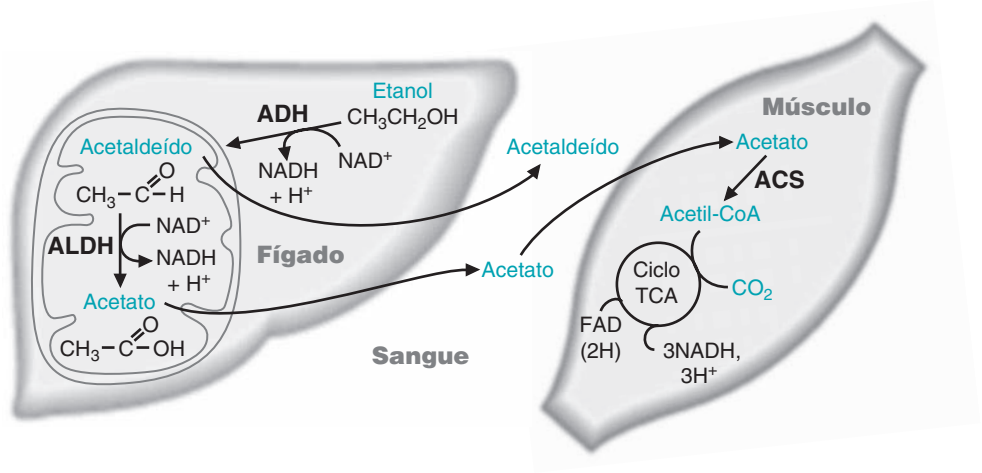


Figura 25.1 A princinpal rota do metabolismo do etanol e o uso de acetato pelo músculo. (ADH, álcool-desidrogenase; ALDH, acetaldeído-desidrogenase; ACS, acetil-CoA-sintetase).

tados adversamente pelo etanol, pelo acetaldeído ou por ***alteração no metabolismo hepático*** *e doenças.* ***Polimorfismos genéticos*** *em enzimas do metabolismo de etanol podem ser responsáveis por variações individuais no desenvolvimento de alcoolismo ou cirrose hepática.*



SALA DE ESPERA

A história dietética de **Ivan Applebod** mostrou que ele continuava com o hábito de beber uísque e soda todas as noites, enquanto assistia TV, mas não adicionava as calorias do etanol ao seu controle de ingesta calórica. Sua justificativa para isso é que ouviu em um programa de rádio que as calorias da ingestão de álcool "não contam", pois elas são calorias vazias, que não causam ganho de peso.

Al Martini foi encontrado deitado, semi-consciente, no fim da escada pela proprietária da pensão quando ela retornou após passar a noite na casa de amigos. A face do Sr. Martini tinha múltiplos hematomas, e seu antebraço direito estava grotescamente angulado. Havia vômito seco sem sangue em suas roupas. Ele foi levado de ambulância para a emergência do hospital mais próximo. Além de múltiplos hematomas e fratura composta do antebraço direito, ele tinha respirações profundas e rápidas (Kussmaul) e estava moderadamente desidratado.

A avaliação laboratorial inicial mostrou um intervalo de ânions relativamente grande de 34 mmol/L (valores de referência = 9 a 15 mmol/L). Uma análise de gases no sangue arterial confirmou a presença de acidose metabólica. O nível de álcool do Sr. Martini estava apenas levemente elevado. Sua glicose sangüínea era de 68 mg/dL (normal-baixo).

Jean Ann Tonic, uma artista comercial de 46 anos, recentemente perdeu seu emprego devido às suas faltas. Seu marido, com quem estava há 24 anos, tinha lhe abandonado 10 meses antes. Ela se queixa de perda do apetite, fadiga, fraqueza muscular, depressão emocional e, ocasionalmente, dor na área do fígado, às vezes acompanhada por náuseas e vômitos.

Ao exame físico, ela parece desarrumada e pálida. O médico observa sensibilidade à percussão leve sobre o fígado e detecta uma pequena quantidade de ascite (líquido dentro da cavidade peritoneal em torno dos órgãos abdominais). O limite inferior do fígado é palpável cerca de 5 cm abaixo da margem inferior da última costela direita, sugerindo aumento hepático, e parece mais firme e nodular do que o normal. O baço de Jean Ann não parece aumentado à palpação. Há suspeita de icterícia leve. Não há anormalidades neurológicas ou cognitivas evidentes.

Após detectar um hálito alcoólico em Jean Ann, o médico a questiona sobre possível abuso de álcool, o qual ela nega. Após questionamento mais intenso, contudo, Jean Ann admite que nos últimos 5 a 6 anos começou a beber gin diariamente (cerca de 4 a 5 drinques, ou 68 a 85 g de etanol) e a se alimentar de forma irregular. Testes laboratoriais mostraram que seu nível de etanol na visita ambulatorial inicial era 245 mg/dL (0,245 %). Um nível de etanol acima de 150 mg/dL (0,15 %) é considerado indicativo de embriaguez.

I. METABOLISMO DO ETANOL

O etanol é uma molécula pequena solúvel tanto em óleo quanto em água e, dessa forma, é rapidamente absorvido pelo intestino por difusão passiva. Uma pequena porcentagem de etanol ingerido (0 a 5%) entra na mucosa gástrica de células do trato GI alto (língua, boca, esôfago e estômago), onde é metabolizado, e o restante passa para o san-

O intervalo de ânion é calculado subtraindo-se a concentração sérica de sódio da soma dos valores do conteúdo sérico de cloreto e de HCO_3^-. O intervalo maior do que o normal indica que ácidos como corpos cetônicos acetoacetato e β-hidroxibutirato estão presentes no sangue em quantidades elevadas.

Icterícia é a descoloração amarelada envolvendo a esclera (o "branco" dos olhos) e a pele. Ela é causada pela deposição de bilirrubina, produto de cor amarelada da degradação do heme. A bilirrubina acumula-se no sangue em condições de deficiência hepática, obstrução do ducto da bile e degradação excessiva do heme.

Jean Ann Tonich admitiu que seu consumo de etanol excede a definição de beber moderadamente, a qual corresponde, atualmente, a não mais que dois drinques por dia para homens e apenas um drinque por dia para mulher. Um drinque é definido como 0,341 L de cerveja normal, 0,142 L de vinho ou 0,0043 L de bebidas destiladas (80% de teor alcoólico normal).

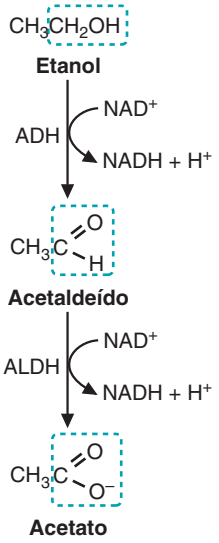


Figura 25.2 A rota do metabolismo do etanol (ADH = Álcool-desidrogenase; ALDH = acetaldeído-desidrogenase).

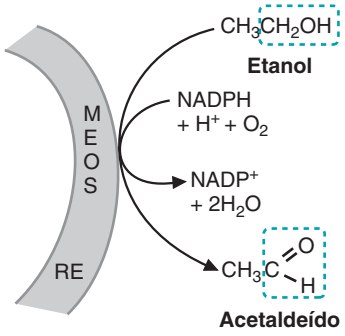


Figura 25.3 A reação catalisada por MEOS (que inclui CYP2E1) no retículo endoplasmático.

gue. Desse, 85 a 95% são metabolizados no fígado, e somente 2 a 10% são excretados pelos pulmões e pelos rins.

A principal rota do metabolismo do etanol no fígado é através da álcool-desidrogenase, uma enzima citosólica que oxida o etanol a acetaldeído com redução do NAD^+ a NADH (Figura 25.2). Se não for removido por metabolismo, o acetaldeído exerce efeito tóxico no fígado e pode passar para o sangue e exercer efeitos tóxicos em outros tecidos.

Cerca de 90% do acetaldeído produzido é posteriormente metabolizado em acetato no fígado. A principal enzima envolvida é a acetaldeído-desidrogenase (ALDH) mitocondrial com um K_m baixo, que oxida acetaldeído em acetato com formação de NADH (ver Figura 25.2). O acetato, que não apresenta efeito tóxico, pode ser ativado por acetil-CoA no fígado (onde ele pode entrar tanto no ciclo TCA quanto na rota de síntese de ácidos graxos), entretanto a maior parte do acetato que é formado passa para o sangue e é ativada pela acetil-CoA no músculo esquelético e em outros tecidos (ver Figura 25.1). O acetato é geralmente considerado não-tóxico e é um constituinte normal da dieta.

Outra importante rota de oxidação do etanol no fígado é o sistema microssomal oxidante de etanol (MEOS), que também oxida etanol a acetaldeído (Figura 25.3). A principal enzima microssomal envolvida é a isoenzima oxidase do citocromo P450 com função mista (CYP2E1). Ela utiliza NADPH como um doador adicional de elétrons e O_2 como receptor de elétrons. Essa rota realiza apenas 10 a 20% da oxidação de etanol em consumidores moderados de bebidas alcoólicas.

Cada enzima ativa envolvida no metabolismo do etanol (álcool-desidrogenase, acetaldeído-desidrogenase e CYP2E1) é uma família de isoenzimas. Variações individuais na quantidade dessas isoenzimas influenciam em diversos fatores, como a fração de depuração de etanol pelo sangue, o grau de embriaguez exibida pelo indivíduo e as diferenças na suscetibilidade do indivíduo em desenvolver doenças hepáticas causadas pelo álcool.

A. Álcool-desidrogenase

A álcool-desidrogenase (ADH) é uma família de isoenzimas com variação específica no comprimento da cadeia do substrato do álcool (Tabela 25.1). O etanol é uma molécula pequena que não apresenta muitas características peculiares em sua estrutura e, em altas concentrações, é metabolizada de forma não-específica por vários membros da família ADH. As álcool-desidrogenases que apresentam maior especificidade pelo etanol são da classe álcool-desidrogenase I. O ser humano possui três genes para a classe álcool-desidrogenase I, e cada um deles apresenta uma variação alélica (polimorfismo).

Tabela 25.1 Isoenzimas Álcool-Desidrogenase de Comprimento Médio de Cadeia

Classe	Gene	Subunidade	Distribuição Tecidual	Propriedades
I	ADH 1 ADH 2 ADH 3	α β γ	Abundante no fígado e nas glândulas adrenais. Níveis bem menores nos rins, nos pulmões, no cólon, no intestino curto, nos olhos, nos ovários e na circulação sangüínea. Não existe no cérebro nem no coração.	K_m de 0,05-4 mM para o etanol. Atividade somente com etanol. Alta capacidade tecidual.
II	ADH 4	π	Primeiramente fígado; níveis baixos no trato GI.	K_m de 34 mM para etanol.
III	ADH 5	χ	Expresso ubiquamente, mas em níveis maiores no fígado. A única enzima presente em células germinais.	Quase inativo para etanol. Atividade principalmente para cadeias longas de alcoóis e ϖ-OH ácidos graxos.
IV	ADH 7	σ	Presente em níveis mais altos no trato GI alto, na gengiva e na boca, no esôfago; diminui no estômago. Não está presente no fígado.	K_m de 28 mM. É a mais ativa para cadeias médias de álcool DH para retinal.
V	ADH 6	–	Pode ser maior em fígados de fetos.	Alguma atividade para etanol.

A classe I de álcool-desidrogenases está presente em altas quantidades no fígado, representando cerca de 3% do total de proteína solúvel. Essas álcool-desidrogenases, em geral referidas coletivamente como álcool-desidrogenase hepática, apresentam um K_ms baixo para etanol entre 00,5 a 4 mM (altas afinidades). Portanto, o fígado é o principal sítio de metabolização do álcool e de formação do metabólito tóxico (acetaldeído).

Embora as enzimas das classes IV e II apresentem uma menor contribuição para o metabolismo do etanol, elas podem contribuir para o seu efeito tóxico. As concentrações de etanol podem ser totalmente altas na parte superior do trato GI (p. ex., a da cerveja é aproximadamente 0,8 M de etanol), e a formação de acetaldeído nesse local pelas enzimas da classe IV (ADH gástricas) pode contribuir para o risco de câncer associado a bebidas leves. Os genes ADH de classe II são primeiramente expressos no fígado e, em níveis mais baixos, no trato gastrintestinal inferior.

B. Acetaldeído-desidrogenase

O acetaldeído é oxidado a acetato com a formação de NADH pela acetaldeído-desidrogenase (ver Figura 25.2). Mais de 80% da oxidação de acetaldeído no fígado humano é normalmente catalisada por acetaldeído-desidrogenase mitocondrial (ALDH2), que apresenta uma alta afinidade por acetaldeído e é altamente específica. Entretanto, indivíduos com variações alélicas comuns de ALDH2 têm uma capacidade bastante diminuída de metabolizar acetaldeído.

A maior parte da oxidação do acetaldeído restante ocorre por meio de uma acetaldeído-desidrogenase citosólica (ALDH1). Acetaldeído-desidrogenases adicionais agem em uma variedade de alcoóis orgânicos, toxinas e poluentes.

C. Destino do Acetato

O metabolismo do acetato requer a ativação de acetil-CoA pela acetil-Coa-sintetase, em reação similar à catalisada por acetil-CoA-sintetase graxa (Figura 25.4). No fígado, a principal isoforma da acetil-CoA-sintetase (ACS I) é uma enzima citosólica que forma acetil-CoA pela rota citosólica da síntese de colesterol e ácidos graxos. A entrada de acetato nessa rota está sob controle regulatório de mecanismos envolvendo colesterol e insulina. Portanto, a maior parte de acetato formado passa para o sangue.

O acetato é captado e oxidado por outros tecidos, principalmente coração e músculo esquelético, os quais têm uma alta concentração mitocontrial da isoforma de acetil-CoA-sintetase (ACS II). Essa enzima está presente na matriz mitocondrial e, por isso, forma acetil-CoA, que pode entrar diretamente no ciclo TCA e ser oxidada a CO_2.

D. Sistema Microssomal Oxidante de Etanol

O etanol também é oxidado a acetaldeído no fígado pelo sistema microssomal oxidante de etanol, o qual envolve membros de superfamílias de enzimas do citocromo P450. Etanol e NADPH doam elétrons nessa reação, que reduz O_2 a $2H_2O$ (Figura 25.5). Todas as enzimas do citocromo P450 têm dois componentes de proteína catalítica prin-



O acúmulo de acetaldeído causa náusea e vômito, e, dessa forma, a acetaldeído-desidrogenase inativa é relacionada aos comportamentos desagradáveis provocados pelo álcool e protege contra o alcoolismo. Em uma das variações alélicas de ALDH2 (ALDH2*2) comuns, uma simples substituição aumenta o K_m para acetaldeído 260 vezes (diminui a afinidade) e diminui o V_{max} 10 vezes, resultando em enzima muito inativa. A homozigose para o alelo ALDH2*2 permite proteção absoluta contra o alcoolismo; nenhum indivíduo com esse genótipo tem sido encontrado entre alcoólatras. Esses são freqüentemente tratados com inibidores da aldeído-desidrogenase (p. ex., dissulfiram) para auxiliá-los a absterem-se do consumo de álcool. Aqueles que continuam a beber durante o tratamento com esses fármacos são expostos a efeitos tóxicos do álcool, devido a níveis elevados de acetaldeído.



Os seres humanos possuem ao menos sete, possivelmente mais, genes codificadores para específicas isoenzimas de álcool-desidrogenase de comprimento de cadeia médio, a principal enzima responsável pela oxidação de etanol a acetaldeído em humanos. Essas diferentes enzimas têm aproximadamente 60 a 70% de identidade e surgiram a partir de um gene ancestral comum similar à classe III de isoenzima, há vários milhões de anos. As álcool-desidrogenases de classe I (ADH 1, ADH 2 e ADH 3) estão presentes em altas concentrações no fígado e têm uma afinidade e uma capacidade relativamente altas para o etanol em baixas concentrações. (Essas propriedades são quantitativamente refletidas pelos seus baixos K_m, um parâmetro discutido no Capítulo 9.) Elas têm de 90 a 94% da seqüência identificada e são capazes de formar, entre si, tanto homo quanto hétero-dímeros (p. ex., ββ ou βγ). Entretanto, nenhuma das ADH pode formar dímeros com ADH de outras classes. Os três genes da classe I de álcool-desidrogenases são arranjados um atrás do outro, cabeça a cauda, no cromossomo 4; os pertencentes a outras classes também são arranjados no cromossomo 4 em localizações próximas.



ADH 2 e ADH 3 estão presentes como polimorfismos funcionais que diferem em suas propriedades. O polimorfismo genético de ADH conta parcialmente para a observação de diferenças na fração de eliminação de etanol em diferentes indivíduos ou populações. Embora a suscetibilidade ao alcoolismo seja uma função complexa de genes e fatores socioeconômicos, a posse de alelo ADH2*2, que codifica uma ADH relativamente rápida (alto $V_{máx}$), é associada a uma diminuição da suscetibilidade ao alcoolismo – presumidamente devido à náusea e ao rubor causados pela acumulação de acetaldeído (porque o gene de aldeído desidrogenase não pode acompanhar a quantidade de acetaldeído produzida). Esse alelo tem uma freqüência relativamente alta na população da Ásia Oriental e baixa entre os europeus brancos. Em contraste, o genótipo ADH2*2/2*1 (homozigoto para o alelo 1 do gene ADH 2) é um fator de risco para o desenvolvimento da síndrome Wernicke-Korsakoff, uma síndrome neuropsiquiátrica comumente associada ao alcoolismo.

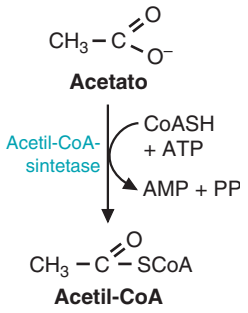


Figura 25.4 A ativação de acetato a acetil-CoA.

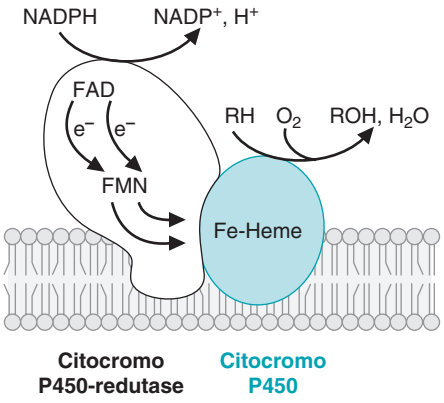


Figura 25.5 Estrutura geral de enzimas do citocromo P450. O O_2 liga-se ao Fe-Heme P450 no sítio ativo e é ativado a uma forma reativa para receber elétrons. Os elétrons são doados pela citocromo P450-redutase, que contém um FAD mais um FMN ou um centro Fe-S para facilitar a transferência de elétrons single do NADPH para o O_2. As enzimas P450 envolvidas na esteroidogênese têm pouca diferença estrutural. Para CYP2E1, RH é etanol (CH_3CH_2OH) e ROH é acetaldeído (CH_3COH).

CYP representa **ci**tocromo **P**450. P450 é uma Fe-heme similar à encontrada nos citocromos de cadeias de transporte de elétrons ("P" denota o **p**igmento heme, e 450 é o comprimento de onda de luz visível absorvida pelo pigmento). Na CYP2E1, o "2" refere-se à família de gene, o qual compreende isoenzimas com mais de 40% de seqüências de aminoácidos identificados, o "E" refere-se à subfamília, um grupo de isoenzimas com mais de 55 a 60% de seqüências identificadas, e o "1" refere-se à enzima individual dentro dessa subfamília.

cipais: um sistema doador de elétrons que os transfere a partir do NADPH (citocromo P450-redutase) e um citocromo P450. A proteína do citocromo P450 contém os sítios de ligação para o O_2 e o substrato (p. ex., etanol) e realiza a reação. As enzimas estão presentes no retículo endoplasmático, que, isolado de células rompidas, forma uma fração de membrana após centrifugação que é formalmente chamada pelos bioquímicos de "microssomos".

1. CYP2E1

O MEOS é parte da superfamília de enzimas do citocromo P450, as quais catalisam reações oxidativas similares. Dentro da superfamília, ao menos 10 famílias de genes distintos são encontradas em mamíferos, e essas possuem mais de 100 isoenzimas do citocromo P450 diferentes. Cada isoenzima tem uma classificação distinta de acordo com a relação estrutural com outras isoenzimas. A que apresenta maior atividade para o etanol é a chamada CYP2E1. Há uma grande sobreposição da especificidade entre as várias isoenzimas P450, e o etanol também é oxidado por várias outras isoenzimas P450. O "MEOS" refere a atividade de oxidação do etanol combinada por todas as enzimas P450.

A CYP2E1 tem um K_m muito maior para o etanol do que a classe I das álcool-desidrogenases (11 mM [51 mg/dL] comparado com 0,05-4 mM [0,23 a 18,4 mg/dL]). Então, uma maior porção de álcool ingerido é metabolizado por meio da CYP2E1 em níveis maiores de consumo de etanol do que em baixos níveis.

2. INDUÇÃO DE ENZIMAS P450

As enzimas P450 são induzidas por seus mais específicos substratos e por substratos de algumas das outras enzimas do citocromo P450. O consumo crônico de etanol aumenta os níveis hepáticos de CYP2E1 cerca de 5 a 10 vezes e causa, também, um aumento de duas a quatro vezes em algumas das outras P450 da mesma família, de diferentes subfamílias e até mesmo de diferentes famílias de genes. O retículo endoplasmático sofre proliferação, com um aumento geral no conteúdo das enzimas microssomais, incluindo aquelas que não são diretamente envolvidas no metabolismo do etanol.

O aumento na CYP2E1 com o consumo de etanol ocorre por meio de regulação de transcrição, pós-transcrição e pós-translação. Níveis aumentados de mRNA, resultantes da indução de transcrição do gene ou estabilização da mensagem, são encontrados em pacientes que consomem álcool com freqüência. A proteína é também estabilizada contra degradação. Em geral, o mecanismo para indução de enzimas P450 pelos seus substratos ocorre por meio de ligação do substrato (ou composto relacionado) a um receptor intracelular de proteína, seguido pela ligação do receptor ativo a um elemento-resposta no gene-alvo. Ainda não se tem bem demonstrado se a indução da CYP2E1 pelo etanol segue esse padrão geral.

A especificidade sobreposta na atividade catalítica de enzimas P450 e na suas induções é responsável por várias interações medicamentosas. O fenobarbital, por exemplo, um barbitúrico utilizado há bastante tempo como indutor do sono ou para epilepsia, é convertido em um metabólito inativo por CYP2B1 e CYP2B2 monoxigenases do citocromo P450. Após o tratamento com fenobarbital, a CYP2B2 é aumentada em 50 a 100 vezes. Como a CYP2B2 é induzida, indivíduos que utilizam fenobarbital por um período prolongado desenvolvem uma tolerância medicamentosa, e o medicamento é metabolizado a um composto inativo mais rapidamente. Como conseqüência, esses indivíduos utilizam doses progressivamente maiores de fenobarbital.

O etanol é um inibidor da oxidação do fenobarbital pelo sistema P450. Quando grandes quantidades de etanol são consumidas, a inativação do fenobarbital é direta ou indiretamente inibida. Dessa forma, quando altas doses de fenobarbital e etanol são consumidas ao mesmo tempo, níveis tóxicos de barbitúrico podem ser acumulados no sangue.

Embora a indução de CYP2E1 aumente a depuração do etanol do sangue, ela tem conseqüências negativas. O acetaldeído pode ser produzido mais rapidamente do que pode ser metabolizado pela acetaldeído-desidrogenase, o que aumenta o risco de danos hepáticos, e uma maior quantidade dele pode passar para o sangue e prejudicar outros tecidos. Além disso, as enzimas do citocromo P450 são capazes de formar radicais livres, que também podem levar ao aumento de danos hepáticos e cirrose (ver Capítulo 24).

E. Variação no Padrão do Metabolismo do Etanol

A rota e a velocidade de oxidação do etanol variam de indivíduo para indivíduo. Diferenças no metabolismo do etanol podem influenciar se um indivíduo passa a ser um alcoólatra, desenvolve doenças hepáticas induzidas pelo álcool ou adquire outras patologias associadas ao aumento do consumo de álcool (como hepatocarcinogêneses, câncer de pulmão ou câncer de mama). Os fatores que determinam a velocidade e a rota de metabolização do etanol incluem:

- Genótipo – Formas polimorfas de álcool-desidrogenase e acetaldeído-desidrogenase podem afetar bastante a velocidade de oxidação de etanol e a acumulação de acetaldeído. A atividade da CYP2E1 pode variar em até 20 vezes entre indivíduos, particularmente devido a diferenças em induções de variações de alelos diversas.
- Histórico de bebida – O nível de álcool-desidrogenase gástrica (ADH) diminui, e a CYP2E1 aumenta com uma progressão de um singelo a um moderado e, em seguida, um pesado e crônico consumidor de álcool.
- Sexo – Os níveis sangüíneos de álcool após o consumo de uma bebida são normalmente maiores nas mulheres do que nos homens, em particular devido aos baixos níveis de atividade de ADH gástrica nas mulheres. Após consumo crônico de etanol, a ADH gástrica diminui tanto nas mulheres quanto nos homens, mas as diferenças entre os sexos tornam-se ainda maior. A diferença sexual nos níveis sangüíneos de álcool também pode ocorrer porque as mulheres em geral são menores. Dessa forma, no sexo feminino, o álcool é distribuído em um espaço 12% menor de água, porque a composição corporal das mulheres consiste em mais gordura e menos água do que a dos homens.
- Quantidade – A quantidade de etanol consumida por um indivíduo em um pequeno espaço de tempo determina a rota metabólica dessa substância. Pequenas quantidades de etanol são metabolizadas mais eficientemente através de rotas de baixo K_m de classe I ADH e classe II ALDH, e uma pequena acumulação de NADH ocorre para inibir o metabolismo do etanol via essas desidrogenases. Entretanto, quando grandes quantidades de etanol são consumidas em um curto período, uma grande quantidade é desproporcionalmente metabolizada através do MEOS. O MEOS o qual possui um K_m muito maior para etanol, funciona principalmente em altas concentrações dessa substância. Uma maior atividade de MEOS pode estar correlacionada com a tendência do indivíduo de desenvolver doenças hepáticas induzidas pelo álcool, porque os níveis de ambos, acetaldeído e radicais livres, podem ser aumentados.

F. A Energia Produzida na Oxidação do Etanol

O ATP produzido na oxidação do etanol a acetato varia conforme a rota de metabolismo do etanol. Se a oxidação ocorre nas rotas citosólica ADH e mitocondrial ALDH, um NADH citosólico e um mitocondrial são formados com um máximo de 5 ATP produzidos. A oxidação de acetil-CoA no ciclo TCA e na cadeia de transporte de elétrons leva à formação de 10 ligações fosfato ricas em energia. Entretanto, a ativação de acetato a acetil-CoA requer duas ligações de fosfato de alta energia (uma na clivagem de ATP a AMP + pirofosfato e uma na clivagem de pirofosfato a fosfato), a qual deve ser subtraída. Então, a energia total produzida é 13 moles de ATP por mol de etanol.

De forma oposta, a oxidação de etanol a acetaldeído pela CYP2E1 consome energia na forma de NADPH, que é equivalente a 2,5 ATP. Então, para cada mol de eta-



Se a concentração sangüínea de etanol aumenta acima de 18 mM (o limite legal de intoxicação é atualmente definido como 0,08% na maior parte dos Estados Unidos, o que corresponde a cerca de 18 mM), o cérebro e o sistema nervoso central são afetados. A indução da CYP2E1 aumenta a taxa de depuração do etanol do sangue e, dessa forma, contribui para a indução de tolerância ao álcool. Entretanto, a habilidade aparente de um alcoólatra crônico de beber sem apresentar embriaguez é, em parte, um comportamento erudito.



Quando o consumo de etanol de **Ivan Applebod** for baixo, o etanol será oxidado a acetato via ADH e ALDH no fígado, e o acetato será ativado à acetil-CoA e oxidado a CO_2 no músculo esquelético e em outros tecidos. A energia total produzida de 13 ATP por molécula de etanol é importante para a determinação do valor calórico do etanol, aproximadamente 7 Cal/g. Entretanto, o consumo crônico de quantidade substancial de álcool não tem o efeito esperado por caloria consumida no peso corporal. Isso é em parte atribuído à indução de MEOS, resultando em um metabolismo do etanol proporcionalmente melhor através de MEOS com menor energia cedida (somente em torno de 8 ATP). Em geral, dietas para perda de peso recomendam nenhum ou baixo consumo de álcool, porque calorias de etanol são "vazias" no sentido de serem pobres em vitaminas, aminoácidos essenciais e outros nutrientes necessários; no entanto, elas possuem calorias.

nol metabolizado por essa rota, somente um máximo de 8,0 moles de ATP podem ser formados (10 ATP pela oxidação da acetil-CoA através do ciclo TCA, menos 2 para ativação do acetato; a formação de NADH pela aldeído-desidrogenase é balanceada pela perda de NADPH na etapa MEOS).

II. EFEITO TÓXICO DO METABOLISMO DO ÁLCOOL

Doenças induzidas pelo álcool, uma conseqüência comum e algumas vezes fatal do consumo abusivo, podem se apresentar em três formas: fígado gordo, hepatite induzida por álcool e cirrose. Cada uma pode ocorrer sozinha ou se apresentar em diversas combinações em um determinado paciente. A cirrose induzida por álcool é diagnosticada em 9% de todas as necropsias realizadas nos Estados Unidos, com um pico de incidência em pacientes com idade de 40 a 55 anos.

Entretanto, a ingestão de etanol tem também efeito agudo no metabolismo hepático, incluindo inibição da oxidação de ácidos graxos e estímulo da síntese de triacilglicerol, levando, dessa foram, a um fígado gorduroso. Isso também pode resultar em cetoacidose ou acidose láctica e causar hipoglicemia ou hiperglicemia, dependendo do estado dietético. Esses efeitos são considerados reversíveis.

Em contraste, o acetaldeído e os radicais livres formados a partir do metabolismo do etanol podem resultar em hepatites induzidas por álcool, uma condição em que o fígado está inflamado, e as células se tornam necróticas e morrem. Danos difusos aos hepatócitos resultam em cirrose, caracterizada por fibrose (cicatrizante), alteração na arquitetura normal e fluxo sangüíneo, perda da função hepática e, por fim, insuficiência hepática.

A. Efeitos Agudos do Etanol Causados pelo Aumento da Proporção de NADH/NAD^+

Muitos dos efeitos agudos da ingestão de etanol são causados pelo aumento da proporção de NADH/NAD^+ no fígado (Figura 25.6). Na ingestão de baixas concentrações de etanol, a proporção de oxidação desse é regulada pelo seu suplemento (normalmente determinada pela quantidade de álcool consumida) e pela taxa em que NADH é reoxidado em cadeias transportadoras de elétrons. O NADH não é um produto muito efetivo na inibição de ADH ou ALDH, e não existe outra regulação retroativa por ATP, ADP ou AMP. Por conseqüência, as formações de NADH no citosol e na mitocôndria tendem a se acumular, aumentando a proporção NADH/NAD^+ a níveis elevados (ver Figura 25.6, círculo 1). O aumento é até mesmo maior se a mitocôndria se torna danificada por acetaldeído ou lesões de radicais livres.

1. MODIFICAÇÕES NO METABOLISMO DE ÁCIDOS GRAXOS



A hiperlipidemia é mais acentuada se a gordura for ingerida com álcool. Portanto, alimentos consumidos em *happy hour* (p. ex., pizza, batata frita com casca e creme ácido, nachos, pimenta frita, torresmo) são exatamente os produtos errados para acompanhar bebidas alcóolicas. Vegetais ao vapor ou saladas seriam bem melhores para o fígado.

A alta proporção de NADH/NAD^+ formada a partir da oxidação de etanol inibe a oxidação de ácidos graxos, os quais se acumulam no fígado (ver Figura 25.6, círculos 2 e 3). Esses ácidos graxos são reesterificados em triacilgliceróis por combinarem-se com glicerol 3-P. O aumento da proporção de NADH/NAD^+ eleva a disponibilidade de glicerol 3-P por promover sua síntese a partir de intermediários da glicólise. Os triacilgliceróis são incorporados dentro de VLDL (lipoproteínas de muito baixa densidade), que acumula-se no fígado e passa para o sangue, resultando em hiperlipidemia induzida por etanol.

Embora somente poucas bebidas possam resultar em acumulação hepática de gordura, o consumo crônico acentua bastante o desenvolvimento de um fígado gorduroso. A reesterificação de ácidos graxos a triacilgliceróis por acil-CoA-transferases no RE é acentuada (ver Figura 25.6). Como as transferases são enzimas microssomais, elas são induzidas pelo consumo de etanol no momento em que o MEOS é induzido. O resultado é um fígado gorduroso (esteatose hepática).

A fonte de ácido graxo pode ser a gordura da dieta, a síntese de ácidos graxos no fígado ou a liberação de ácidos graxos dos estoques dos tecidos adiposos. A lipólise de tecido adiposo aumenta após o consumo de etanol, possivelmente devido à liberação de epinefrina.

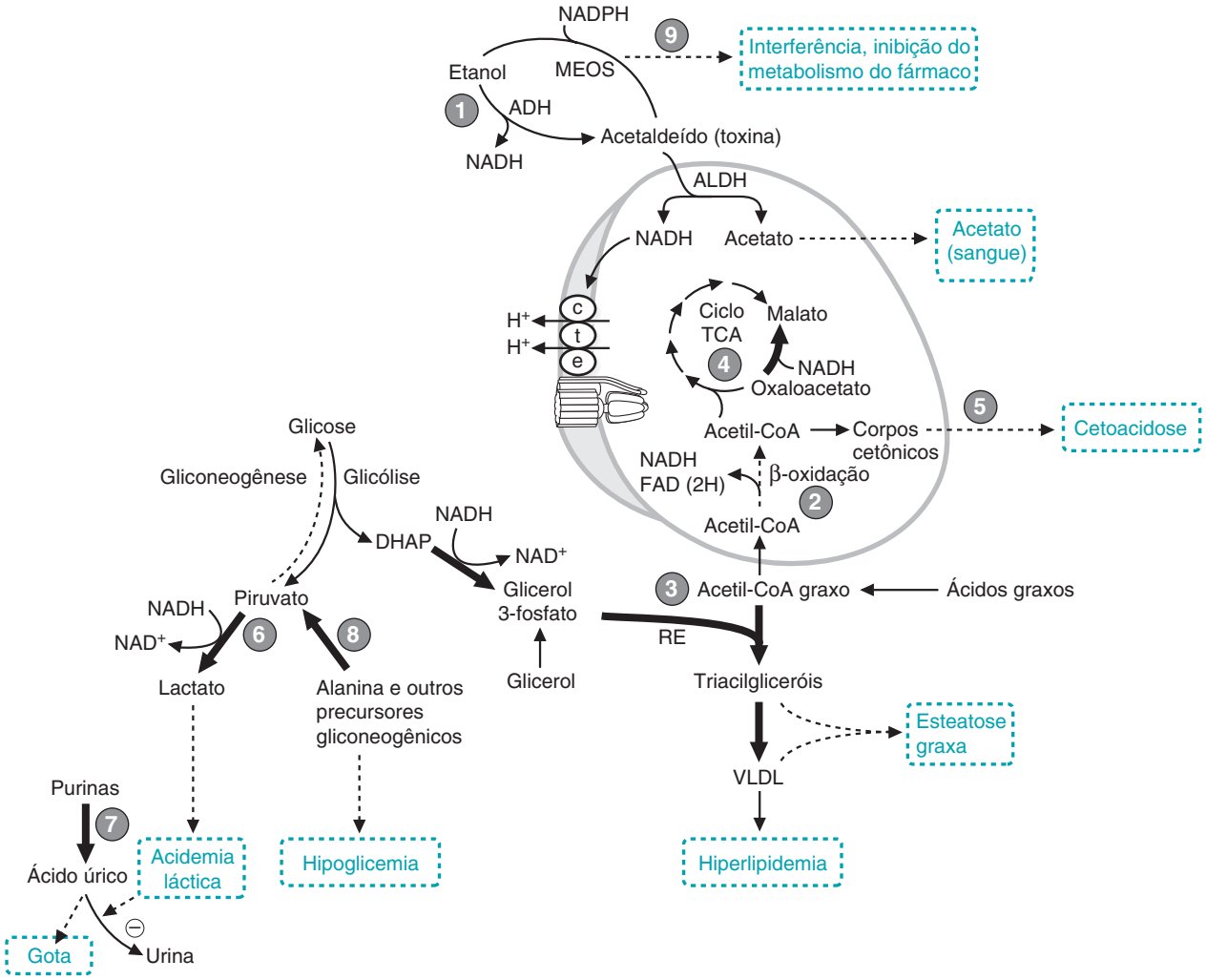


Figura 25.6 Efeitos agudos do metabolismo do etanol no metabolismo de lipídeos no fígado. (1) O metabolismo do etanol forma alta proporção NADH/NAD$^+$. (2) A alta proporção de NADH/NAD$^+$ inibe a oxidação de ácidos graxos e o ciclo TCA, resultando em acúmulo de ácidos graxos. (3) Ácidos graxos são reesterificados a glicerol 3-P por aciltransferases no retículo endoplasmático. Os níveis de glicerol 3-P são aumentados porque uma alta proporção de NADH/NAD$^+$ favorece sua formação a partir de fosfato de diidroxiacetona (um intermediário da glicólise). A indução de enzimas do retículo endoplasmático pelo etanol também favorece a formação de triacilgliceróis. (4) A geração de NADH pela oxidação de etanol pode satisfazer as necessidades da célula de formação de ATP pela fosforilação oxidativa. Então, a oxidação de acetil-CoA no ciclo TCA é inibida. (5) A alta proporção de NADH/NAD$^+$ desloca oxaloacetato (OAA) para malato, e acetil-CoA é direcionada para dentro da síntese de corpos cetônicos. As opções 6 a 8 são discutidas no texto.

2. CETOACIDOSE INDUZIDA POR ÁLCOOL

Ácidos graxos que são oxidados são convertidos em acetil-CoA e subseqüentemente em corpos cetônicos (acetoacetato e β-hidroxibutirato). É formado NADH suficiente pela oxidação de etanol e ácidos graxos, não havendo a necessidade de oxidar acetil-CoA no ciclo TCA. A proporção muito alta de NADH/NAD$^+$ direciona a reação no sentido em que todo o oxaloacetato no ciclo TCA se transforme em malato, deixando os níveis de oxaloacetato muito baixos para a citrato-sintase sintetizar o citrato (ver Figura 25.6, círculo 4). A acetil-CoA passa para rota de síntese de corpos cetônicos em vez do ciclo TCA.

Embora os corpos cetônicos sejam produzidos em uma taxa elevada, seu metabolismo em outros tecidos é restrito pelo suplemento de acetato, que é o principal substrato energético. Portanto, a concentração plasmática de corpos cetônicos pode ser bem maior do que a encontrada sob condições normais de jejum.

Al Martini foi internado com suspeita de uma cetoacidose induzida por álcool superimposta em uma cetoacidose por inanição. Exames mostraram que seu nível de ácido graxo livre plasmático estava elevado, e o de β-hidroxibutirato estava 40 vezes maior do que o limite normal. O aumento da proporção de NADH/NAD$^+$ pelo consumo de etanol inibiu o ciclo TCA e deslocou acetil-CoA da oxidação de ácidos graxos para a rota de síntese de corpos cetônicos.

3. ACIDOSE LÁCTICA, HIPERURICEMIA E HIPOGLICEMIA

Outra conseqüência da proporção muito alta de NADH/NAD^+ é que o equilíbrio da reação de lactato-desidrogenase é deslocada para a formação de lactato, resultando em acidoses lácticas (ver Figura 25.6, círculo 6). A elevação de lactato no sangue pode diminuir a excreção de ácido úrico (ver Figura 25.6, círculo 7) pelos rins. Conseqüentemente, pacientes com gota (que resulta de cristais de ácido úrico precipitados nas articulações) são orientados a não beber em quantidades excessivas de etanol. O aumento da degradação de purinas também pode contribuir para hiperuricemia.

O aumento da proporção NADH/NAD^+ também pode causar hipoglicemia em indivíduos em jejum que estiverem ingerindo bebidas alcoólicas e forem dependentes da gliconeogênese para manter os níveis sangüíneos de glicose (Figura 25.6, círculos 6 e 8). A alanina e o lactato são os principais precursores gliconeogênicos que entram na glicogenólise como piruvato. A maior proporção NADH/NAD^+ desloca o equilíbrio de lactato-desidrogenase para a formação do lactato – então, o piruvato formado a partir da alanina é convertido em lactato e não pode entrar na gliconeogênese – e impede outros importantes precursores gliconeogênicos, como oxalato e glicerol, de entrarem na rota gliconeogênica.

Em contraste, o consumo de etanol com uma refeição pode resultar em hiperglicemia transitória, possivelmente porque a alta proporção de NADH/NAD^+ inibe a glicólise na etapa da gliceraldeído-3-P-desidrogenase.

B. Toxicidade do Acetaldeído

Muitos dos efeitos tóxicos do consumo crônico do álcool resultam do acúmulo de acetaldeído, que é produzido a partir do etanol tanto pela álcool-desidrogenase como pelo MEOS. O acetaldeído acumula-se no fígado e é liberado para dentro da corrente sangüínea após altas doses de etanol (Figura 25.7). Ele é altamente reativo e liga-se covalentemente a grupos aminos, grupos sulfidrilas, nucleotídeos e fosfolipídeos para formar "aductos".



O efeito não-calórico de ingestão leve e crônica do etanol que leva **Ivan Applebod** a acreditar que etanol não tem calorias pode ser em parte atribuído a desacoplamento da fosforilação oxidativa. A mitocôndria hepática de tecidos de alcoólatras crônicos pode ser parcialmente desacoplada e incapaz de manter o gradiente de prótons transmembrana necessário para taxas normais de síntese de ATP. Conseqüentemente, uma boa proporção de energia no etanol pode ser convertida em calor. Distúrbios metabólicos como a perda de corpos cetônicos na urina ou a circulação ineficaz de glicose também podem contribuir para a diminuição do valor energético do etanol.

1. HEPATITE INDUZIDA POR ACETALDEÍDO E ÁLCOOL

Um dos resultados da formação de aductos de acetaldeído com aminoácidos é uma diminuição geral na síntese de proteínas plasmáticas (ver Figura 25.7, círculo 1). Calmodulina, ribonuclease e tubulina são algumas das proteínas afetadas. Proteínas no coração e em outros tecidos também podem ser afetadas por acetaldeído que aparece no sangue.

Como conseqüência da formação de aductos de acetaldeído de tubulina, ocorre diminuição da secreção de proteínas séricas e lipoproteínas VLDL do fígado. Esse sintetiza diversas proteínas, incluindo albumina sérica, fatores de coagulação sangüínea e proteínas transportadoras para vitaminas, esteróides e ferro. Essas proteínas acumulam-se no fígado, com lipídeos. A acumulação de proteínas resulta em afluência de água (ver Figura 25.7, círculo 6) para dentro dos hepatócitos e inchaço do fígado que contribui para hipertensão porta e distorção da arquitetura hepática.

2. ACETALDEÍDO E DANOS POR RADICAIS LIVRES

A formação de aductos de acetaldeído realça os danos por radicais livres. O acetaldeído liga-se diretamente à glutationa e diminui sua habilidade em proteger contra H_2O_2 e prevenir a peroxidação lipídica (ver Figura 25.7, círculo 2), além de se ligar a enzimas de defesa de radicais livres.

Os danos à mitocôndria por acetaldeído e radicais livres perpetuam um ciclo de toxicidade (ver Figura 25.7, círculos 3 e 4). Com o consumo crônico de etanol, a mitocôndria começa a ficar danificada, a taxa de transporte de elétrons é inibida, e a fosforilação oxidativa tende a se tornar desacoplada. A oxidação de ácido graxo é diminuída o máximo possível, acentuando, dessa forma, a acumulação de lipídeos

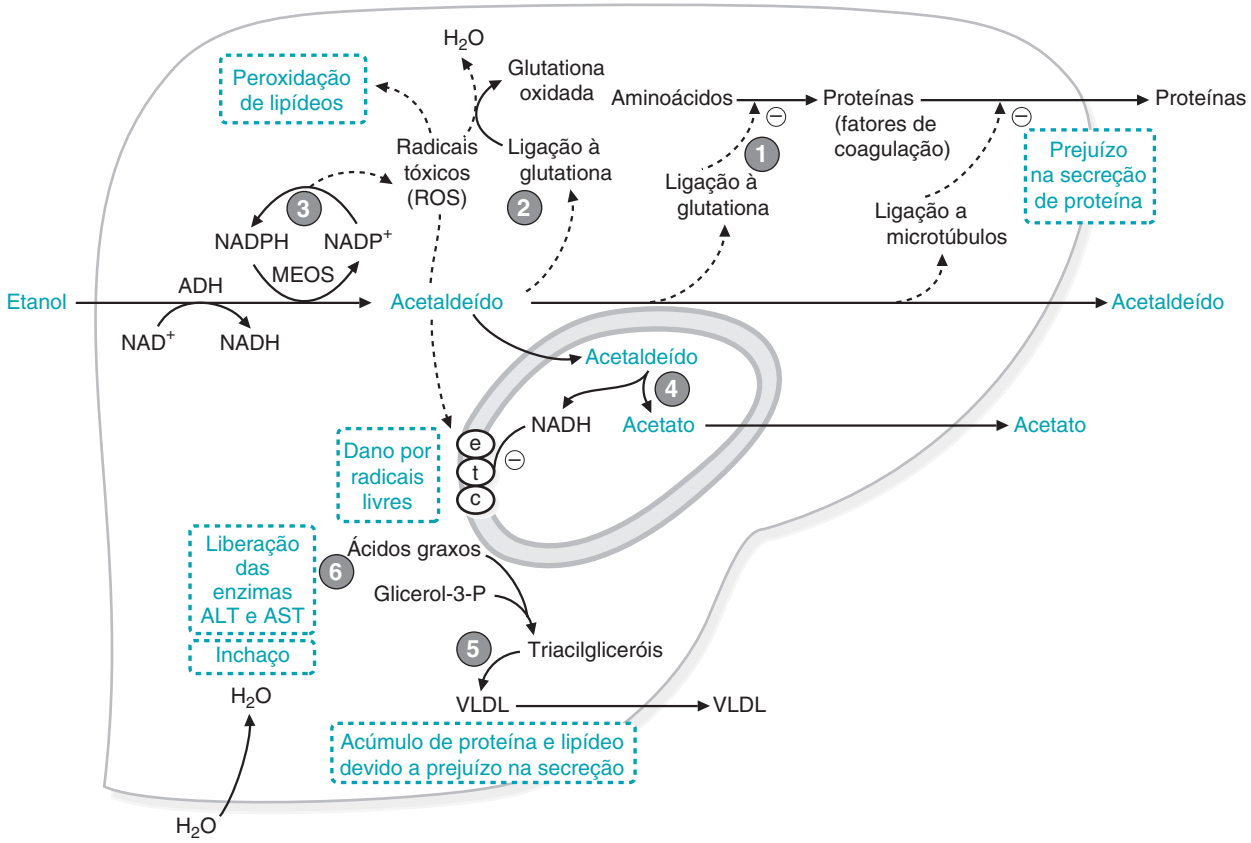


Figura 25.7 O desenvolvimento de hepatite induzida por álcool. (1) A formação de aducto de acetaldeído diminui a síntese de proteínas e prejudica a secreção de proteína. (2) Dano por radicais livres resulta em parte da formação de aducto de acetaldeído com glutatião. (3) A indução de MEOS aumenta à formação de radicais livres, que leva à peroxidação lipídica e ao dano celular. (4) O dano mitocondrial inibe a cadeia transportadora de elétrons, que diminui a oxidação de acetaldeído. (5) O dano do microtúbulo aumenta VLDL e acumulação de proteínas. (6) O dano celular leva à liberação das enzimas hepáticas alanina-aminotransferase (ALT) e aspartato-aminotransferase (AST).

(ver Figura 25.7, cículo 5). Grandes mudanças na mitocôndria prejudicam a oxidação mitocondrial de acetaldeído e, assim, inicia-se um ciclo de aumento progressivo de danos do acetaldeído.

C. Etanol e Formação de Radicias Livres

O aumento do estresse oxidativo no fígado durante a intoxicação crônica por etanol surge do aumento da produção de radicais livres, principalmente pela CYP2E1. FAD e FMN na redutase e heme no sistema citocromo P450 transferem elétrons desemparelhados (*singlet*), operando, portanto, em mecanismos que podem formar radicais livres. O radical hidroxietil (CH_3CH_2O) é produzido durante o metabolismo do etanol e pode ser liberado como um radical livre. A indução da CYP2E1, assim como de outras enzimas do citocromo P450, pode aumentar a formação de radicais livres a partir do metabolismo de drogas e da ativação de toxina e carcinogênios (ver Figura 25.7, círculo 3). Esses efeitos são realçados pelos danos de aductos de acetaldeído.

O fosfolipídeo, o principal lipídeo da membrana celular, é um alvo primário de peroxidação causada pela liberação de radicais livres. A peroxidação de lipídeos no interior da membrana mitocondrial pode contribuir para a inibição de transporte de elétrons e no desacoplamento da mitocôndria, levando à inflamação e necrose celular. A indução da CYP2E1 e de outros citocromos P450 também aumenta a formação de outros radicais e a ativação de hepatocarcinogenes.

Devido à possibilidade de hepatite alcóolica branda e talvez cirrose crônica induzida por álcool, os médicos ordenaram estudos de função hepática em **Jean Ann Tonich**. Os testes indicaram um nível de alanina-aminotransferase (ALT) de 46 unidades/L (variação de referência = 5 a 30) e de aspartato-aminotransferase (AST) de 98 unidades/L (variação de referência = 10 a 30). A concentração dessa enzima é alta em hepatócitos, e, quando membranas hepatocelulares são danificadas, essas enzimas são liberadas para o sangue. Os níveis séricos de fosfatase alcalina de Jean Ann Tonich eram de 151 unidades/L (variação de referência = 56 a 155 para uma mulher adulta), e os níveis séricos totais de bilirrubina eram de 2,4 mg/dL (variação de referência = 0,2 a 1,0). Esses testes demonstraram prejuízo na capacidade de função normal do fígado. A hemoglobina plasmática e os níveis de hematócritos estavam um pouco abaixo da variação normal, consistente com o efeito tóxico do etanol na produção de células vermelhas do sangue pela medula óssea. Os níveis de folato sérico, vitamina B12 e ferro, também estavam levemente suprimidos. O folato é dependente do fígado para sua ativação e recuperação pela circulação entero-hepática, e a vitamina B12 e o ferro para a síntese de suas proteínas plasmáticas carreadoras. Portanto, **Jean Ann Tonich** demonstra diversas conseqüências dos danos hepáticos.

Na fibrose hepática, a perda da citoarquitetura normal do fígado, incluindo a dos sinusóides, impede o fluxo sangüíneo da veia porta. A pressão aumentada da circulação da veia porta (hipertensão porta) gera uma anastomose capilar (encontrar e unir ou correr um em direção ao outro) e forma uma fina parede venosa dilatada do conduto venoso esofágico conhecida como varizes esofágicas. Quando essa parede arrebenta, ocorre hemorragia no trato gastrintestinal. O sangramento pode ser muito intenso, devido à alta pressão dentro dessas varizes, em adição ao efeito adverso da disfunção hepática em produzir proteínas de coagulação sangüínea.

D. Cirrose Hepática e Perda da Função Hepática

A lesão hepática é irreversível no estágio de desenvolvimento de cirrose hepática. Inicialmente o fígado deve estar aumentado, preenchido de gordura, cruzado com fibras de colágeno (fibroses) e ter nódulos ou hepatócitos regenerados entre as fibras. Como a função hepática está perdida, o fígado torna-se enrugado (*Laennec's cirrhosis*). Durante o desevolvimento da cirrose, muitas das funções metabólicas do fígado estão prejudicadas, incluindo rotas de biossíntese e de detoxicação. A síntese de proteínas sangüíneas, como fatores de coagulação e albumina plasmática, está diminuída. A capacidade de incorporar grupos amino em uréia está diminuída, resultando na acumulação de níveis tóxicos de amônia no sangue. A conjugação e excreção de pigmento amarelado da bilirrubina (um produto da degradação do heme) está decrescida, e, então, a bilirrubina acumula no sangue. Ela se deposita em muitos tecidos, incluindo pele e esclera dos olhos, fazendo com que o paciente torne-se visivelmente amarelado. Por isso, o paciente é chamado de ectérico.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Ivan Applebod. Se o consumo de etanol é baixo (menos de 15% das calorias da dieta), ele é eficientemente utilizado para produzir ATP, contribuindo, assim, para o ganho de peso de **Ivan Applebod**. Contudo, em indivíduos com consumo crônico de altas quantidades de etanol, o conteúdo calórico de etanol não é tão efetivamente convertido em ATP. Alguns dos fatores que podem contribuir para essa eficiência diminuída incluem lesão mitocondrial (inibição da fosforilação oxidativa e acoplamento), resultando em perda de calorias como calor, reciclagem aumentada de metabólitos como corpos cetônicos e inibição das rotas normais da oxidação de ácidos graxos e glicose. Além disso, as pessoas que ingerem bebidas alcoólicas em grande proporção metabolizam uma quantidade aumentada de álcool pelo MEOS, o que produz menos ATP.

Al Martini. **Al Martini** estava sofrendo os efeitos agudos da alta ingestão de etanol na ausência de ingesta de alimentos. Ambas as situações, consumo pesado de etanol e baixa ingesta calórica, aumentam a lipólise do tecido adiposo e elevam os ácidos graxos sangüíneos. Como conseqüência de sua razão hepática de NADH/NAD^+ elevada, a acetil-CoA produzida a partir da oxidação de ácidos graxos foi desviada do ciclo do TCA para a rota da síntese de corpos cetônicos. Devido ao uso de acetato como substrato energético pelos músculos esqueléticos, a utilização de corpos cetônicos estava diminuída, resultando em cetoacidose. O nível de glicose sangüínea moderadamente baixo de **Al Martini** também sugere que seu alto nível hepático de NADH impede o piruvato e o glicerol de entrarem na rota gliconeogênica. O piruvato é desviado para lactato, o qual pode ter contribuído para sua acidose metabólica e intervalo aniônico (*anion gap*).

A reidratação com líquidos intravenosos contendo glicose e potássio foi iniciada. Seu potássio inicial estava baixo, possivelmente secundário aos vômitos. Um cirurgião ortopédico foi consultado a respeito da fratura composta em seu antebraço direito.

Jean Ann Tonich. Os sinais e sintomas de Jean Ann Tonich, bem como seu perfil laboratorial, eram consistentes com a presença de inflamação hepatocelular leve reversível induzida pelo álcool (hepatite induzida pelo álcool) sobreposta a um grau de cicatrização irreversível do tecido hepático conhecida como cirrose alcoólica crônica do fígado (de Laennec). O processo inflamatório crônico associado ao abuso de etanol por longo tempo em pacientes como **Jean Ann Tonich** é acompanhado por aumentos nos níveis de alanina-aminotransferase (ALT) e aspartato-aminotransferase (AST) séricas. A bilirrubina e a fosfatase alcalina elevadas eram consistentes com lesão hepática. Seus valores de ALT e AST estavam significativamente abaixo daqueles vistos em hepatite viral aguda. Além disso, a razão dos valores absolutos de ALT e AST séricas freqüentemente diferem nas duas doenças, com tendência

a ser maior do que 1 na hepatite viral aguda e menor do que 1 na cirrose crônica induzida pelo álcool. O motivo pelo qual existe diferença na razão das atividades das enzimas liberadas não é compreendido, mas um nível mais baixo de ALT no soro pode ser atribuído a uma deficiência de piridoxal-fosfato induzida pelo álcool. Além disso, testes sorológicos para hepatite viral eram não-reativos. Seus níveis séricos de folato, vitamina B12 e ferro também estavam levemente suprimidos, indicando um estado nutricional debilitado.

Jean Ann Tonich foi muito aconselhada a se abster de álcool imediatamente e a melhorar seu estado nutricional. Além disso, Jean Ann foi encaminhada para a unidade de reabilitação do uso de drogas e álcool do hospital para terapia apropriada e aconselhamento social de apoio. O médico também organizou consultas ambulatoriais de seguimento a cada duas semanas.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



Fibrose em Doenças Hepáticas Crônicas Induzidas pelo Álcool. Fibrose é a acumulação excessiva de tecidos conectivos em órgãos parenquimatosos. No fígado, isso é um evento freqüente após um insulto repetitivo ou crônico de intensidade suficiente (como uma intoxicação crônica por etanol ou infecção por um vírus de hepatite) desencadeando uma reação do tipo "cicatrização de ferida". Não considerando esse insulto, os eventos são similares: ocorre uma superprodução de componentes da matriz extracelular, com a tendência a progredir para escleroses, acompanhada por uma alteração degenerativa na composição dos componentes da matriz (Tabela 25.2). Alguns indivíduos (menos do que 20% daqueles consumidores crônicos de álcool) desenvolvem cirrose.

O desenvolvimento de fibrose hepática após o consumo de etanol é relacionado com a estimulação da formação mitogênica de células estrelares (Ito) dentro de miofibroblastos e com a estimulação da produção de colágeno tipo 1 e fibronectina por essas células. As células estrelares são células perissinusoidais alojadas no espaço do conteúdo Disse da membrana basal, como colágenos (colágeno tipo IV) e laminina. Como as células estrelares são ativadas, elas mudam de células em repouso cheias de lipídeos e vitamina A para uma que prolifera, perde seu conteúdo de vitamina A e secreta grande quantidade de conteúdo da matriz extracelular.

Um dos eventos iniciais na ativação e proliferação de células estrelares é a ativação de células de Kupffer, as quais são macrófagos residentes no sinusóide hepático (Figura 25.8). As células de Krupffer são ativadas provavelmente por um produto de

Tabela 25.2 Lesão Hepática

Estado da Lesão	Principais Características
Fibrose: aumento do tecido conjuntivo	
	Acumulação de membranas fibrilar e basal (como colágeno) Aumento de laminina e fibronectina Engrossamento do tecido conjuntivo do septo Capilarização dos sinusóides
Esclerose: envelhecimento do tecido fibrótico	
	Diminuição do ácido hialurônico e proteoglicanos sulfato de heparan Aumento de proteoglicanos sulfato de condroitina Fragmentação progressiva e desaparecimento de fibras elásticas Distorção da arquitetura sinusoidal e do dano parenquimatoso
Cirrose: estágio final do processo de degeneração fibrótica do fígado	
	Fígado bastante deformado por espessas bandas de colágeno em torno dos nódulos dos hepatócitos com sítios de regeneração



Embora diversas doenças induzidas pelo álcool possam estar presentes em um indivíduo bem-nutrido, a deficiência na nutrição realça a progressão da doença. A ingestão de etanol reduz a absorção gastrintestinal de alimentos contendo nutrientes essenciais, incluindo vitaminas, ácidos graxos essenciais e aminoácidos essenciais. Por exemplo, o etanol interfere na absorção de folato, tiamina e outros nutrientes; a má absorção secundária pode ocorrer por meio de complicações gastrintestinais, insuficiência pancreática e lesão no metabolismo hepático ou no armazenamento hepático de nutrientes, como a vitamina A, e mudanças no nível de proteínas transportadoras produzidas pelo fígado também afetam muito o estado de nutrientes.

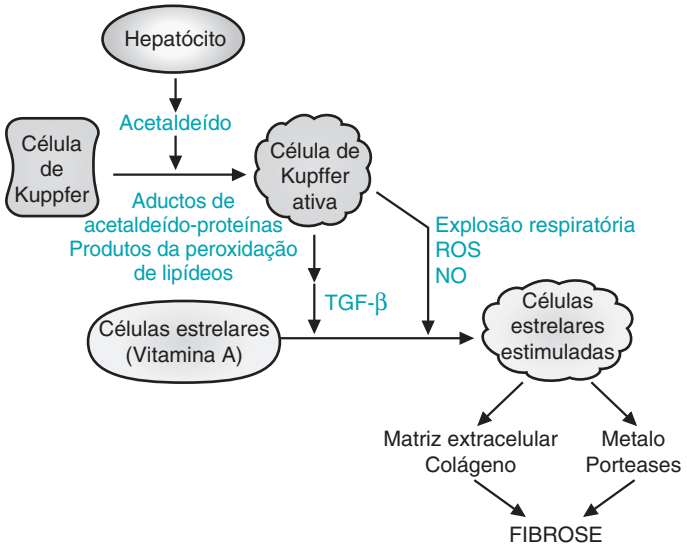


Figura 25.8 Modelo proposto para o desenvolvimento de fibrose hepática envolvendo hepatócitos, células de Kupffer e células estrelares (Ito). ROS, espécie reativa de oxigênio; NO, óxido nítrico; TGF-β1, fator transformador de crescimento β1.

hepatócitos danificados, tais como fragmentos necróticos, ferro, ROS, acetaldeído ou aldeídos produzidos pela peroxidação lipídica. Elas podem, também, produzir acetaldeído do etanol internamente, através de suas próprias rotas de MEOS.

As células de Kupffer ativadas produzem um número de produtos que contribui para a ativação de células estrelares. Elas geram ROS adicionais por meio de NADPH-oxidase durante a explosão oxidativa e NOS por meio da indução da NO sintetase (ver Capítulo 24). Além disso, elas secretam uma expressiva quantidade de fatores de crescimento, como citocinas, prostaglandinas e outras moléculas reativas. A citocina, fator transformador de crescimento β1 (TGFβ1), produzida tanto pelas células de Kupffer como pelas células endoteliais dos sinusóides, é a maior ativadora das células estrelares hepáticas (*ito cells*). Uma vez ativadas, essas células produzem colágeno e proteases, estimulando o aumento da rede fibrótica no fígado.

Citocinas são proteínas produzidas por células inflamatórias que servem como comunicadores com outras células, e quimiocinas são proteínas ainda menores produzidas por células inflamatórias que promovem a migração de outras células inflamatórias (p. ex., do sangue para dentro do sítio de lesão).

Leituras Sugeridas

Lieber CS. Medical disorders of alcoholism. New England J Med 1995;33:1058-1065.

Lieber CS. Cytochrome P-4502E1: Its physiological and pathological role. Physiol Rev 1997;77:517-544.

Mezey E. Metabolic effects of alcohol. Fed Proc 1985;44:134-138.

Poli G. Pathogenesis of liver fibrosis: Role of oxidative stress. Mol Aspects Med 2000;21:49-98.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 25

1. Qual das seguintes alternativas descreve o destino do acetato, o produto do metabolismo do etanol?

   (A) É capturado por outros tecidos e ativado para acetil-CoA.
   (B) É tóxico para os tecidos do corpo e pode levar à necrose hepática.
   (C) É excretado pela bile.
   (D) Entra no ciclo TCA diretamente para ser oxidado.
   (E) É convertido a NADH pela álcool-desidrogenase.

2. Qual das seguintes afirmações espera-se que ocorra após a ingestão aguda de álcool?

   (A) Ativação da oxidação de ácidos graxos.

(B) Acidose láctica.
(C) Inibição de cetogênese.
(D) Um aumento na proporção de NAD^+/NADH.
(E) Um aumento na gliconeogênese.

3. Um alcoólatra crônico está em tratamento para o uso abusivo de álcool. O fármaco dissulfiram é prescrito para o paciente. Esse fármaco detem o consumo de álcool por qual dos seguintes mecanismos?

(A) Inibição da absorção do etanol, de tal modo que um indivíduo não pode se tornar intoxicado sem se considerar o quanto ele bebe.
(B) Inibição da conversão de etanol em acetaldeído, que pode causar a excreção de etanol não-metabolizado.
(C) Bloqueio da conversão de acetaldeído em acetato, o que causa o acúmulo de acetaldeído.
(D) Excessiva ativação do metabolismo do etanol a acetato, que causa embriaguez com o consumo de pequena quantidade de álcool.
(E) Prevenção da excreção de acetato, que causa náusea e vômito.

4. A indução da CYP2E1 pode resultar em qual das seguintes afirmativas?

(A) Uma diminuição da depuração de etanol do sangue.
(B) Uma diminuição na taxa de produção de acetaldeído.
(C) Uma baixa possibilidade de formar radicais livres.
(D) Proteção de danos hepáticos.
(E) Um aumento do nível de tolerância do indivíduo pelo álcool

5. Qual das seguintes conseqüências do consumo crônico do álcool é irreversível?

(A) Inibição da oxidação de ácidos graxos
(B) Ativação da síntese de triacilglicerol
(C) Cetoacidose
(D) Acidose láctica
(E) Cirrose hepática

Esta página foi deixada em branco intencionalmente,

Metabolismo de Carboidratos

A glicose desempenha um papel central em todos os metabolismos. Ela é o substrato energético universal para células humanas e a fonte de carbono para a síntese de muitos outros compostos. Todos os tipos de células humanas a utilizam para obter energia. A excreção de insulina e glucagon pelo pâncreas auxilia o uso e o armazenamento da glicose pelo organismo. Outros carboidratos da dieta (principalmente frutose e galactose) são convertidos em glicose ou em intermediários do metabolismo da glicose.

A glicose é um precursor para a síntese de uma série de outros carboidratos requeridos para a produção de compostos especializados, como a lactose, antígenos da superfície das células, nucleotídeos ou glicosaminoglicanos, e é o precursor fundamental de compostos que não pertencem à classe dos carboidratos; ela pode ser convertida em lipídeo (incluindo ácidos graxos, colesterol e hormônio esteróide), aminoácidos e ácidos nucleicos. Em humanos, somente aqueles compostos que são sintetizados a partir de vitaminas, aminoácidos essenciais e ácidos graxos essenciais não podem ser sintetizados a partir da glicose.

Mais de 40% das calorias na dieta típica nos Estados Unidos são obtidos do amido, da sacarose e da lactose. Esses carboidratos da dieta são convertidos em glicose, galactose e frutose no trato digestivo (Figura 1). Os monossacarídeos são absorvidos pelo intestino, entram no sangue e são distribuídos aos tecidos onde são metabolizados.

Após a glicose ser transportada para dentro das células, ela é fosforilada pela hexocinase para formar glicose-6-fosfato, a qual pode, então, entrar em diversas rotas metabólicas. As três rotas que são comuns a todos os tipos de células são a glicólise, a rota da pentose-fosfato e a síntese de glicogênio (Figura 2). Nos tecidos, a frutose e a galactose são convertidas em intermediários do metabolismo da glicose. Dessa forma, o destino desses monossacarídeos equipara-se ao da glicose (Figura 3).

O principal destino da glicose-6-fosfato é a oxidação via rota de glicólise (ver Capítulo 22), que promove uma porção de ATP para todos os tipos de células. Células que não possuem mitocôndria não podem oxidar outros substratos energéticos, elas produzem ATP a partir da glicólise anaeróbica (a conversão de glicose em ácido láctico). As que contêm mitocôndria oxidam glicose a CO_2 e H_2O via glicólise e ciclo

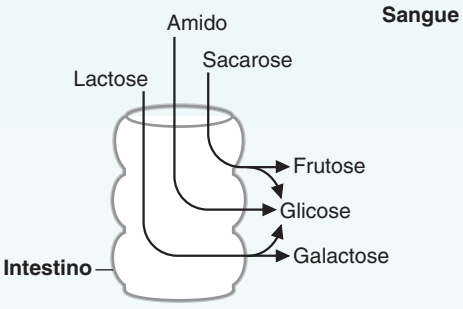


Figura 1 Revisão da digestão de carboidratos. Os principais carboidratos da dieta (amido, lactose e sacarose) são digeridos para produzir monossacarídeos (glicose, frutose e galactose), os quais passam para o sangue.

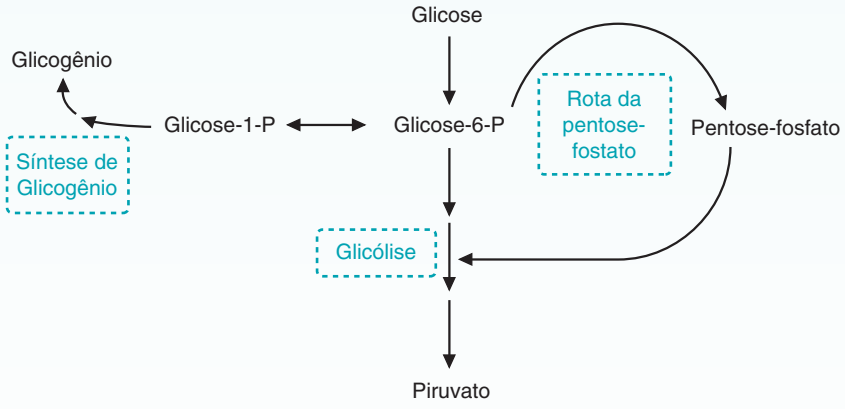


Figura 2 Principais rotas do metabolismo da glicose.

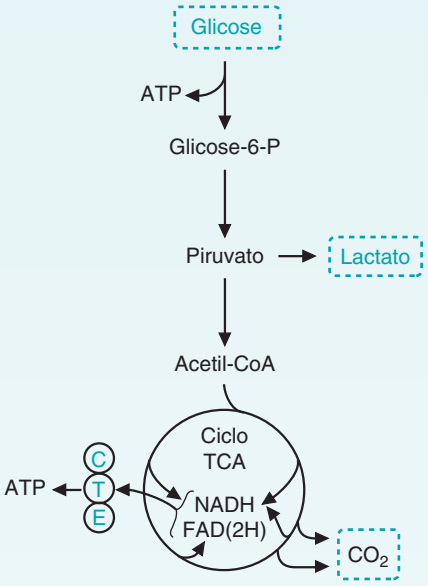


Figura 4 Conversão de glicose em lactato ou em CO_2. CTE = cadeia de transporte de elétrons.

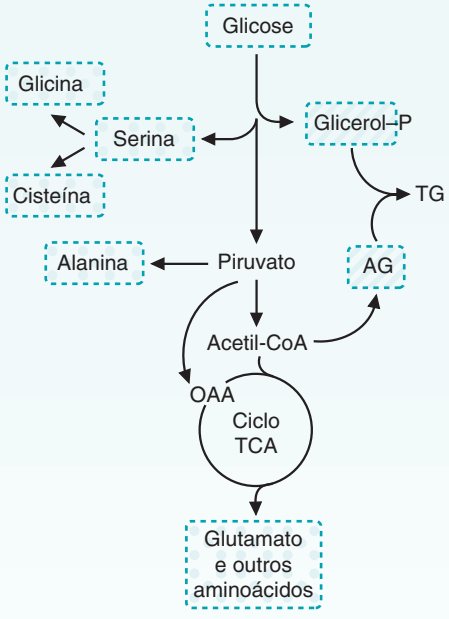


Figura 5 Conversão de glicose em aminoácidos e em glicerol e ácidos graxos (AG) constituintes dos triacilgliceróis (TG). OAA = oxaloacetato.

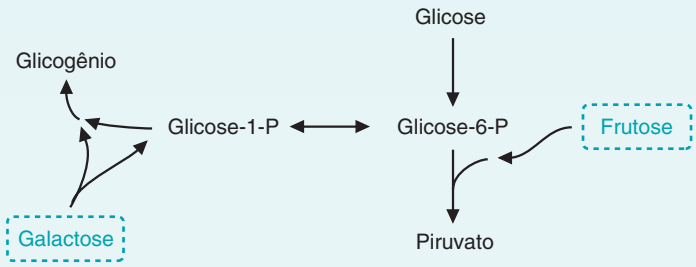


Figura 3 Revisão do metabolismo da frutose e da galactose. Frutose e galactose são convertidas em intermediários do metabolismo da glicose.

TCA (Figura 4). Alguns tecidos, como o cérebro, dependem da oxidação da glicose em CO_2 e H_2O a energia, porque eles têm uma capacidade limitada para utilizar outros substratos energéticos.

A glicose produz os intermediários da glicólise e do ciclo TCA utilizados para a síntese de aminoácidos e o glicerol e os ácidos graxos constituintes dos triacilgliceróis (Figura 5).

Outro importante destino da glicose-6-fosfato é a oxidação via rota da pentose-fosfato, que produz NADPH. Os equivalentes redutores de NADPH são usados para reações biossintéticas e para a prevenção de danos oxidativos das células (ver Capítulo 24). Nessa rota, a glicose é oxidativamente descarboxilada a monossacarídeos com 5 carbonos (pentoses), os quais podem reentrar na via glicolítica e, também, ser usados para a síntese de nucleotídeos. Existem também reações não-oxidativas, as quais provocam a interconversão de monossacarídeos com 6 e 5 carbonos.

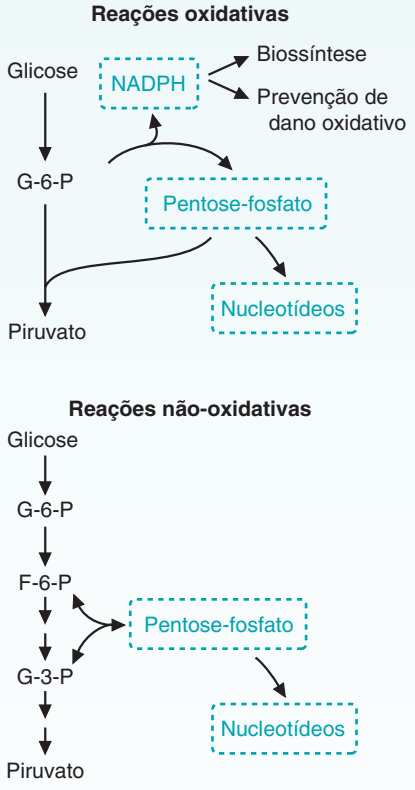


Figura 6 Revisão da rota da pentose-fosfato. Reações de oxidação geram tanto NADPH quanto pentose-fosfato. Reações não-oxidativas geram apenas pentose-fosfato.

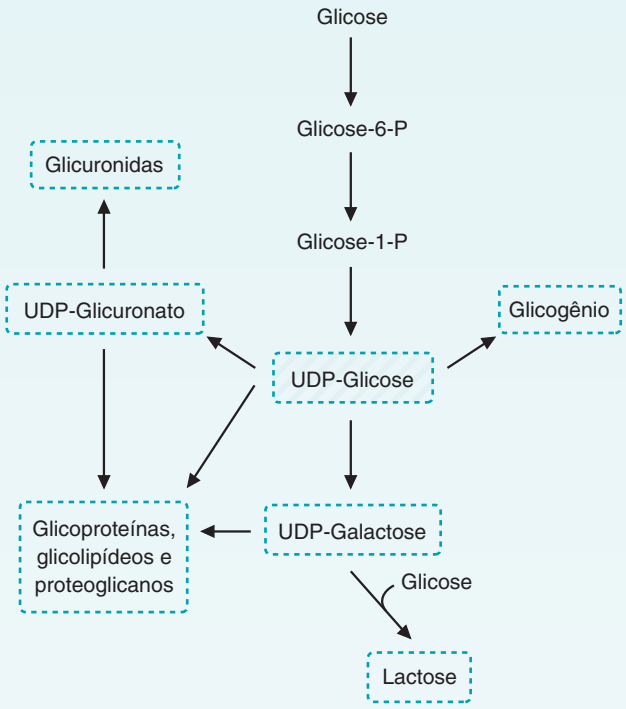


Figura 7 Produtos derivados da glicose-UDP.

A glicose-6-fosfato também é convertida em UDP-glicose, a qual possui várias funções na célula (Figura 7). O principal destino da UDP-glicose é a síntese de glicogênio, o armazenamento de polímeros de glicose. Embora a maioria das células possua glicogênio para suprir uma falta emergencial de glicose, os maiores estoques estão no músculo e no fígado. O glicogênio muscular é utilizado para gerar ATP durante a contração muscular, e o hepático é utilizado para manter a glicose sangüínea durante o estado de jejum e durante exercícios ou períodos de intensa necessidade. A UDP-glicose também é utilizada para a formação de outros carboidratos, e galactose e glicose são interconvertidas quando ligadas à UDP. Nas glândulas mamárias, ela é usada para a síntese de lactose; no fígado, é oxidada a UDP-glicuronato, o qual é usado para converter bilirrubina e outros compostos tóxicos em glicuronídeos para excreção (ver Figura 7).

Os carboidratos ligados a nucleotídeos são também utilizados para a síntese de proteoglicanos, glicoproteínas e glicolipídeos (ver Figura 7). Os proteoglicanos são os principais componentes carboidratos da matriz extracelular, das cartilagens e dos fluidos extracelulares (como o fluido sinovial das articulações) e são discutidos com mais detalhes no Capítulo 49. A maioria das proteínas extracelulares são glicoproteínas, isto é, elas possuem ligações covalentes com carboidratos. Para ambas as células de membrana, glicoproteínas e glicolipídeos, a porção de carboidrato se estende pelo espaço extracelular.

Todas as células são continuamente supridas com glicose em circunstâncias normais; o organismo mantém uma porção relativamente estreita de concentração de glicose no sangue (aproximadamente 80 a 100 mg/dL), apesar de mudanças no suplemento alimentar e demanda de tecidos como ao dormir ou se exercitar. Esse processo é chamado de homeostase de glicose. Baixos níveis de glicose sangüínea (hipoglicemia) são prevenidos pela liberação de glicose a partir da grande quantidade de glicogênio armazenada no fígado (glicogenólise), pela síntese de glicose por meio de lactato, glicerol e aminoácidos no fígado (gliconeogênese) (Figura 8) e por uma porção limitada pela quebra de ácidos graxos armazenados em tecidos adiposos (lipólise) para prover uma fonte alternativa de substrato energético quando o suplemento de glicose é baixo. Altos níveis de glicose sangüínea (hiperglicemia) são prevenidos por conversão de

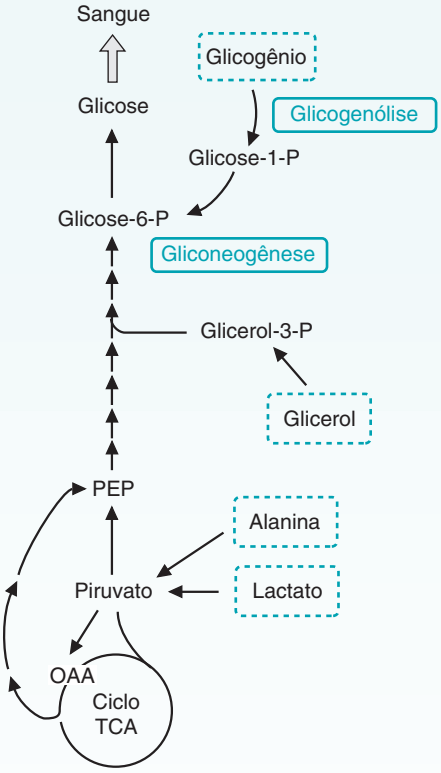


Figura 8 Produção de glicose sangüínea a partir de glicogênio (por glicogenólise) e a partir de alanina, lactato e glicerol (por gliconeogênese). PEP = fosfoenolpiruvato; OAA = oxaloacetato.

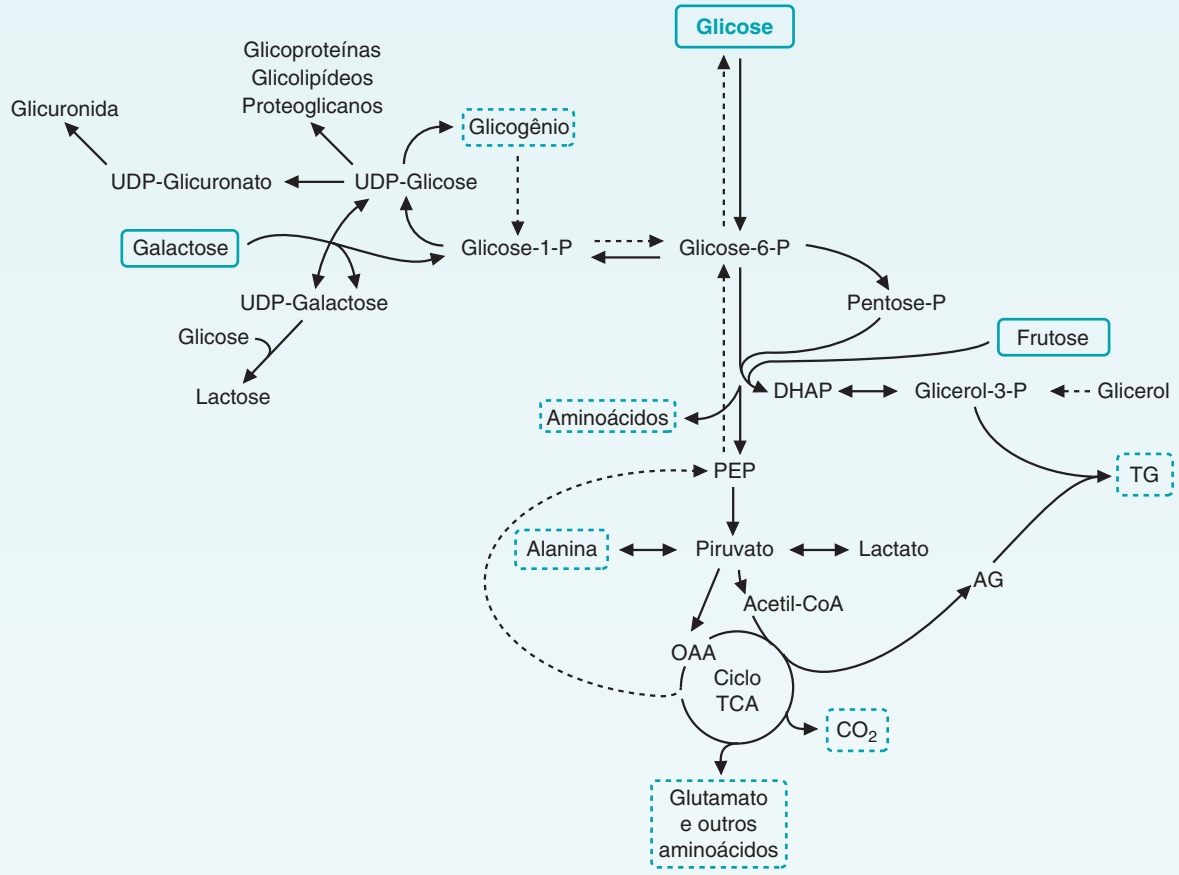


Figura 9 Revisão das principais rotas do metabolismo da glicose. As rotas da produção de glicose sangüínea são apresentadas pelas linhas pontilhadas. AG = ácidos graxos; TG = triacilgliceróis; OAA = oxaloacetato; PEP = Fosfoenolpiruvato; UDP-G = UDP-Glicose; DHAP = diidroxiacetato fosfato.

glicose em glicogênio e por sua conversão em triacilgliceróis no fígado e nos tecidos adiposos. Dessa forma, as rotas para utilização de glicose como fonte energética não podem ser consideradas como totalmente separadas de rotas envolvendo o metabolismo de aminoácidos e ácidos graxos (Figura 9).

O balanço intertecidual na utilização e no armazenamento de glicose durante estado de jejum e estado alimentado é acompanhado principalmente pela ação de hormônios da homeostase metabólica – insulina e glucagon (Figura 10) –, embora cortisol, epinefrina, norepinefrina e outros hormônios estejam também envolvidos no ajuste intertecidual de suplemento e demanda em resposta a mudanças no estado fisiológico.

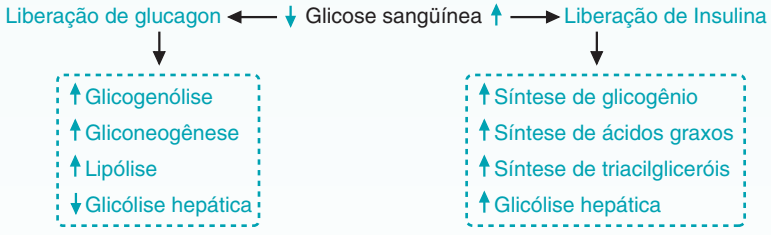


Figura 10 Rotas reguladas pela liberação de glucagon (em resposta ao baixo nível de glicose sangüínea) e insulina (liberada em resposta à elevação dos níveis de glicose sangüínea). Diferenças teciduais específicas ocorrem em resposta a esses hormônios, como detalhado nos capítulos subseqüentes dessa seção.

26 Conceitos Básicos na Regulação do Metabolismo de Substratos Energéticos por Insulina, Glucagon e Outros Hormônios

Todas as células utilizam freqüentemente trifosfato de adenosina (ATP) e requerem um constante suplemento de substrato energético para prover energia para geração de ATP. A ***insulina*** *e o* ***glucagon*** *são os dois principais hormônios que regulam a mobilização e o armazenamento desse substrato energético. A função deles é assegurar que as células tenham uma constante fonte de glicose, ácidos graxos e aminoácidos para geração de ATP e para manutenção da célula (Figura 26.1).*

Devido ao fato de a maioria dos tecidos ser parcial ou totalmente dependente de glicose para geração de ATP e para produção de precursores de outras rotas metabólicas, a insulina e o glucagon ***mantêm a concentração sangüínea de glicose*** *entre cerca de 80 a 100 mg/dL (90 mg/dL é o mesmo que 5 mM), embora o consumo de carboidrato varie consideravelmente durante o curso do dia. A manutenção da concentração sangüínea de glicose constante (****glicose homeostase****) requer que esses dois hormônios regulem o* ***metabolismo de carboidratos****,* ***lipídeos*** *e* ***aminoácidos*** *de acordo com as necessidades e capacidades próprias de cada tecido. Basicamente, os componentes da dieta são, com exceção daqueles com necessidade imediata, armazenados, e, quando ocorre a demanda, o substrato energético apropriado é mobilizado. Por exemplo, quando o consumo de glicose pela dieta não está disponível em quantidade suficiente para que todos os tecidos a utilizem, ácidos graxos são mobilizados e tornam-se disponíveis como substrato energético para serem utilizados pelo músculo esquelético (ver Capítulos 2 e 23), e o fígado pode convertê-los em corpos cetônicos a serem utilizados pelo cérebro. Ácidos graxos são fontes de reserva de glicose a ser utilizada pelo cérebro e por outros tecidos dependentes de glicose (como as células vermelhas do sangue).*

A concentração de insulina e glucagon no sangue regula a mobilização e o armazenamento de substrato energético (Figura 26.2). A insulina é liberada em resposta à ingestão de carboidratos, promove a utilização de glicose como substrato energético e seu armazenamento como gordura e glicogênio. ***Ela é também, o principal hormônio anabólico do organismo.*** *Além disso, promove o aumento da síntese de proteínas e o crescimento celular, em adição ao armazenamento de substrato energético. A concentração de insulina sangüínea diminui quando a glicose é captada pelos tecidos e é utilizada. O glucagon, o principal* ***hormônio contra-regulatório*** *da insulina, está diminuído em resposta a uma refeição com carboidratos e tem sua concentração elevada no jejum. Sua concentração no sangue sinaliza a abstinência da glicose e promove a produção de glicose via* ***glicogenólise*** *(degradação do glicogênio) e* ***gliconeogênese*** *(síntese de glicose a partir do aminoácido e de outros precursores não-carboidratos). O aumento da concentração de glucagon em relação a insulina também estimula a* ***mobilização dos ácidos graxos*** *dos tecidos adiposos. A* ***epinefrina*** *(hormônio de fuga ou luta) e o cortisol (um glicocorticóide liberado do córtex adrenal em resposta ao jejum ou estresse crônico) têm efeitos opostos aos da insulina no metabolismo de substratos energéticos. Esses dois hormônios são, portanto, também considerados hormônios contra-regulatórios da insulina.*

A insulina e o glucagon são hormônios polipeptídeos sintetizados como pró-hormônios nas células β e α, respectivamente, nas ilhotas de Langerhans no pâncreas.

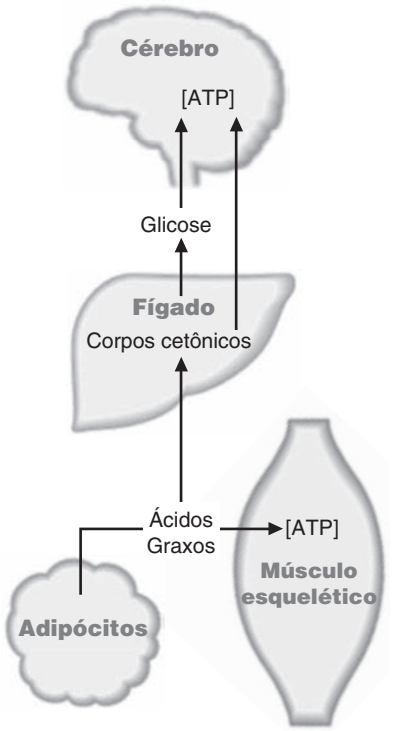


Figura 26.1 Manutenção do suplemento de substrato energético para os tecidos. Mostra como o glucagon libera a atividade das rotas metabólicas.



Figura 26.2 Insulina e hormônios contra-regulatórios de insulina. (A) A insulina promove armazenamento de glicose, como triglicerídeo ou glicogênio. (B) Glucagon, epinefrina e cortisol promovem a liberação de glicose a partir do fígado, a ativação de glicogenólise e gliconeogênese.

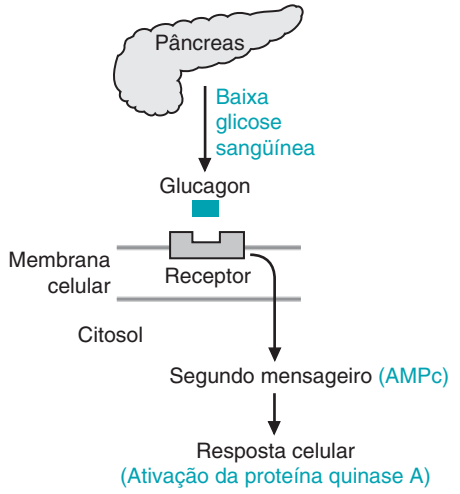


Figura 26.3 Resposta celular ao glucagon, o qual é liberado a partir do pâncreas em resposta à diminuição dos níveis sangüíneos de glicose.

*A **pró-insulina** é clivada liberando insulina madura e **peptídeo C** nas vesículas e precipitada com Zn^{2+}. A secreção de insulina é regulada principalmente pelo nível de glicose no sangue. O glucagon também é sintetizado como um pró-hormônio e clivado a glucagon maduro, o qual é armazenado nas vesículas. Sua liberação é regulada principalmente por meio da supressão por glicose e insulina.*

*O glucagon exerce seu efeito nas células por ligar-se a um receptor na membrana celular, estimulando a síntese intracelular de segundo mensageiro, o monofosfato de adenosina cíclico (**AMPc**) (Figura 26.3). O AMPc ativa a **proteína cinase A**, a qual fosforila enzimas regulatórias-chave, ativando algumas e inibindo outras. Mudanças na concentração de AMPc também induzem ou reprimem a síntese de um número de enzimas. A insulina promove a desfosforilação dessas enzimas-chave.*

*A insulina liga-se a seus receptores na membrana celular, mas os eventos pós-receptores que seguem diferem daqueles estimulados pelo glucagon. A ligação da insulina ativa a autofosforilação do receptor e a fosforilação de outras enzimas pelo domínio dos receptores de **tirosina cinase** (ver Capítulo 11, seção III.B.3). As rotas completas de **transdução dos sinais** entre esses pontos e os efeitos finais da insulina nas enzimas regulatórias do metabolismo de substratos energéticos ainda não foram completamente estabelecidas.*

SALA DE ESPERA

Ann Sulin retornou para seu médico para sua consulta mensal. Ela tem consultado há um ano por causa de obesidade e níveis de glicose sangüínea elevados. Ela ainda pesava 89,81 kg, apesar de insistir que tem aderido estritamente à dieta. Seu nível de glicose sangüínea no momento da consulta, duas horas após o almoço, era 180 mg/dL (valores de referência = 80 a 140).

Bea Selmass é uma mulher de 46 anos que há seis meses começou a observar episódios de fadiga e confusão quando terminava sua corrida diária antes do café da manhã. Esses episódios eram ocasionalmente acompanhados de visão turva e fome excessiva incomum. A ingestão de alimento aliviava todos seus sintomas dentro de 25 a 30 minutos. No último mês, esses ataques têm ocorrido mais freqüentemente durante o dia, e ela aprendeu a diminuir sua ocorrência se alimentando entre as refeições. Como resultado, recentemente ela ganhou 3,62 kg.

Um nível de glicose sangüínea em amostra aleatória feito às 16h30min, durante sua primeira consulta, foi 46 mg/dL, abaixo do normal. Seu médico, suspeitando que ela tinha uma forma de hipoglicemia de jejum, solicitou uma série de dosagens de níveis de glicose sangüínea de jejum. Além disso, ele solicitou que Bea mantivesse um controle diário cuidadoso de todos os sintomas apresentados quando os ataques fossem mais graves.

I. HOMEOSTASE METABÓLICA

As células requerem para sua sobrevivência uma constante fonte de energia proveniente do ATP para a manutenção de suas funções normais e seu crescimento. Dessa forma, deve ser alcançado um equilíbrio entre o consumo de carboidratos, gorduras e proteínas e o armazenamento dessas substâncias quando presentes em quantidades excedentes à necessidade imediata e sua metabolização e síntese quando houver demanda. O balanço entre a necessidade e a disponibilidade é requerido para a homeostase metabólica (Figura 26.4). A integração intertecidual, requerida para a homeostase metabólica, é realizada de três formas principais:

- A concentração de nutrientes ou metabólitos no sangue afeta a taxa em que eles são utilizados ou armazenados nos diferentes tecidos;

- Hormônios levam mensagens a tecidos individuais sobre o estado fisiológico do organismo e a demanda ou o suprimento de nutrientes;
- O sistema nervoso central utiliza sinais neurais para controlar o metabolismo dos tecidos, diretamente ou por meio da liberação de hormônios.

A insulina e o glucagon são os dois principais hormônios que regulam o armazenamento ou a mobilização de substratos energéticos (ver Figura 26.2). A insulina é o principal hormônio anabólico do organismo, ela promove o armazenamento de substrato energético e sua utilização para o crescimento. O glucagon é o principal hormônio de mobilização de substratos energéticos. Outros hormônios, como a epinefrina, são liberados como resposta do sistema nervoso central à hipoglicemia, a exercícios ou a outro tipo de estresse fisiológico. A epinefrina ou outros hormônios do estresse também aumentam a disponibilidade de substrato energético (Figura 26.5).

A principal função da glicose na homeostase metabólica é destacada pelo fato de muitos tecidos (p. ex., o cérebro, as células vermelhas do sangue, o cristalino do olho e algumas células renais [camada medular dos rins], músculo esquelético em exercício) serem dependentes da glicólise para toda ou para uma porção de sua necessidade energética e requererem acesso ininterrupto de glicose em uma base de segundo-a-segundo para encontrar sua rápida taxa de utilização de ATP. No adulto, um mínimo de 190 g de glicose é requerido por dia, aproximadamente 150 g para o cérebro e 40 g para os outros tecidos. Um decréscimo significativo na glicemia sangüínea, abaixo de 60 mg/dL, limita o metabolismo de glicose no cérebro e promove os sintomas de hipoglicemia (como experimentado por **Bea Selmass**), provavelmente porque todos os processos de fluxo da glicose através da barreira hematencefálica, dentro do fluido intersticial e, conseqüentemente, dentro da célula neuronal, são lentos quando os níveis de glicose no sangue estão baixos por causa do valor de K_m que os transportadores de glicose requerem para isso ocorrer (ver Capítulo 27).

O movimento contínuo dos substratos energéticos para dentro e para fora dos depósitos de armazenamento é exigido em função da alta quantidade requerida em cada dia para alcançar o nível necessário de ATP. Resultados desastrosos podem ocorrer se mesmo por um dia o suplemento de glicose, aminoácidos e ácido graxos não circular no sangue. A glicose e os aminoácidos podem estar em concentrações tão altas que o efeito hiperosmolar pode causar progressivamente severos déficits neurológicos e até mesmo coma. Se a concentração de glicose e aminoácidos estiver acima do limiar tubular renal para essas substâncias (a concentração máxima no sangue em que os rins

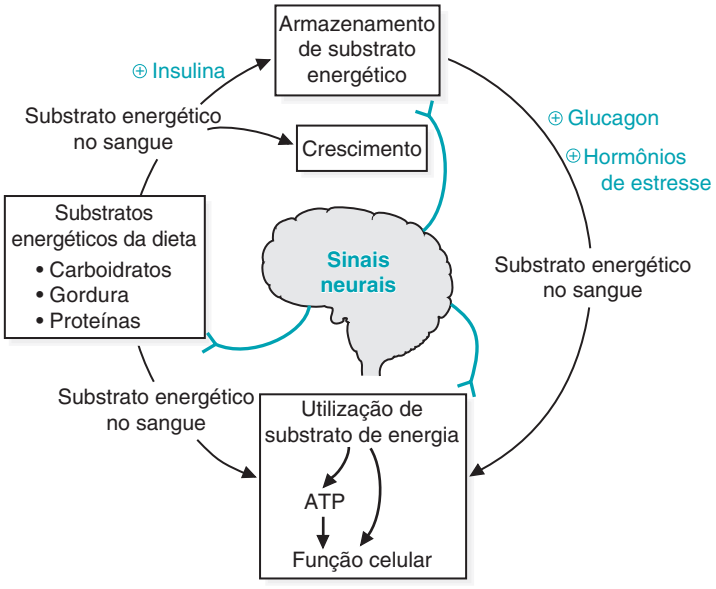


Figura 26.5 Sinais que regulam a homeostase metabólica. Os principais hormônios do estresse são epinefrina e cortisol.

Os ácidos graxos são um exemplo da influência que os níveis de compostos no sangue têm sobre a sua própria taxa de metabolismo. A concentração de ácidos graxos no sangue é o principal fator determinante de quando o músculo esquelético irá utilizar ácidos graxos ou glicose como fonte energética (ver Capítulo 23). De forma oposta, os hormônios são (por definição) carregadores de mensagens entre os tecidos. A insulina e o glucagon, por exemplo, são dois hormônios mensageiros que participam da regulação da fonte de metabolismo por carregarem mensagens que refletem o tempo e a composição de combustível ingerido na dieta. A epinefrina, entretanto, é um hormônio "fuga ou luta" que sinaliza uma imediata necessidade de aumento de substrato energético disponível. Seu nível é regulado principalmente por meio da ativação do sistema nervoso simpático.

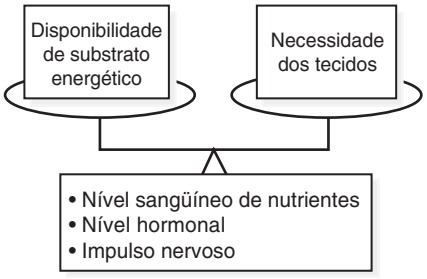


Figura 26.4 Homeostase metabólica. O balanço entre a disponibilidade de substrato energético e a necessidade dos tecidos por diferentes fontes de energia é ativado por três tipos de mensagens: o nível de substrato energético e nutrientes no sangue, o nível de um dos hormônios da homeostase metabólica ou impulsos nervosos que afetam o metabolismo tecidual ou a liberação dos hormônios.

A hiperglicemia pode causar uma grande variedade de sintomas, como poliúria e, subseqüentemente, polidipsia (aumento da sede). A inabilidade de mover a glicose para o interior da célula requer a oxidação de lipídeos como uma fonte de energia alternativa. Como conseqüência, as reservas energéticas armazenadas no tecido adiposo são utilizadas, e o paciente com diabetes melito pouco controlado perde peso mesmo que apresente bom apetite. Níveis extremamente altos de glicose sérica podem causar coma hiperosmolar não-cetótico em pacientes com diabetes tipo 2. Tais pacientes em geral apresentam insulina suficiente responsável por bloquear a liberação de ácidos graxos e a formação de corpos cetônicos, mas não para estimular significativamente a entrada de glicose para o interior dos tecidos periféricos. Níveis muito elevados de glicose no sangue comparados com o do interior da célula levam a um efeito osmótico que faz com que a água saia do interior da célula e vá para o sangue. Devido ao efeito osmótico diurético da hiperglicemia, os rins produzem mais urina, levando à desidratação, que pode refletir em um aumento da glicose sangüínea. Se a desidratação se tornar grave, posteriormente ocorre uma disfunção cerebral que pode levar o paciente a um estado comatoso. A hiperglicemia crônica também pode produzir efeitos patológicos por meio da glicosilação não-enzimática de diversas proteínas. A hemoglobina A (HbA), uma das proteínas que começa a ser glicosilada, forma HbA_{1C} (ver Capítulo 7). Os altos níveis de HbA_{1C} de **Ann Sulin** (14% do total de HbA, comparado com a referência que varia de 4,7 a 6,4%) indicam que sua glicose sangüínea tem estado significativamente elevada durante as últimas 12 a 14 semanas, a meia-vida da hemoglobina na corrente sangüínea.

Todas as membranas e as proteínas séricas expostas a altos níveis de glicose no sangue ou no fluido intersticial são candidatas a glicosilação não-enzimática. Esse processo distorce a estrutura protéica e diminui a degradação da proteína, o que leva a uma acumulação desses produtos em vários órgãos, alterando, portanto, suas funções. Tais efeitos contribuem, em longo prazo, para complicações micro e macrovasculares do diabetes melito, as quais incluem retinopatia, nefropatia e neuropatia (microvascular) diabética, além de insuficiência arterial coronariana, cerebral e periférica (macrovascular).

Os triacilgliceróis circulantes em lipoproteínas que possuem colesterol e os níveis de lipoproteínas podem ser cronicamente elevados, aumentando a probabilidade de doenças vasculares ateroscleróticas. Conseqüentemente, a glicose e outros substratos energéticos são continuamente transportados para dentro e para fora dos depósitos de armazenamento, conforme o necessário.

podem reabsorver metabólitos), alguns componentes podem ser desperdiçados pela urina. A glicosilação não-enzimática de proteínas pode aumentar em altas concentrações de glicose no sangue.

I. PRINCIPAIS HORMÔNIOS DA HOMEOSTASE METABÓLICA

Os hormônios que contribuem para a homeostase metabólica respondem a mudanças nos níveis circulantes de substratos energéticos, que, em parte, são determinados pelo tempo e pela composição da dieta. A insulina e o glucagon são considerados os principais hormônios da homeostase metabólica, pois eles se modificam continuamente, em resposta ao padrão de alimentação diária. Eles são um bom exemplo dos conceitos básicos da regulação hormonal. Certas características da liberação e da ação de outros hormônios contra-regulatórios da insulina, como a epinefrina e o cortisol, serão descritas e comparadas com insulina e glucagon.

A insulina é o principal hormônio anabólico que promove o armazenamento dos nutrientes: armazenamento de glicose como glicogênio no fígado e no músculo, conversão de glicose em triacilgliceróis no fígado e seu armazenamento nos tecidos adiposos e captação de aminoácidos e a síntese de proteínas no músculo esquelético (Figura 26.6). Ela também aumenta a síntese de albumina e outras proteínas plasmáticas pelo fígado e promove a utilização de glicose como um substrato energético, estimulando seu transporte para dentro do músculo e do tecido adiposo. Ao mesmo tempo, a insulina atua inibindo a mobilização dos substratos energéticos.

O glucagon mantém a disponibilidade dos substratos energéticos na ausência de glicose da dieta por estimular a liberação de glicose a partir do glicogênio hepático (ver Capítulo 28), a gliconeogênese a partir de lactato, glicerol e aminoácidos (ver Capítulo 31) e, associado à diminuição da insulina, por mobilizar ácidos graxos a partir dos triacilgliceróis do tecido adiposo, promovendo uma origem alternativa de fontes de energia (ver Capítulo 23 e Figura 26.7). Seus sítios de ação são principalmente o fígado e os tecidos adiposos; ele não tem influência no metabolismo do músculo esquelético, pois as células do músculo não possuem receptores de glucagon.

A liberação de insulina a partir das células β-pancreáticas é acionada primeiramente pelo nível de glicose sangüínea. O maior nível de insulina ocorre aproximadamente 30 a 45 minutos após uma alimentação rica em carboidratos (Figura 26.8) e retorna aos níveis basais quando a glicemia sangüínea diminui, cerca de 120 minutos após a refeição. A liberação de glucagon a partir das células α-pancreáticas, ao contrário, é controlada principalmente por meio da supressão de glicose e insulina. Assim, o menor nível de glucagon ocorre após uma refeição rica em carboidratos. Devido ao fato de todos os efeitos do glucagon serem opostos aos da insulina, o estímulo simultâneo da liberação de insulina e da supressão da secreção de glucagon pela alimentação rica em carboidratos promove um controle integrado do metabolismo de carboidratos, gorduras e proteínas.

Estudos realizados na paciente **Bea Selmass** confirmaram que os níveis séricos de glicose em jejum estavam abaixo do normal. Ela continuou apresentando fadiga, confusão e visão embaralhada, sintomas que havia descrito na sua primeira consulta, os quais são chamados de neuroglicopênicos (sintomas neurológicos resultantes de um suplemento inadequado de glicose no cérebro para formação de ATP).

Bea também notava sintomas que são parte da resposta adrenérgica ao estresse hipoglicêmico. A estimulação do sistema nervoso simpático (porque o baixo nível de glicose alcança o cérebro) resulta na liberação de epinefrina, um hormônio do estresse, a partir da medula adrenal. Níveis elevados de epinefrina causam taquicardia, palpitação, ansiedade, tremores, palidez e suor.

Em adição aos sintomas descritos por **Bea Selmass**, podem ser observados confusão, tontura, dor de cabeça, comportamento bizarro, visão embaralhada, perda de consciência ou apreensão.

O médico da Srta. Selmass explicou que o diagnóstico geral de hipoglicemia de jejum estava estabelecido e que uma causa específica para esse distúrbio deve ser descoberto.

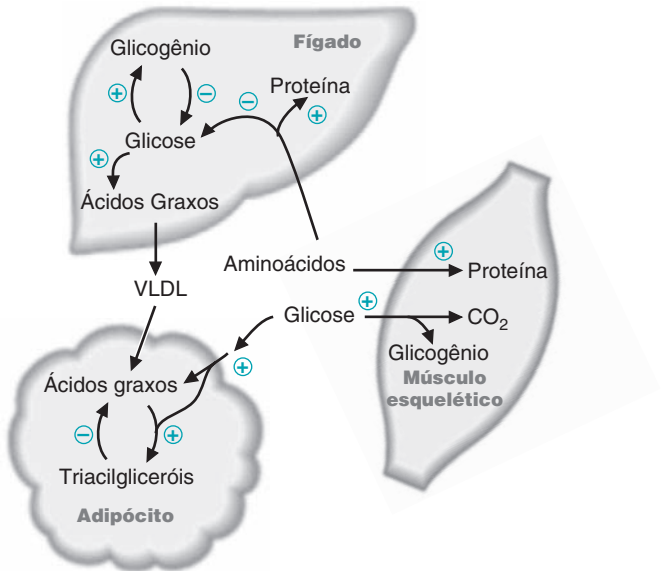


Figura 26.6 Principais sítios de ação da insulina no metabolismo de substratos energéticos. + = estimulação pela insulina; – = inibição pela insulina.

A insulina e o glucagon não são os únicos reguladores do metabolismo de substratos energéticos. O balanço intertecidual entre o armazenamento e a utilização de glicose, gordura e proteínas também é acompanhado pelo nível de metabólitos circulantes no sangue, por sinais neuronais e por outros hormônios da homeostase metabólica (epinefrina, norepinefrina, cortisol e outros) (Tabela 26.1). Esses hormônios opõem-se à ação da insulina por mobilizarem a fonte de energia. Como o glucagon, eles são chamados hormônios contra-regulatórios de insulina (Figura 26.9). De todos esses



A mensagem carregada pelo glucagon é "glicose está perdida"; isto é, o suplemento de glicose em circulação é inadequado para encontrar fonte de energia imediata requerida pelo organismo.

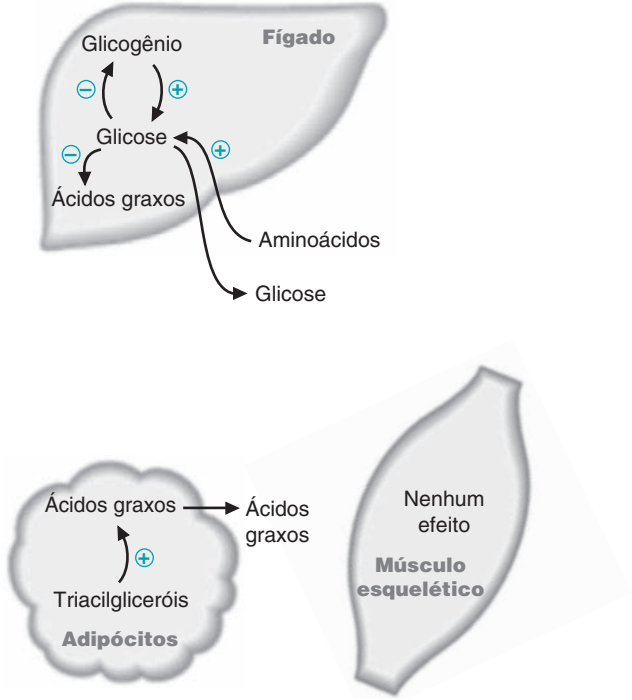


Figura 26.7 Principais sítios de atuação do glucagon no metabolismo de fontes de energia. + = rotas estimuladas pelo glucagon; – = rotas inibidas pelo glucagon.

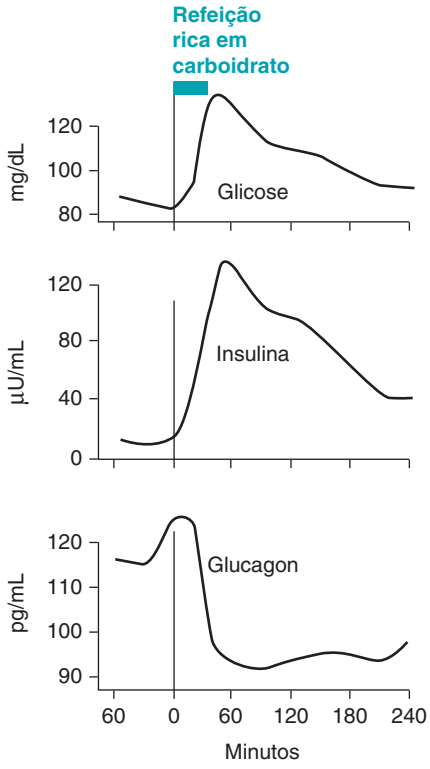


Figura 26.8 Níveis de glicose, insulina e glucagon no sangue após uma refeição rica em carboidratos.

Tabela 26.1 Ações Fisiológicas da Insulina e dos Hormônios Contra-Regulatórios da Insulina

Hormônio	Função	Principal Rota Metabólica Afetada
Insulina	• Promove o armazenamento da fonte de energia após a refeição • Promove crescimento	• Estimula o armazenamento de glicose como glicogênio (músculo e fígado) • Estimula a síntese e o armazenamento de ácidos graxos após uma refeição rica em carboidrato • Estimula a utilização de aminoácidos e a síntese de proteína
Glucagon	• Mobiliza fonte de energia • Mantém o nível de glicose sangüínea durante jejum	• Ativa a gliconeogênese e a glicogenólise (fígado) durante jejum • Ativa a liberação de ácidos graxos a partir de tecido adiposo
Epinefrina	• Mobiliza a fonte de energia durante estresse agudo	• Estimula a produção de glicose a partir do glicogênio (músculo e fígado) • Estimula a liberação de ácido graxo a partir de tecidos adiposos
Cortisol	• Prepara para as mudanças requeridas por longo período	• Estimula a mobilização de aminoácidos a partir da proteína muscular • Estimula a gliconeogênese • Estimula a liberação de ácidos graxos a partir de tecido adiposo

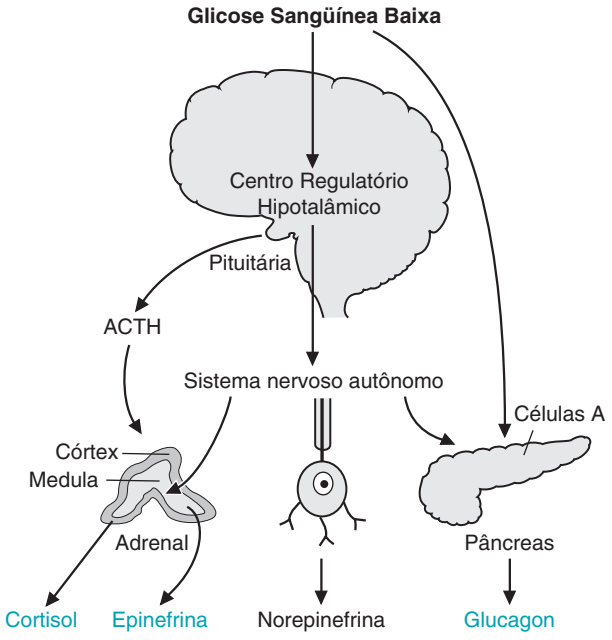


Figura 26.9 Principais hormônios contra-regulatórios da insulina. O estresse de um baixo nível sangüíneo de glicose medeia a liberação dos principais hormônios contra-regulatórios da insulina por meio de sinais neuronais. A hipoglicemia é um dos sinais de estresse que estimula a liberação de cortisol, epinefrina e norepinefrina. O hormônio adenocorticóide (ACTH) é liberado da pituitária e estimula a liberação de cortisol (um glicocorticóide) do cortéx adrenal. Os sinais neurais estimulam a liberação de epinefrina pela medula adrenal e norepinefrina pelos nervos terminais e também participam em menor fração da liberação de glucagon. Embora a norepinefrina tenha ação contra-regulatória, ela não é o principal hormônio contra-regulatório.

hormônios, somente a insulina e o glucagon são sintetizados e liberados em resposta direta a mudanças na concentração sangüínea dos substratos energéticos A liberação de cortisol, epinefrina e norepinefrina é mediada por sinais neuronais. Níveis elevados de hormônios contra-regulatórios de insulina no sangue refletem, em geral, um corrente aumento na demanda de fontes de energia.

III. SÍNTESE E LIBERAÇÃO DE INSULINA E GLUCAGON

A. Pâncreas Endócrino

A insulina e o glucagon são sintetizados em diferentes tipos de células endócrinas do pâncreas, as quais consistem em aglomerados (feixes) microscópicos de glândulas – as ilhotas de Langerhans – dispersos em uma quantidade de exócrinas pancreáticas. As células α secretam glucagon, e as células β secretam insulina para dentro da veia porta hepática via veias pancreáticas.

B. Síntese e Secreção de Insulina

A insulina é um hormônio polipeptídeo; sua forma ativa é composta por duas cadeias polipeptídeas (cadeia A e cadeia B) unidas por duas ligações dissulfeto. A cadeia A tem uma ligação dissulfeto entre as cadeias adicionais (Figura 26.10).

A insulina, como vários outros hormônios polipeptídeos, é sintetizada como um pró-hormônio que é convertido no retículo endoplasmático rugoso (RER) em pró-insulina. A "pré"-seqüência, um sinal hidrofóbico curto, seqüência do final N-terminal, é clivada assim que entra no lúmen do RER. A pró-insulina dobra-se em sua própria conformação, e as ligações dissulfeto são formadas entre os resíduos de cisteína. Ela é, então, transportada em microvesículas para o complexo de Golgi e deixa o complexo de Golgi em vesículas de armazenamento, nas quais uma protease remove o peptídeo C (um fragmento sem atividade hormonal) e alguns pequenos remanescentes, resultando na formação da atividade biológica da insulina (ver Figura 26.10). Íons de zinco são também transportados nessas vesículas de armazenamento. A clivagem do peptídeo C diminui a solubilidade da insulina resultante, a qual co-precipita com o zinco. A exocitose das vesículas de armazenamento de insulina do citosol de células β para o sangue é estimulada pelo nível aumentado de glicose no sangue que banha as células β.

A glicose entra na célula β via proteína específica transportadora de glicose, conhecida como GLUT2 (ver Capítulo 27). Ela é fosforilada pela ação de glicocinase para formar glicose-6-fosfato, a qual é metabolizada por meio da glicólise, do ciclo TCA e da fosforilação oxidativa. Essas reações resultam no aumento dos níveis de ATP dentro da célula β (Figura 26.11, círculo 1). Como a proporção [ATP]/[ADP] das células β aumenta, a atividade do receptor de membrana, ATP-dependente de canal de K^+ (K^+_{ATP}) é inibida (p. ex., o canal é fechado) (Figura 26.11, círculo 2). O fechamento desses canais leva a uma despolarização da membrana (Figura 26.11, círculo 3), a qual ativa um portão de voltagem de canais de Ca^{2+} que permite a entrada de Ca^{2+} nas células β, aumentando, assim, os níveis intracelulares de Ca^{2+} de forma significativa (Figura 26.11, círculo 4). O aumento intracelular de Ca^{2+} estimula a fusão das vesículas exocitóticas que contêm insulina com a membrana plasmática, resultando na secreção de insulina (Figura 26.11, círculo 5). Assim, um aumento nos níveis de glicose dentro das células β inicia a liberação de insulina.

A forma de diabetes conhecida como MODY (*maturity onset diabetes of the young*) resulta de mutações ou nas glicocinases pancreáticas ou em fatores de transcrição nuclear específicos. MODY tipo 2 é devido à mutação de glicocinase que resulta em uma enzima com atividade reduzida, ou devido a um elevado K_m de glicose ou uma redução $V_{máx}$ da reação. Indivíduos com essa mutação de glicocinase não podem metabolizar significativamente a glicose, a menos que seus níveis sejam maiores do que o normal, pois a liberação de insulina é dependente no metabolismo normal de glicose dentro da célula β que cede uma crítica proporção de [ATP]/[ADP] nessa célula. Então, embora esses pacientes possam liberar insulina, eles o fazem somente em níveis de glicose acima do normal e estão, por isso, quase sempre em um estágio hiperglicêmico. No entanto, esses pacientes são um pouco resistentes a complicações a longo prazo da hiperglicemia crônica.

A mensagem que a insulina leva aos tecidos é que a glicose é abundante e pode ser utilizada como fonte imediata de energia ou pode ser convertida em formas de armazenamento, como triacilglicerol em adipócitos ou glicogênio no fígado e no músculo.

Como a insulina estimula a utilização de glicose pelos tecidos, onde essa deve ser imediatamente oxidada ou armazenada para futura oxidação, ela diminui os níveis sangüíneos de glicose. Entretanto, uma das possíveis causas da hipoglicemia de **Bea Selmass** é um insulinoma, um tumor que produz insulina de forma excessiva.

Sempre que uma glândula endócrina continua a liberar o seu hormônio, mesmo na presença do sinal que normalmente iria suprimir a secreção, essa liberação inapropriada é chamada de "autônoma". Neoplamas secretados de glândulas endócrinas em geral produzem seus produtos autonomamente e de forma crônica.

A hipersecreção autônoma de insulina a partir de um suspeito tumor nas células β pancreáticas (um insulinoma) pode ser demonstrada de diversas formas. O teste mais simples é extrair simultaneamente uma amostra de sangue para medir a concentração de glicose e insulina enquanto o paciente está apresentando de forma espontânea os sintomas adrenérgicos ou neuroglicopênicos característicos de hipoglicemia. Durante esse teste, os níveis de glicose de **Bea Selmass** caíram a 45 mg/dL (normal = 80 a 100), e sua proporção de insulina para glicose era bem maior do que o normal. Os níveis elevados de insulina aumentam o consumo de insulina pelos tecidos periféricos, resultando em uma diminuição dramática nos níveis sangüíneos de glicose. Em indivíduos normais, quando os níveis de glicose diminuem, os níveis de insulina também diminuem.

Di Abietes tem diabetes melito tipo 1, formalmente conhecida como diabetes melito insulino-dependente (DMDI). Esse distúrbio metabólico é normalmente causado por uma destruição mediada contra o organismo (auto-imune) das células β-pancreáticas. A propensão ao diabetes melito tipo 1 é, em parte, conferida por um defeito genético no antígeno de leucócito humano (ALH) da região das células β que codificam para o complexo de histocompatibilidade principal II (MHC II). Essa proteína apresenta um antígeno intracelular da membrana celular para "próprio reconhecimento" das células envolvidas na resposta imune. Devido a essa proteína defeituosa, uma resposta imune mediada por células leva a vários níveis de destruição de células β e finalmente à dependência de administração de insulina exógena para controlar os níveis sangüíneos de glicose.

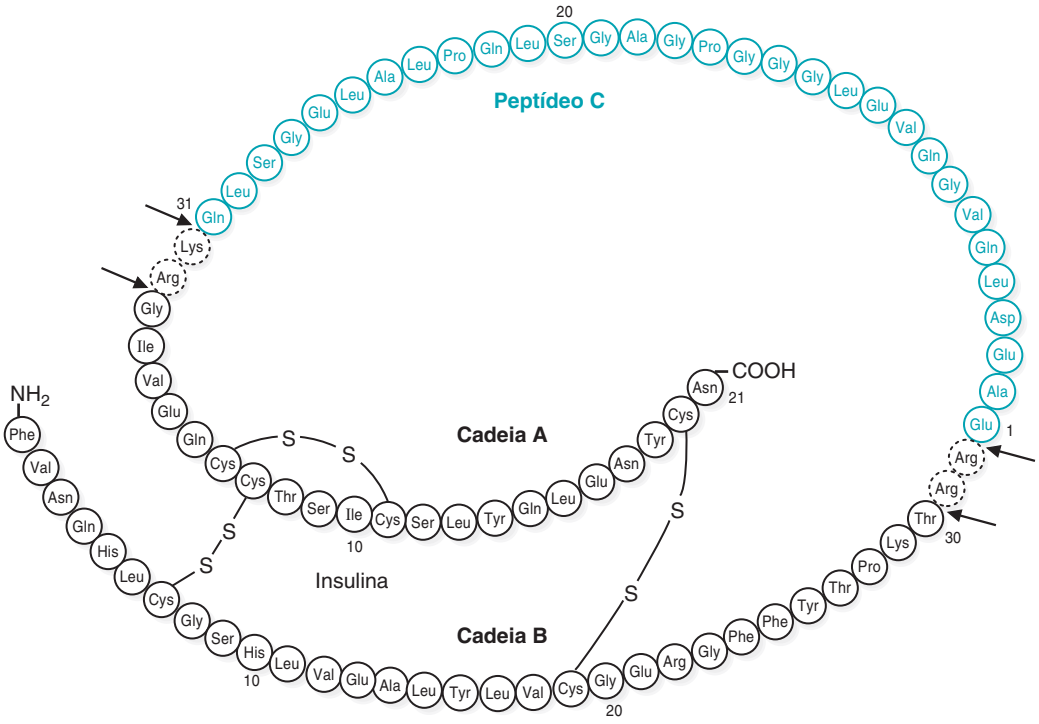


Figura 26.10 Clivagem da pró-insulina a insulina. A pró-insulina é convertida em insulina por clivagem proteolítica, a qual remove o peptídeo C e alguns resíduos adicionais de aminoácidos. A clivagem ocorre nas setas indicadoras. A partir de Murray RK, et al. Harper´s Biochemistry, 23rd Ed. Stanford, CT: Appleton & Lange, 1993:560.

C. Estimulação e Inibição da Liberação de Insulina

A liberação de insulina ocorre minutos após a exposição do pâncreas à alta concentração de glicose. O limiar para a liberação de insulina é 80 mg de glicose/dL. Acima de 80 mg/dL, a fração de insulina liberada não é uma resposta alta ou baixa, é proporcional à concentração de glicose até aproximadamente 300 mg/dL dessa. Quando a insulina é secretada, a síntese de nova molécula de insulina é estimulada, a secreção é, então, mantida até a concentração sangüínea de glicose diminuir. A insulina é rapidamente removida da circulação e degradada pelo fígado (e em uma menor extensão pelos rins e pelo músculo esquelético), então os níveis de insulina diminuem rapidamente, uma vez que a taxa da secreção diminui.

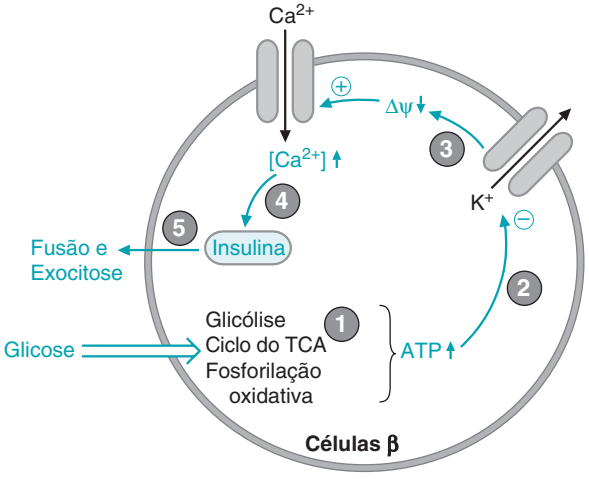


Figura 26.11 Liberação de insulina pelas células β. Detalhes são fornecidos no texto.

Tabela 26.2 Reguladores da Liberação[a] da Insulina

Principais Reguladores	Efeito
Glicose	+
Reguladores secundários	
Aminoácidos	+
Produção neural	+
Hormônios do intestino[b]	+
Epinefrina (adrenérgico)	–

[a] + = estímulo
– = inibição
[b] Hormônios do intestino que regulam o metabolismo de substratos energéticos são discutidos no Capítulo 43.

Outros fatores, além da concentração de glicose sangüínea, podem modular a liberação de insulina (Tabela 26.2). As ilhotas pancreáticas são inervadas pelo sistema nervoso autônomo, incluindo uma ramificação do nervo vago. Esses sinais neurais ajudam a coordenar a liberação de insulina com sinais secretórios iniciados pela ingestão de substratos energéticos. Entretanto, sinais do sistema nervoso central não são requeridos para secreção de insulina. Certos aminoácidos também podem estimular a secreção de insulina, embora a quantidade de insulina liberada após uma refeição rica em proteínas seja bem menor do que a liberada após uma refeição rica em carboidratos. O polipeptídeo inibidor gástrico (GIP, um hormônio intestinal liberado após a ingestão de alimentos) também ajuda no início da liberação de insulina. A epinefrina, secretada em resposta a jejum, estresse, trauma e exercício vigoroso, diminui a secreção de insulina. Ela libera sinais de utilização de energia, os quais indicam que deve ser secretada uma menor quantidade de insulina, uma vez que essa estimula o armazenamento de energia.

B. Síntese e Secreção de Glucagon

O glucagon, um hormônio polipeptídeo, é sintetizado nas células α-pancreáticas pela clivagem de pré-pró-glucagon, um peptídeo com estrutura muito maior, com 160 aminoácidos. Como a insulina, o pré-pró-glucagon é produzido no retículo endoplasmático rugoso e é convertido em pró-glucagon assim que entra no lúmen RE. A clivagem proteolítica de vários sítios produz o glucagon maduro com 29 aminoácidos (peso molecular de 3.500) e grandes fragmentos contendo glucagon (peptídeos denominados como glucagon 1 e 2). O glucagon é rapidamente metabolizado, primeiramente no fígado e nos rins. Sua meia-vida plasmática é de apenas 3 a 5 minutos.

A secreção de glucagon é regulada principalmente pelos níveis de glicose e insulina circulantes. O aumento desses níveis inibe a liberação de glucagon. A glicose provavelmente apresenta um efeito supressor direto na secreção do glucagon a partir das células α, bem como um efeito indireto, mais lento, mediado pela habilidade da glicose em estimular a liberação de insulina. A direção do fluxo sangüíneo nas ilhotas



Pacientes com diabetes melito tipo 1, como **Di Abietes**, têm níveis praticamente indetectáveis de insulina no sangue. Pacientes com diabetes melito tipo 2, como **Ann Sulin**, de forma oposta, apresentam níveis normais ou até mesmo elevados de insulina no sangue; entretanto, o nível de insulina em seu sangue é inapropriadamente baixo em relação à sua concentração sangüínea de glicose elevada. No diabetes melito tipo 2, músculos esqueléticos, fígado e outros tecidos apresentam uma resistência à ação da insulina. Como resultado, a insulina tem um efeito menor do que o normal sobre a glicose e o metabolismo graxo nesses pacientes. Os níveis de insulina no sangue devem ser maiores do que o normal para manter níveis sangüíneos de glicose normais. Nos primeiros estágios de diabetes melito tipo 2, esse ajuste compensatório na liberação de insulina pode manter o nível de glicose próximo ao normal. Com o passar do tempo, como a capacidade da célula β em secretar altos níveis de insulina diminui, os níveis sangüíneos de glicose aumentam, e a insulina exógena passa a ser necessária.



Ann Sulin está tomando um composto de sulfoniluréia conhecido como glipizida para tratar o diabetes. As sulfoniluréias agem nos canais de K^+_{ATP} na membrana das células β-pancreáticas. A ligação do fármaco a esses canais fecha os canais de K^+ (devido ao elevado nível de ATP), o qual, em resposta, aumenta o movimento de Ca^{2+} para o interior da célula β. Esse fluxo de Ca^{2+} para o interior da célula modula a interação das vesículas que armazenam insulina com a membrana plasmática das células β, resultando na liberação de insulina para a circulação.



A medida de pró-insulina e peptídeo conectado entre as cadeias α e β da insulina (peptídeo C) no sangue de Bea Selmass durante o seu jejum hospitalar confirma que ela possui um insulinoma. A insulina e o peptídeo C são secretados em proporções aproximadamente iguais a partir das células β, mas o peptídeo C não é depurado rapidamente do sangue como a insulina. Dessa forma, ele permite uma razoável medida da estimativa da taxa de secreção da insulina. As medidas plasmáticas do peptídeo C são também potencialmente úteis no tratamento de pacientes com diabetes melito, porque elas provêm uma maneira de estimar o grau de secreção endógena de insulina em pacientes que estão recebendo insulina exógena, a qual carece de peptídeo C.

Tabela 26.3 Reguladores da Liberação[a] de Glucagon

Principais Reguladores	Efeito
Glicose	–
Inulina	–
Aminoácidos	+
Reguladores secundários	
Cortisol	+
Neural (estresse)	+
Epinefrina	+
Hormônios do intestino	+

[a] + = estímulo
– = inibição

Os aminoácidos induzem a secreção de insulina e glucagon. Embora isso pareça paradoxal, realmente faz sentido. A liberação de insulina estimula a utilização de aminoácidos pelos tecidos e aumenta a síntese de proteína. Entretanto, como os níveis de glucagon também aumentam em resposta a uma refeição com proteína, a gliconeogênese é acentuada (em detrimento da síntese de proteína), e os aminoácidos apanhados pelos tecidos servem como substrato para a gliconeogênese. A síntese de glicogênio e triacilgliceróis é também reduzida quando os níveis sangüíneos de glucagon aumentam.

Em indivíduos em jejum, a variação dos níveis sangüíneos de glucagon imunorreativo é 75 pg/mL e não varia muito mais do que a insulina no ciclo jejum-alimentado. Entretanto, somente 30 a 40% de glucagon imunorreativo detectado correspondem a glucagon pancreático maduro. O restante é composto por uma grande quantidade de fragmentos também produzidos no pâncreas ou nas células L intestinais.

A importância fisiológica da ação usual da insulina em mediar o efeito supressivo da glicose na secreção de glucagon é vista em pacientes com diabetes melito tipo 1 e tipo 2. Apesar da presença da hiperglicemia, os níveis de glucagon nesses pacientes inicialmente permanecem elevados (próximos aos níveis de jejum), ou devido à ausência do efeito supressor da insulina ou devido à resistência das células α a esse efeito supressor, mesmo na presença de quantidades adequadas de insulina em pacientes com diabetes tipo 2. Então, esses pacientes tem níveis elevados de glucagon de forma inapropriada, o que sugere que o diabetes melito é realmente um distúrbio "bi-hormonal".

pancreáticas carrega a insulina das células β, no centro das ilhotas, para as células α periféricas, onde ela suprime a liberação do glucagon.

Certos hormônios estimulam a secreção de glucagon. Muitos desses são as catecolaminas (incluindo epinefrina), o cortisol e certos hormônios gastrintestinais (intestinais) (Tabela 26.3).

Muitos aminoácidos também estimulam a liberação de glucagon (Figura 26.12), portanto o maior nível de glucagon que pode ser esperado no estado de jejum não diminui após uma refeição rica em proteína. De fato, os níveis de glucagon podem aumentar, estimulando a glicogenólise na ausência de glicose da dieta. As quantidades relativas de insulina e de glucagon no sangue após uma refeição mista são dependentes da composição da refeição, pois a glicose estimula a liberação de insulina, e os aminoácidos estimulam a liberação de glucagon.

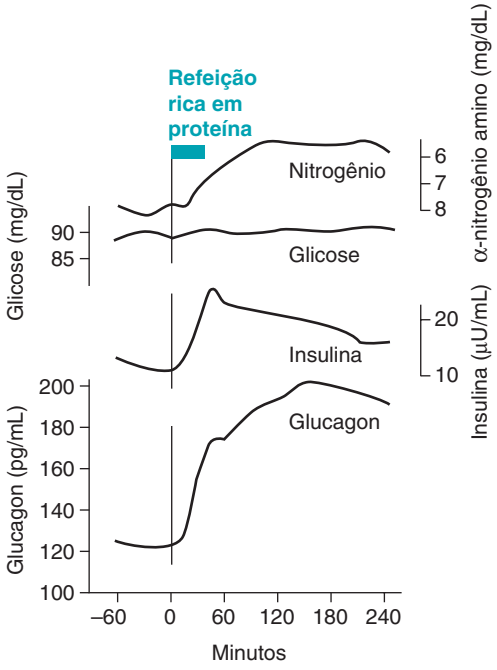


Figura 26.12 Liberação da insulina e do glucagon em resposta a uma reação rica em proteína. Essa figura demonstra o aumento da liberação de insulina e glucagon no interior da corrente sangüínea após uma noite em jejum seguida por uma ingestão de 100 g de proteína (equivalente a uma fatia de rosbife). Os níveis de insulina não aumentam logo após uma refeição rica em carboidratos (ver Figura 26.8); os níveis de glucagon, entretanto, aumentam significativamente acima da concentração presente no estado de jejum.

IV. MECANISMOS DE AÇÃO HORMONAL

Para o hormônio afetar o fluxo de substrato através da rota metabólica, ele deve ser capaz de modificar a taxa em que cada rota metabólica procede por aumentar ou diminuir a velocidade das etapas mais lentas. Os hormônios afetam tanto direta quanto indiretamente a atividade de enzimas específicas ou proteínas transportadoras que regulam o fluxo em uma rota metabólica. Dessa forma, o hormônio pode causar o aumento da quantidade do substrato da enzima (se o suplemento de substrato for um fator limitante), modificar a conformação do sítio ativo – por fosforilar a enzima –, modificar a concentração de um efetor alostérico da enzima ou alterar a sua fração de renovação ou localização. A insulina, o glucagon e outros hormônios utilizam todos esses mecanismos regulatórios para controlar a velocidade do fluxo nas rotas metabólicas. Os efeitos mediados por fosforilação ou mudanças nas propriedades cinéticas da enzima ocorrem rapidamente, em minutos. De forma oposta, pode levar horas para a indução ou a repressão da síntese enzimática modificar a quantidade de uma enzima na célula.

Os detalhes da ação hormonal foram previamente descritos no Capítulo 11 e são apenas indicados aqui.

A. Sinais de Transdução por Hormônios que se Ligam a Receptores da Membrana Plasmática

Os hormônios iniciam suas ações nas células-alvo por ligação a um receptor específico ou proteína transportadora. No caso de hormônios polipeptídeos (como insulina e glucagon) e catecolaminas (epinefrina e norepinefrina, a ação do hormônio é mediada através de ligação a um receptor específico na membrana plasmática (ver Capítulo 11, Seção III). A primeira mensagem do hormônio é transmitida a enzimas intracelulares por ativação do receptor e de um segundo mensageiro intracelular; o hormônio não precisa entrar na célula para desenvolver o seu efeito. (De forma oposta, hormônios esteróides, como o cortisol e o hormônio da tireóide triiodotirionina [T3], entram no citosol e, finalmente, movem-se para o interior do núcleo da célula para exercer seus efeitos).

O mecanismo pelo qual a mensagem transportada pelo hormônio definitivamente afeta a porcentagem da enzima regulatória na célula-alvo é chamado de transdução de sinal. Os três tipos básicos de transdução de sinal de hormônios ligados a receptores na membrana plasmática são (*a*) receptores acoplados à adenilato-ciclase que produz AMPc, (*b*) receptor de atividade quinase e (*c*) receptores acoplados a hidrólises de fosfatidilnositol bisfosfato (PIP2). Os hormônios da homeostase metabólica utilizam um desses mecanismos para transmitir seus efeitos fisiológicos. Além disso, alguns hormônios e neurotransmissores agem por meio de receptores acoplados a canais iônicos (previamente descritos no Capítulo 11).

1. TRANSDUÇÃO DE SINAL PELA INSULINA

A insulina inicia sua ação ligando-se ao receptor na membrana plasmática de muitas de suas células-alvo (ver Figura 11.13). O receptor de insulina possui dois tipos de subunidades, a subunidade α, à qual a insulina se liga, e a subunidade β, que atravessa a membrana e se estende até o citosol. A porção citosólica da subunidade β tem atividade da tirosina-quinase. Ao se ligar com a insulina, a tirosina-quinase fosforila resíduos de tirosina na subunidade β (autofosforilação), assim como várias outras enzimas dentro do citosol. Um substrato principal da fosforilação pelo receptor, o substrato do receptor de insulina (IRS-1), então, reconhece e liga-se a várias proteínas transdutoras de sinais em regiões referidas como domínos SH2. IRS-1 é envolvido em muitas das respostas fisiológicas da insulina por meio de mecanismos complexos que são tópicos de intensas investigações. O principal tecido celular específico de resposta à insulina, entretanto, pode ser agrupado em cinco grandes categorias: (*a*) a insulina anula a fosforilação estimulada pelo glucagon, (*b*) a insulina trabalha através da cascata de fosforilação que estimula a fosforilação de diversas enzimas, (*c*) a insulina induz e reprime a síntese de enzimas específicas, (*d*) a insulina age como um fator de crescimento e



Durante o estresse da hipoglicemia, o sistema nervoso autônomo estimula o pâncreas a secretar glucagon, o qual tende a restabelecer a concentração sérica de glicose a níveis normais. O aumento da atividade do sistema nervoso adrenérgico (por meio da epinefrina) também alerta uma paciente como Bea Selmass para presença de uma hipoglicemia severa que pode aumentar cada vez mais. Espera-se que isso induza o paciente a ingerir açúcar simples ou outro carboidrato, o qual, em resposta, irá aumentar os níveis sangüíneos de glicose. Bea Selmass ganhou 3, 62 kg antes da retirada de seu adenoma pancreático de secreção de insulina através desse mecanismo.

tem um efeito usual estimulatório na síntese de proteínas, e (*e*) a insulina estimula o transporte de glicose e aminoácidos para o interior da célula.

Diversos mecanismos têm sido propostos para a ação da insulina na reversão da estimulação da fosforilação de enzimas e metabolismo de carboidratos, causada pelo glucagon. Do ponto de vista dos estudantes, a capacidade da insulina de reverter a fosforilação estimulada pelo glucagon ocorre como se ela estivesse diminuindo o AMPc e estimulando fosfatases que podem remover os fosfatos adicionados pela proteína-quinase A. Contudo, o mecanismo é mais complexo e ainda não está bem esclarecido.

2. TRANSDUÇÃO DE SINAL PELO GLUCAGON

A rota de transdução de sinal pelo glucagon é comum a diversos hormônios; o receptor do glucagon é acoplado à adenilato-ciclase e à produção de AMPc (ver Figura 11.11). O glucagon, por meio da proteína G, ativa a membrana ligada a adenilciclase, aumentando a síntese do segundo mensageiro intracelular 3´,5´-AMP cíclico (AMPc) (ver Figura 9.10). O AMPc ativa a proteína-quinase A (proteína-quinase dependente do AMPc), a qual modifica a ação de enzimas por fosforilá-las a resíduos de serina específicos. A fosforilação ativa algumas enzimas e inibe outras.

As proteínas G, as quais acoplam o receptor do glucagon à adenilato-ciclase, são proteínas da membrana plasmática que ligam trifosfato de guanosina (GTP) e tem subunidades dissociadas que interagem tanto com o receptor quanto com a adenilato-ciclase. Na ausência de glucagon, o complexo de proteína G_s estimulatória liga-se ao difosfato de guanosina (GDP), mas não pode se ligar ao receptor livre ou à adenilato-ciclase (ver Figura 11.17). Uma vez que o glucagon se liga ao receptor, esse também se liga ao complexo G_s, o qual, então, libera GTP e liga a GTP. A subunidade α, então dissociada da subunidade $\beta\gamma$, liga-se à adenilato-ciclase e a ativa. Como o GTP na subunidade α é hidrolisado a GDP, a subunidade se dissocia e forma novamente o complexo com a subunidade $\beta\gamma$. Somente a ocupação contínua do receptor do glucagon pode manter a atividade da adenilato-ciclase.

Embora o glucagon atue por ativação da adenilato-ciclase, poucos hormônios inibem essa enzima. Nesse caso, o complexo inibitório da proteína G é chamado de complexo G_i.

O AMPc é rapidamente degradado a AMP por uma fosfodiesterase ligada à membrana. A concentração de AMPc é, então, muito baixa na célula, de modo que alterações nessa concentração podem ocorrer de forma rápida em resposta a mudanças na velocidade de síntese. A quantidade de AMPc presente em qualquer momento está diretamente relacionada com a ligação do hormônio e a atividade da adenilato-ciclase. Ela não é afetada pelos níveis de ATP, ADP ou AMP na célula.

O AMPc transmite o sinal do hormônio para a célula por ativar a proteína-quinase A (proteína-quinase dependente de AMPc). Como o AMPc liga-se à subunidade regulatória da proteína-quinase A, essa subunidade se dissocia das subunidades catalíticas, as quais são, dessa forma, ativadas (ver Figuras 9.9 e 9.11). A proteína-quinase A ativada fosforila resíduos de serina de enzimas-chave da regulação nas rotas metabólicas de carboidratos e gorduras. Algumas enzimas são ativadas, e outras, inibidas pela modificação de seu estado de fosforilação. A mensagem do hormônio é finalizada pela ação de proteínas-fosfatase semi-específicas que removem o grupo fosfato das enzimas. A atividade das proteínas-fosfatase é também controlada por regulação hormonal.

Mudanças no estado de fosforilação de proteínas que se ligam aos elementos que respondem ao AMPc (*response elements* [CREs] na região promotora de genes contribuem para a regulação da transcrição de genes por um número de hormônios acoplados ao AMPc (ver Capítulo 16). Por exemplo, elementos de resposta a AMPc ligados a proteína (CREB) são diretamente fosforilados por proteína-quinase A, um passo essencial para o início da transcrição. A fosforilação de outros sítios na CREB, por diversas quinases, também pode apresentar um papel na regulação da transcrição.



O AMPc é o segundo mensageiro intercelular para um número de hormônios que regulam o metabolismo dos substratos energéticos. A especificidade da resposta fisiológica a cada hormônio resulta da presença de receptor específico para o hormônio no tecido-alvo. Por exemplo, o glucagon ativa a produção de glicose a partir do glicogênio no fígado, mas não no músculo esquelético, pois receptores de glucagon estão presentes no fígado e ausentes no músculo esquelético. Contudo, músculos esqueléticos apresentam adenilato-ciclase, AMPc e proteína-quinase A, que podem ser ativadas pela epinefrina ligada ao receptor β_2 na membrana das células musculares. As células hepáticas também apresentam receptores para epinefrina.



A fosfodiesterase é inibida por metilxantinas, uma classe de compostos que inclui a cafeína. O efeito de uma metilxantina no metabolismo energético pode ser semelhante ao jejum ou a uma refeição rica em carboidratos?

O mecanismo de transdução de sinal pelo glucagon ilustra alguns princípios importantes do mecanismo sinalizador dos hormônios. O primeiro princípio é que a especificidade da ação em tecidos é conferida pelo receptor de glucagon na célula-alvo. Em geral, a maior ação do glucagon ocorre no fígado, no tecido adiposo e em certas células dos rins que contêm receptores de glucagon. O segundo princípio é que a transdução de sinais envolve a amplificação da primeira mensagem. O glucagon e outros hormônios estão presentes no sangue em concentrações muito baixas; entretanto, essas pequenas concentrações de hormônios são adequadas para desencadear a resposta da célula, pois a ligação de uma molécula de glucagon ao seu receptor finalmente ativa várias moléculas de proteína-quinase A, e cada uma dessas fosforila centenas de enzimas a jusante. O terceiro princípio envolve a integração da resposta metabólica. Por exemplo, o glucagon estimula a fosforilação de enzimas, simultaneamente ativa a degradação de glicogênio, inibe a síntese de glicogênio e inibe a glicólise no fígado. O quarto princípio relaciona-se a agonismo e antagonismo de sinais. Um exemplo de agonismo envolve a ação de glucagon e epinefrina (a qual é liberada durante o exercício). Embora esses hormônios se liguem a diferentes receptores, cada um pode aumentar o AMPc e estimular a degradação de glicogênio. O quinto princípio diz respeito à rápida finalização de um sinal. No caso do glucagon, tanto o término da ativação de proteína G_s quanto a rápida degradação do AMPc contribuem para a finalização do sinal.

B. Transdução de Sinal pelo Cortisol e outros Hormônios que Interagem com Receptores Intracelulares

A transdução de sinal pelo glicocorticóide cortisol e por outros esteróides e pelos hormônios da tireóide envolve a ligação dos hormônios a receptores intracelulares (citosólicos) ou proteínas carreadoras; em seguida, após esses complexos hormônio-proteína carreadora movem-se para dentro do núcleo, onde interagem com a cromatina. Tal interação modifica a proporção de transcrição de genes na célula-alvo (ver Capítulo 16). A resposta celular a esses hormônios irá continuar durante o tempo de exposição da célula ao hormônio específico. Assim, alterações que causam um estresse crônico nas suas secreções irão resultar em uma influência igualmente persistente no metabolismo energético. Por exemplo, estresse crônico como é visto em sepse prolongada pode levar a uma variável diminuição da intolerância à glicose se persistirem altos níveis de epinefrina e cortisol.

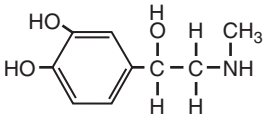
Os efeitos do cortisol na transcrição de genes em geral são sinérgicos a de outros determinados hormônios. Por exemplo, as velocidades de transcrição de genes para algumas enzimas da rota de síntese de glicose a partir de aminoácidos (glicogenólise) são induzidas pelo glucagon, bem como pelo cortisol.

C. Transdução de Sinal por Epinefrina e Norepinefrina

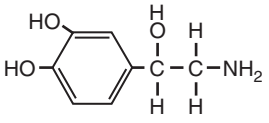
A epinefrina e a norepinefrina são catecolaminas (Figura 26.13). Elas podem atuar como neurotransmissores ou como hormônios. Um neurotransmissor permite que um sinal neural seja transmitido através das junções sinápticas entre o nervo terminal de um nervo proximal do axônio e a célula do organismo do neurônio distal. Um hormônio, de forma contrária, é liberado no sangue e percorre a circulação para interagir com um receptor específico na membrana plasmática ou no citosol do órgão-alvo. O efeito básico dessas catecolaminas é preparar para "luta ou fuga". Em função das circunstâncias intensamente estressantes, esses hormônios "do estresse" aumentam a mobilização do substrato energético, do rendimento cardíaco, do fluxo sangüíneo, etc., os quais permitem o enfrentamento desse estresse. As catecolaminas se ligam aos receptores adrenérgicos (o termo adrenérgico se refere às células nervosas ou fibras que são parte do sistema nervoso involuntário ou autônomo, um sistema que emprega norepinefrina como um neurotransmissor).

R: A inibição de fosfodiesterase pela metilxantina pode aumentar o AMPc e ter o mesmo efeito no metabolismo energético causado por um aumento de glucagon ou epinefrina, no estado de jejum. O aumento da mobilização de substratos energéticos pode ocorrer por meio de glicogenólise (a liberação de glicose a partir do glicogênio) e de lipólise (a liberação de ácidos graxos a partir de triacilgliceróis).

Proteína-quinases são uma classe de enzimas que modificam a atividade de outras enzimas, fosforilando-as em resíduos de serina ou tirosina e são referidas como serina-quinase e tirosina-quinase, respectivamente. A serina-quinase também fosforila algumas enzimas em resíduo de treonina. A proteína-quinase A (uma serina-quinase) fosforila muitas enzimas nas rotas do metabolismo energético.



Epinefrina



Norepinefrina

Figura 26.13 Estrutura da epinefrina e da norepinefrina. A epinefrina e a norepinefrina são sintetizadas a partir de tirosina e agem tanto como hormônios quanto como neurotransmissores. Elas são catecolaminas; o termo catecol se refere à estrutura do anel que contém dois radicais hidroxilas.

Existem nove diferentes tipos de receptores adrenérgicos: α_{1A}, α_{1B}, α_{1D}, α_{2A}, α_{2B}, α_{2C}, β_1, β_2 e β_3. Somente os três receptores β e o α_1 são discutidos aqui. Os três receptores β trabalham por meio do sistema adenilato-ciclase-AMPc, ativando uma proteína G_S, a qual ativa a adenilato-ciclase e, eventualmente, a proteína-quinase A. O receptor β_1 é o principal receptor adrenérgico no coração humano e é primeiramente estimulado pela norepinefrina. A ativação dos receptores β_1 aumenta a velocidade da contração muscular, em parte devido à fosforilação de fosfolambam mediada pela PKA (ver Capítulo 47). O receptor β_2 está presente no fígado, no músculo esquelético e em outros tecidos e é envolvido na mobilização do substrato energético (como a liberação da glicose por meio da glicogenólise). Ele também é mediador vascular, brônquico e da concentração do músculo liso uterino. A epinefrina é um agonista mais potente desses receptores do que a norepinefrina, a qual tem maior ação como neurotransmissor. O receptor β_3 é encontrado predominantemente no tecido adiposo e, em uma menor quantidade, no músculo esquelético. Sua ativação estimula a oxidação de ácidos graxos e termogêneses. Os agonistas desse receptor têm demonstrado ser um agente benéfico na perda de peso. Os receptores α_1, que são receptores pós-sinápticos, medeiam a contração vascular e de músculo liso. Eles trabalham através do sistema fosfatidilinositol bisfosfato (ver Capítulo 11, Seção III.B.2) por meio da ativação da proteína G_q e da fosfolipase C-β. Esse receptor também medeia a glicogenólise no fígado.

Ann O'Rexia, para permanecer magra, freqüentemente permanece em jejum por um longo período, mas pratica caminhadas toda a manhã (ver Capítulo 2). A liberação de epinefrina e norepinefrina e o aumento de glucagon e a queda de insulina durante o seu exercício promovem coordenação e aumento dos sinais que estimulam a liberação de substratos energéticos acima dos níveis de jejum. A mobilização de substratos energéticos irá ocorrer, evidentemente, somente enquanto ela tiver substratos energéticos armazenados como triacilgliceróis.

Ann Sulin, uma paciente com diabetes melito tipo 2, está experimentando resistência à insulina. Seus níveis de insulina circulantes são normais a elevados, embora inapropriadamente baixos para o seu nível elevado de glicose sangüínea. Entretanto, suas células-alvo de insulina, como músculo e gordura, não respondem como as de um indivíduo não-diabético responderia com esse nível de insulina. Para a maioria dos pacientes tipo 2, o sítio de resistência à insulina é subseqüente à ligação de insulina a seu receptor; por exemplo, o número de receptor e sua afinidade pela insulina é praticamente normal. Todavia, a ligação da insulina a esses receptores não promove a maioria dos efeitos intracelulares normais discutidos anteriormente. Como conseqüência, existe uma pequena estimulação do metabolismo da glicose e do seu armazenamento após uma refeição rica em carboidrato e uma pequena inibição da gliconeogênese hepática.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Di Abietes tem diabetes melito tipo 1 (formalmente designada diabetes melito insulino-dependente, DMID), enquanto **Ann Sulin** tem diabetes melito tipo 2 (formalmente chamada de diabetes melito não-insulino-dependente). Embora a patogênese seja diferente nessas duas formas principais de diabetes melito, ambas causam graus variáveis de hiperglicemia. No tipo 1, as células β-pancreáticas são gradualmente destruídas por anticorpos dirigidos para uma variedade de proteínas das células β. À medida que a capacidade de secreção de insulina pelas células β gradualmente diminui abaixo de um nível crítico, os sintomas de hiperglicemia crônica rapidamente se desenvolvem. No diabetes melito tipo 2, esses sintomas se desenvolvem mais sutil e gradualmente durante meses ou anos. Oitenta e cinco por cento ou mais de pacientes tipo 2 são obesos e, como **Ivan Applebod**, têm uma razão cintura-quadril alta com relação a distribuição de tecido adiposo. Essa distribuição anormal de gordura nos adipócitos viscerais (perintestinal) está associada à sensibilidade reduzida de células adiposas, células musculares e células hepáticas às ações da insulina destacadas anteriormente. Essa resistência à insulina pode ser diminuída por meio da perda de peso, especificamente nos depósitos viscerais.

Bea Selmass realizou uma ultra-sonografia de alta resolução no seu abdômen superior, a qual mostrou uma massa de 2,6 cm na porção média de seu pâncreas. Com esse achado, seus médicos decidiram que outros exames não-invasivos não seriam necessários antes que fosse realizada exploração cirúrgica de seu abdômen superior. No momento da cirurgia, uma massa branco-amarelada de 2,8 cm, consistindo primariamente em células β ricas em insulina, foi ressecada de seu pâncreas. Nenhuma alteração citológica de malignidade foi vista ao exame citológico do espécime cirúrgico, e nenhuma evidência grosseira de comportamento maligno do tumor (tal como metástase local) foi encontrada. Bea teve uma recuperação sem intercorrência e não teve mais sinais e sintomas de hipoglicemia induzida por insulina.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Uma importante resposta celular à insulina é o efeito reverso da estimulação da enzima de fosforilação causado pelo glucagon. O mecanismo proposto para essa ação inclui a inibição da adenilato-ciclase, uma redução dos níveis de AMPc, a estimulação de fosfodiesterases, a produção de uma proteína específica

(fator de insulina), a liberação de um segundo mensageiro de uma ligação fosfatidilnositol glicosilada e a fosforilação das enzimas em um sítio que antagoniza a fosforilação da proteína-quinase A. Nem todas essas ações fisiológicas da insulina ocorrem em cada um dos órgãos sensíveis a ela no organismo.

A insulina também é capaz de antagonizar a ação do glucagon no nível de indução ou repressão específica de uma enzima regulatória-chave do metabolismo de carboidratos. Por exemplo, a taxa de síntese do mRNA pela carboxiquinase fosfoenolpiruvato, uma enzima-chave na rota de gliconeogênese, é aumentada severamente pelo glucagon (via AMPc) e diminuída pela insulina. Então, todos os efeitos do glucagon, até mesmo a indução de certas enzimas, podem ser revertidos pela insulina. Esse antagonismo é exercido por meio de um elemento de resposta ao hormônio sensível à insulina (IRE) nas regiões promotoras de genes. A insulina causa repressão de síntese de enzimas que são induzidas pelo glucagon.

A estimulação geral da síntese de proteína pela insulina (seu efeito mitogênico ou de promoção do crescimento) parece ocorrer por meio de um aumento geral na taxa de translação do mRNA por um amplo espectro da estrutura da proteína. Essas ações resultam de uma cascata de fosforilação iniciada por autofosforilação do receptor da insulina e finalizada na fosforilação de subunidades de proteínas que se ligam e inibem um fator de iniciação (eIFs) da síntese de uma proteína eucariótica. Quando fosforiladas, as proteínas inibitórias são liberadas do eIFs, permitindo a estimulação da translação de mRNA. Nesse caso, as ações da insulina são similares às daqueles hormônios que agem nos fatores de crescimento e que também têm receptores com atividade de tirosina-quinase.

Em adição à transdução de sinal, à ativação dos receptores de insulina serve de mediador para a internalização do receptor ligado a moléculas de insulina aumentando sua subseqüente degradação. Embora receptores não-ocupados possam ser internalizados e eventualmente reciclados na membrana plasmática, o receptor pode ser degradado de forma irreversível após uma prolongada ocupação pela insulina. O resultado desse processo, referente à regulação negativa dos receptores, é um atenuante ao sinal da insulina. A importância fisiológica da internalização do receptor na sensibilidade à insulina é pouco conhecida, mas pode eventualmente levar a uma hiperglicemia crônica.

Leituras Sugeridas

Kahn SE, Porte D Jr. β-cell dysfunction in type 2 diabetes. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:1407-1431

O'Brien C. Missing link in insulin's path to protein production. Science 1994;266:542-543.

Saltiel AR, Pessin JE. Insulin signalling pathways in time and space. Trends Cell Biol. 2002;12:65-71

Stride A, Hattersley AT. Different genes, different diabetes: lessons from maturity-onset diabetes of the young. Ann Med 2002; 34:207-216.

White MF, Kahn CR. The insulin signalling system. J Biol Chem 1994; 269: 1-4.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 26

1. Um paciente com diabetes melito tipo 1 administra uma injeção de insulina antes do jantar, mas se distrai e não se alimenta. Cerca de três horas mais tarde, o paciente torna-se pouco firme, suado e confuso. Esses sintomas ocorrem devido a qual dos seguintes fatores?

   (A) Aumento da liberação de glucagon pelo pâncreas
   (B) Diminuição da liberação de glucagon pelo pâncreas
   (C) Altos níveis de glicemia sangüínea
   (D) Baixos níveis de glicemia sangüínea
   (E) Níveis elevados de corpos cetônicos

2. A cafeína é um potente inibidor da enzima AMPc-fosfodiesterase. Qual das seguintes conseqüências pode se esperar que ocorra no fígado após a ingestão de dois copos de um forte café expresso?

   (A) Uma resposta prolongada à insulina
   (B) Uma resposta prolongada ao glucagon

(C) Uma inibição da proteína-quinase A
(D) Uma atividade glicolítica acentuada
(E) Um redução da taxa de glicose exportada para circulação

3. Suponha-se que um aumento dos níveis de glicose no sangue de 5 para 10 mM poderia resultar na liberação de insulina pelo pâncreas. Uma mutação na glicoquinase pancreática pode levar à MODY dentro das células β-pancreáticas devido a qual dos seguintes fatores?

(A) Uma inabilidade de aumentar os níveis de AMPc
(B) Uma inabilidade de aumentar os níveis de ATP
(C) Uma inabilidade em estimular a transcrição de genes
(D) Uma inabilidade em ativar a degradação de glicogênio
(E) Uma inabilidade de aumentar os níveis intracelulares de lactato

4. Qual dos seguintes órgãos tem a maior demanda de glicose como substrato energético?

(A) Cérebro
(B) Músculo (esquelético)
(C) Coração
(D) Fígado
(E) Pâncreas

5. A liberação de glucagon não altera o metabolismo muscular devido a qual dos seguintes fatores?

(A) Células musculares carecem de adenilato-ciclase.
(B) Células musculares carecem de proteína-quinase A.
(C) Células musculares carecem de proteínas G.
(D) Células musculares carecem de GTP.
(E) Células musculares carecem de receptores de glucagon.

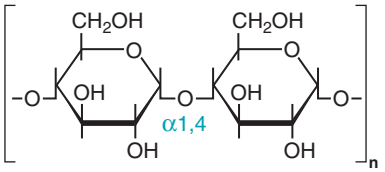
27 Digestão, Absorção e Transporte de Carboidratos

Os carboidratos são a maior fonte das calorias da dieta para a maioria da população mundial. Os principais carboidratos de uma dieta são amido, lactose e sacarose. Os ***amidos***, ***amilose*** *e* ***amilopectina****, são polissacarídeos compostos por centenas a milhões de unidades glicosídicas unidas por ligações glicosídicas do tipo α-1,4 e α-1,6 (Figura 27.1). A* ***lactose*** *é um dissacarídeo composto por glicose e galactose unidas por ligações glicosídicas β-1,4. A* ***sacarose*** *é um dissacarídeo composto por glicose e frutose unidas por ligações glicosídicas α-1,2. O processo digestivo converte todos esses carboidratos da dieta em seus constituintes monossacarídeos,* ***hidrolisando as ligações glicosídicas*** *entre os carboidratos.*

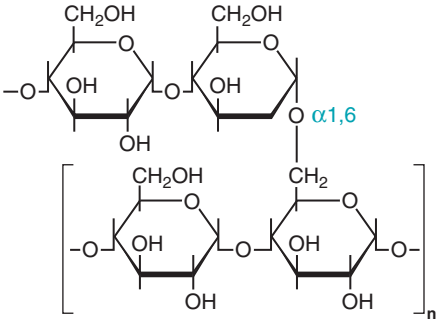
A digestão do amido inicia na boca (Figura 27.2). A glândula ***salivar*** *libera* ***α-amilase****, a qual converte o amido em polissacarídeos menores, chamados* ***α-dextrinas****. A α-amilase salivar é inativada pela acidez do estômago (HCl). A* ***α-amilase*** *pancreática e o bicarbonato são secretados pela glândula pancreática exócrina para o lúmen do intestino delgado, onde o bicarbonato neutraliza as secreções gástricas. A α-amilase pancreática continua a digestão das α-dextrinas, convertendo-as em dissacarídeos (****maltose****), trissacarídeos (****maltotriose****) e oligossacarídeos, chamados* ***dextrinas limites****. As dextrinas limites normalmente contêm de quatro a nove resíduos de glicose e uma* ***isomaltose*** *ramificada (dois resíduos glicosídicos unidos por ligação glicosídica α-1,6).*

A digestão dos dissacarídeos lactose e sacarose, assim como a digestão completa da maltose, da maltotriose e das dextrinas limites, ocorre pela ligação dos ***dissacarídeos*** *à superfície da membrana –* ***borda em escova*** *(****microvilosidades****) – das células epiteliais do intestino. A* ***glicoamilase*** *hidrolisa a ligação α-1,4 das dextrinas. O* ***complexo sacarose-isomaltase*** *hidrolisa a sacarose, a maioria das maltoses e quase todas as isomaltoses formadas pela glicoamilase das dextrinas limites. A* ***lactose-glicosilceramidase*** *(β-glicosidase) hidrolisa a ligação β-glicosídica em* ***lactose*** *e* ***glicolipídeos****. Um quarto complexo dissacarídeo, a* ***trealase****, hidrolisa a ligação (uma ligação glicosídica α-1,1) entre duas unidades glicosídicas no açúcar trealose. Os monossacarídeos produzidos por essas hidrólises (glicose, frutose e galactose) são, então, transportados pelas células epiteliais intestinais.*

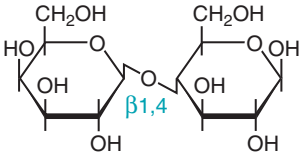
As ***fibras dietéticas****, compostas principalmente por polissacarídeos, não podem ser digeridas pelas enzimas humanas no trato intestinal. No cólon, fibras dietéticas e*



Amilose

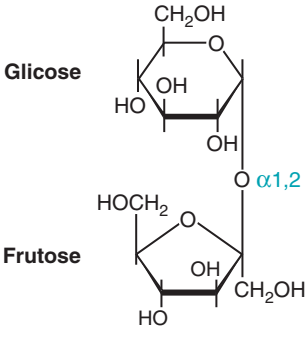


Amilopectina



Galactose Glicose

Lactose



Sacarose

Figura 27.1 Estruturas de carboidratos comuns na alimentação. Para dissacarídeos e moléculas maiores, os carboidratos são unidos por ligações glicosídicas entre o carbono anômero de um monossacarídeo e o grupo hidroxila de outro. A ligação glicosídica pode ser tanto α quanto β, dependendo de como estiver posicionada, acima ou abaixo do plano do açúcar que contém o carbono anômero. (Capítulo 5, Seção II.A, para revisar os termos utilizados na descrição dos carboidratos). O amido amilose é um polissacarídeo de resíduos da glicose ligados por ligações glicosídicas α-1,4. A amilopectina é a amilose com adição de ligações glicosídicas α-1,6 nos pontos de ramificação. Carboidratos alimentares podem ser monossacarídeos (único resíduo de carboidrato), dissacarídeo (dois resíduos de carboidrato), oligossacarídeos (vários resíduos de carboidrato) ou polissacarídeos (centenas de resíduos de carboidrato).

Uma síndrome comum de má absorção, a intolerância à lactose, é caracterizada por náusea, diarréia e flatulência após ingestão diária de produtos ou outros alimentos contendo lactose. Uma das causas da intolerância à lactose é o baixo nível de lactase, a qual decresce após a infância na maioria da população mundial (lactase não-persistente ou hipolactasia adulta). Entretanto, a atividade da lactase permanece alta em algumas populações (lactase persistente), incluindo europeus norte-ocidentais e seus descendentes.

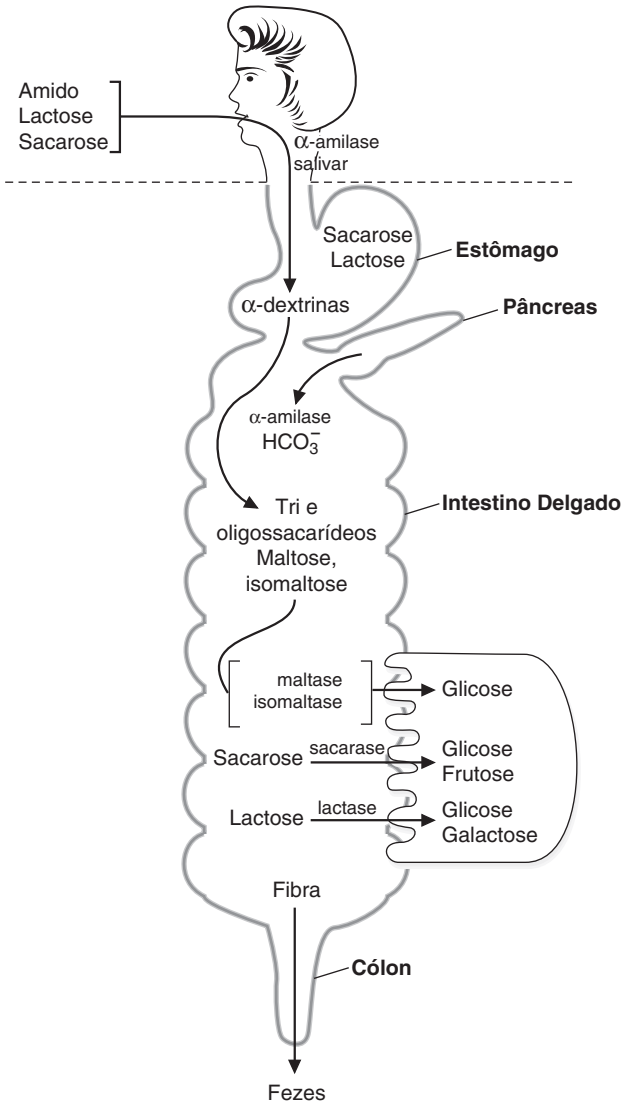


Figura 27.2 Visão geral da digestão de carboidratos. Ocorre primeiro a digestão de carboidratos, seguida da absorção de monossacarídeos. Após a absorção dos carboidratos, ocorrem reações metabólicas subseqüentes.

outros carboidratos não-digeríveis podem ser convertidos em gases (H_2, CO_2 e metano) e em ácidos graxos de cadeia curta (principalmente ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico) pela ação das bactérias do cólon.

*A **glicose**, a **galactose** e a **frutose** formadas pela digestão enzimática são transportadas para dentro das células epiteliais absortivas do intestino delgado por **transporte ativo mediado por proteína Na^+ dependente** e por **difusão facilitada**. Os monossacarídeos são transportados por essas células para o sangue e circulam entre o fígado e os tecidos periféricos, onde eles são captados por transporte facilitado. O transporte passivo da glicose por meio da célula epitelial e de outras células de membranas é mediado por uma família de transportadores, as **proteínas transportadoras específicas de glicose** (**GLUT I-V**). O tipo de transportador encontrado em cada célula reflete o metabolismo da glicose naquela célula.*

SALA DE ESPERA

Deria Voider é uma estudante de intercâmbio de 20 anos de idade, da Nigéria, que observou distensão gastrintestinal, cólicas abdominais e diarréia intermitente desde que chegou aos Estados Unidos, há seis meses. Uma anamnese cuidadosa mostra que esses sintomas ocorrem mais comumente cerca de 45 minutos a 1 hora após ela tomar café da manhã, mas também podem ocorrer após outras refeições. Produtos lácteos, que não fazem parte da dieta de Deria na Nigéria, foram identificados como prováveis agentes agressores, pois seus sintomas gastrintestinais desapareceram quando o leite e produtos lácteos foram eliminados de sua dieta.

Os níveis de glicose sangüínea de jejum e pós-prandial de **Ann Sulin** estão freqüentemente acima da faixa normal, apesar da boa aderência à terapia com insulina. Seu médico a encaminhara para um nutricionista hábil em treinar pacientes diabéticos na aplicação de uma dieta apropriada da American Diabetes Association. Como parte do programa, foi solicitado a Sra. Sulin que incorporasse alimentos contendo fibras na sua dieta, como grãos integrais (p. ex., trigo, aveia, milho), legumes (p.ex., ervilhas, feijão, lentilha), tubérculos (p. ex., batatas, amendoim) e frutas.

Nona Melos (sem doces) é uma menina de 7 meses de idade, a segunda filha de pais sem parentesco. Sua mãe teve uma gestação saudável, a termo, e o nascimento de Nona foi normal. Ela não respondeu bem à amamentação no peito e teve sua alimentação trocada para uma fórmula baseada em leite de vaca quando tinha 4 semanas de idade. Entre 7 e 12 semanas de idade, ela foi internada duas vezes com história de gritar após a alimentação, mas liberada após observação sem um diagnóstico específico. A eliminação de leite de vaca de sua dieta não aliviou seus sintomas; a mãe de Nona relatou que os surtos de gritos eram piores após a menina beber suco e que ela freqüentemente tinha gases e o abdômen distendido. Aos 7 meses, ela ainda estava crescendo (peso acima do percentil 97) sem achados anormais ao exame físico. Foi coletada uma amostra de fezes.

I. CARBOIDRATOS DA DIETA

Os carboidratos são a maior fonte de calorias na média das dietas dos americanos e normalmente constitui de 40 a 45% de calorias consumidas pelos seres humanos. Nas plantas, os amidos amilopectina e amilose, os quais estão presentes em grãos, tubérculos e vegetais, constituem cerca de 50 a 60% das calorias de carboidratos consumidas. Esses amidos são polissacarídeos, contendo de 10 mil a 1 milhão de unidades glicosídicas. Na amilose, os resíduos glicosil estão ligados, via ligações glicosídicas α-1,4, formando uma estreita cadeia; na amilopectina, a cadeia α-1,4 contém ramificações conectadas, via ligações glicosídicas α-1,6 (ver Figura 27.1). O outro principal açúcar encontrado em frutas e vegetais é a sacarose, um dissacarídeo da glicose e da frutose (ver Figura 27.1). A sacarose e pequenas quantidades dos monossacarídeos glicose e frutose são os principais carboidratos encontrados na fruta, no mel e em vegetais. A fibra dietética, aquela porção da dieta que não pode ser digerida pelas enzimas humanas do trato intestinal, também é composta principalmente por polissacarídeos de plantas e um polímero chamado liginina.

Muitos alimentos derivados de animais, como carne ou peixe, contêm poucos carboidratos – exceto pequena quantidade de glicogênio (que tem estrutura similar à amilopectina) e glicolipídeos. O principal carboidrato da dieta de origem animal é a lactose, um dissacarídeo composto de glicose e galactose encontrado exclusivamente no leite e em produtos lácteos (ver Figura 27.1).

O carboidrato alimentar em sucos de fruta e outros doces é a sacarose, um dissacarídeo composto por glicose e frutose unidas através de carbonos anômeros. Os sintomas de **Nona Melos** de dor e distensão abdominal são causados por uma inabilidade de digerir sacarose ou absorver frutose, as quais são convertidas em gás pela colônia bacteriana. *Melos*, do latim, significa açucarado, e seu nome, "não-açucarado". As fezes, no exemplo de Nona Melos, apresentaram um pH de 5 e receberam um teste positivo para açúcar. A possibilidade de má absorção de carboidratos foi considerada, e um teste de hálito para hidrogênio foi recomendado.

Doces, em forma de sacarose e xarope de cereal com alta frutose (amido, em parte hidrolisado e isomerizado a frutose), também aparecem na dieta como aditivo de alimentos processados. Em média, uma pessoa nos Estados Unidos consome por ano 29.484 kg ou mais de sacarose e 18.144 kg de xarope de cereal sólido com alta frutose.

Os bloqueadores de amido foram considerados, anos atrás, como uma maneira de perder peso sem precisar se exercitar ou diminuir a dieta calórica consumida. Tais bloqueadores foram baseados em uma proteína encontrada em grãos, a qual bloqueia a atividade da amilase. Então, como diz a propaganda, pode-se comer uma grande quantidade de amido durante a refeição, e, enquanto for utilizado o bloqueador, o amido deverá passar pelo tubo digestivo sem ser metabolizado. No entanto, os bloqueadores de amido nunca se mostraram muito efetivos em promover a diminuição de peso. Isso provavelmente deve-se a uma combinação de fatores, como inativação do inibidor pelo baixo pH do estômago e um excesso da atividade da amilase comparada com a quantidade de bloqueadores de amido ingerida. Recentemente esse assunto tem sido revisado, e foi desenvolvido um bloqueador de amido a partir do trigo, cuja ação corresponde à do anúncio. Contudo, vários outros trabalhos são necessários para determinar se o inibidor de amilase será seguro e efetivo em humanos.

Embora muitas células requeiram glicose para funções metabólicas, nem glicose nem outro açúcar são especificamente necessários na dieta. A glicose pode ser sintetizada a partir de muitos aminoácidos encontrados em alimentos protéicos. Frutose, galactose, xilose e todos os outros carboidratos requeridos para processos metabólicos em humanos podem ser sintetizados a partir da glicose.

II. DIGESTÃO DE CARBOIDRATOS DA DIETA

No trato digestivo, polissacarídeos e dissacarídeos são convertidos em monossacarídeos pelas glicosidases, enzimas que hidrolisam a ligação glicosídica entre os monossacarídeos. Todas essas enzimas apresentam alguma especificidade para carboidratos, ligações glicosídicas (α e β) e o número de sacarídeos na cadeia. Os monossacarídeos formados pelas glicosidases são transportados pelas células da mucosa intestinal para o fluido intestinal e, conseqüentemente, entram na corrente sangüínea. Carboidratos não-digeridos passam para o cólon, onde podem ser fermentados pelas bactérias.

A. A α-Amilase Salivar e Pancreática

A digestão do amido (amilopectina e amilose) começa na boca, onde a mastigação mistura o alimento com a saliva. As glândulas salivares secretam aproximadamente 1 litro de líquido por dia na boca, o qual contém a α-amilase salivar e outros componentes. A α-amilase é uma endoglicosidase, o que significa que ela hidrolisa ligações internas de α-1,4 entre resíduos de glicose em intervalos casuais nas cadeias polissacarídicas (Figura 27.3). A menor cadeia polissacarídica formada é chamada de α-dextrina. A α-amilase salivar pode ser bastante inativada pela acidez do conteúdo estomacal, o qual contém HCl secretado pelas células pépticas.

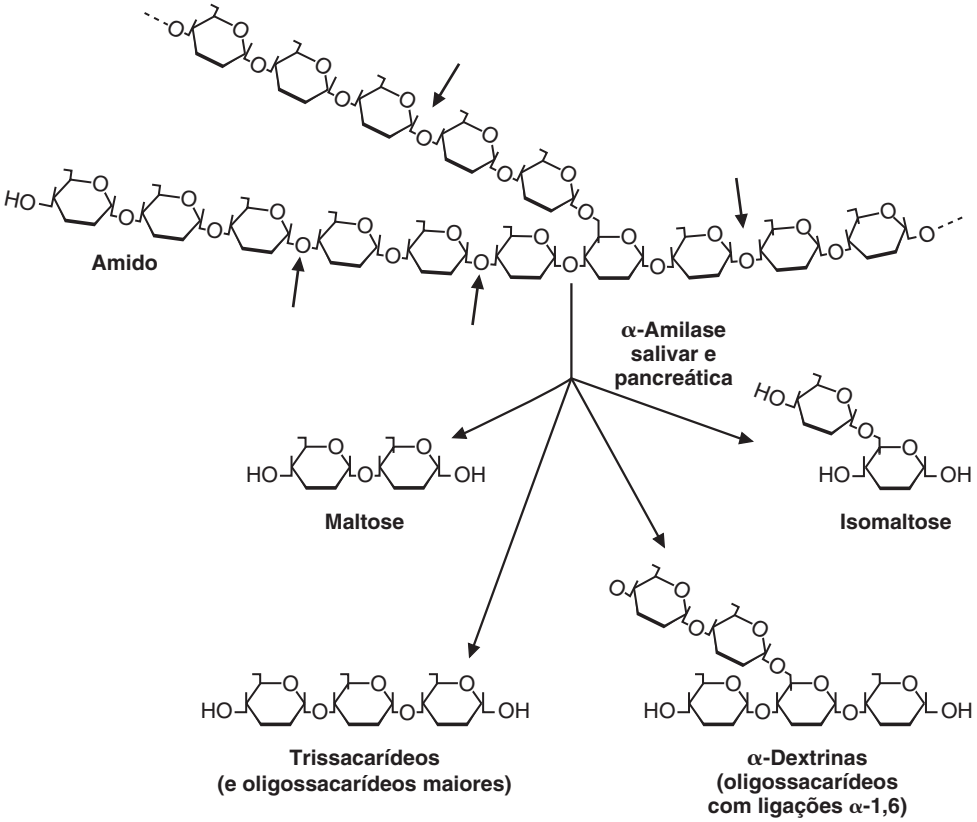


Figura 27.3 Ação da α-amilase salivar e pancreática.

O suco ácido gástrico entra no duodeno, a parte superior do intestino delgado, onde a digestão continua. Secreções do pâncreas exócrino (aproximadamente 1,5 L/dia) passam pelo ducto pancreático e também entram no duodeno. Essas secreções contêm bicarbonato (HCO_3^-), o qual neutraliza o pH ácido do conteúdo gástrico, e enzimas digestivas como a α-amilase pancreática.

A α-amilase pancreática continua a hidrolisar os amidos e o glicogênio, formando dissacarídeos maltose, trissacarídeos maltotriose e oligossacarídeos. Esses, chamados de dextrinas limites, apresentam, em geral, quatro a nove unidades glicosil e contêm uma ou mais ramificações com ligações α-1,6. Os dois resíduos glicosil que contêm a ligação α-1,6 irão se tornar o dissacarídeo isomaltose, mas a α-amilase não quebra esses oligossacarídeos ramificados no processo após a formação de isomaltose.

A α-amilase pancreática não possui outra atividade relativa aos carboidratos contendo outros polímeros diferentes daqueles formados por glicoses unidas por ligações α-1,4. A α-amilase não apresenta atividade referente às ligações α-1,6 dos pontos de ramificações e tem pouca atividade para ligações α-1,4 da extremidade não-redutora do final da cadeia.

B. Dissacaridases da Borda em Escova da Membrana Intestinal

Os dissacarídeos da dieta, lactose e sacarose, assim como os produtos da digestão do amido, são convertidos em monossacarídeos pelas glicosidases ligadas a células digestivas da membrana em forma de escova (Figura 27.4). A diferença das atividades das glicosidases são encontradas em quatro glicoproteínas: a glicoamilase, o complexo sacarose-maltose, a menor glicoproteína trealase, e a lactase-glicosilceramidase (Tabela 27.1). Essas glicosidases são coletivamente chamadas dissacaridases do intestino delgado, embora a glicoamilase seja, na verdade, uma oligossacaridase.

1. GLICOAMILASE

A glicoamilase e o complexo sacarose-isomaltase têm estruturas similares e apresentam uma boa homogeneidade em suas seqüências (Figura 27.5). Um domínio de uma proteína integral próximo à extremidade N-terminal fixa a proteína à membrana do lúmen intestinal. A longa cadeia de polipeptídeo forma dois domínios globulares, cada um com um sítio catalítico. Na glicoamilase, os dois sítios catalíticos têm atividade semelhante, somente com pequenas diferenças na especificidade do substrato. A proteína é fortemente glicosilada com oligossacarídeos que a protegem das proteases digestivas.

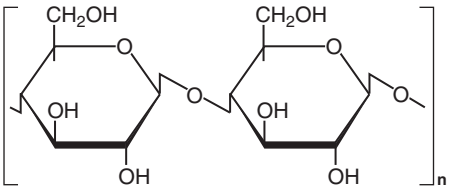
A glicoamilase é uma exoglicosidase específica para ligações α-1,4 entre resíduos glicosílicos (Figura 27.6). Ela inicia sua ação pela extremidade não-redutora de um polissacarídio ou dextrina limite e, seqüencialmente, hidrolisa as ligações para liberar os monossacarídeos de glicose. Ela irá digerir a dextrina limite em isomaltose, o dissacarídeo com ramificações α-1,6, que é subseqüentemente hidrolisado no complexo sacarase-isomaltase, principalmente pela atividade da isomaltase.

2. COMPLEXO SACARASE-ISOMALTASE

A estrutura do complexo sacarase-isomaltase é muito similar à da glicoamilase, e essas duas proteínas têm alto grau de seqüências homólogas. No entanto, depois que a cadeia polipeptídica simples da sacarase-maltase é inserida através da membrana e a proteína projeta-se para dentro do lúmen intestinal, uma protease intestinal quebra-se em duas subunidades separadas que permanecem ligadas entre si. Cada subunidade tem um sítio catalítico que difere uma da outra quanto à especificidade do substrato por interação não-covalente. O sítio da sacarase-maltase conta com aproximadamente 100% da habilidade do intestino em hidrolisar a sacarose, em adição à atividade da maltase; o sítio da isomaltase-maltase conta com praticamente toda a habilidade do intestino em hidrolisar a ligação α-1,6 (Figura 27.7), em adição à atividade da maltase. Juntos, esses sítios contam com cerca de 80% da atividade da maltase no intestino delgado. O restante da atividade da maltase é encontrado no complexo glicoamilase.

A atividade da amilase no intestino é abundante, e normalmente a taxa não é limitante para o processo de digestão. A pancreatite induzida por álcool ou cirurgias de remoção de uma parte do pâncreas podem diminuir as secreções pancreáticas. As secreções exócrinas do pâncreas também podem ser diminuídas por fibrose cística, na qual o músculo bloqueia os ductos pancreáticos, que eventualmente degeneram. Entretanto, a secreção exócrina do pâncreas pode diminuir em 10% do normal sem afetar a taxa de digestão de amido, pois as amilases são secretadas na saliva e no fluido pancreático em quantidade excessiva. De forma contrária, a digestão de proteínas e gorduras é afetada mais fortemente na fibrose cística.

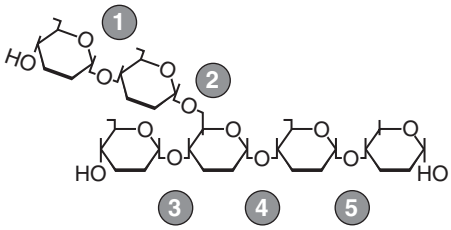
Q:



As ligações glicosídicas da estrutura mostrada acima podem ser hidrolisadas pela α-amilose?

Indivíduos com deficiência genética no complexo sacarase-isomaltase apresentam sintomas de intolerância à sacarose, mas são aptos a digerir quantidades normais de amido nas refeições sem problemas. A atividade da maltase no complexo glicoamilase e a atividade residual no complexo sacarase-isomaltase (o qual normalmente está presente em quantidade maior do que a necessária) são aparentemente suficientes para digerir quantidade normal de amido da dieta.

Q:



Quais das ligações da estrutura acima são hidrolisadas pelo complexo sacarase-isomaltase? Quais pela glicoamilase?

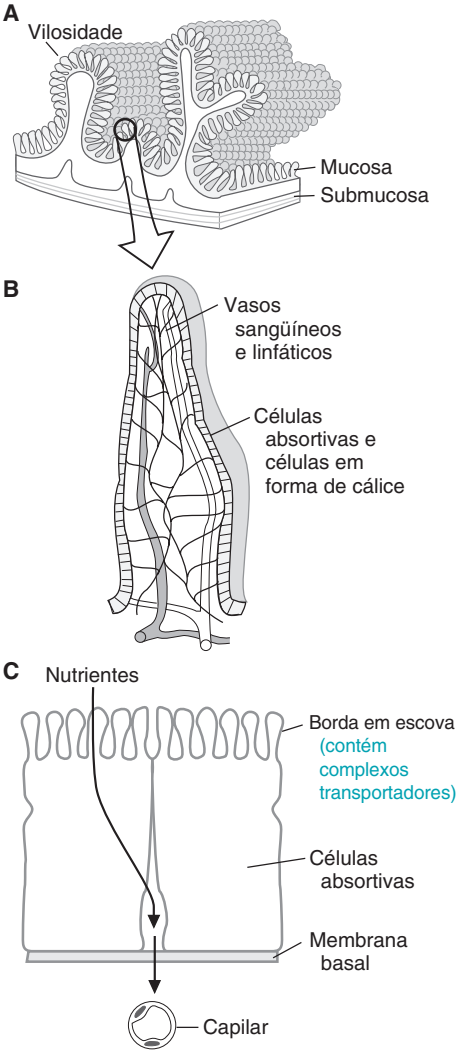


Figura 27.4 Localização do complexo dissacarídeo nas vilosidades intestinais.

Tabela 27.1 As Diferentes Formas de Glicosidases da Borda em Escova

Complexo	Sítios Catalíticos	Atividades Principais
β-Glicoamilase	α-Glicosidase	Quebrar as ligações glicosídicas α-1,4 entre as unidades glicosílicas, começando seqüencialmente com o resíduo de cada final (extremidade não-redutora) da cadeia. Essa é uma exoglicosidase. Os substratos incluem amilase, amilopectina, glicogênio e maltose.
	α-Glicosidase	Como a anterior, mas com pequenas diferenças na especificidade e na afinidade pelo substrato.
Sacarase-isomaltase	Sacarase-maltase	Quebra sacarose, maltose e maltotriose.
	Isomaltase-maltase	Quebra as ligações α-1,6 em um número de dextrinas limites, bem como ligações α-1,4 em maltose e maltotriose.
β-Glicosidase	Glicosilceramidase Florizina-hidrolase	Quebra ligações β-glicosídicas entre glicose ou galactose e resíduos hidrofóbicos, como os glicolipídicos glicosilceramida e galactosilceramida.
	Lactase	Quebra ligações β-1,4 entre glicose e galactose. Com menor extensão, também divide ligações β-1,4 entre alguns dissacarídeos de celulose.
Trealase	Trealase	Quebra ligações na trealose, a qual corresponde a 2 unidades glicosílicas unidas por α-1,1 por meio de seus carbonos anômeros.

3. TREALASE

A trealase tem somente a metade do comprimento de outras dissacaridases e possui apenas um sítio catalítico. Ela hidrolisa a ligação glicosídica presente na trealose, um dissacarídeo composto de duas unidades glicosílicas unidas por uma ligação α entre os seus carbonos anômeros (Figura 27.8). A trealose, que é encontrada em insetos, algas, cogumelos e outros fungos, não é, em geral, o principal componente da dieta nos Estados Unidos. Entretanto, o consumo descontrolado de trealose por um indivíduo que tenha deficiência da enzima pode causar náuseas, vômitos e outros sintomas de um grave desconforto gastrintestinal. A deficiência de trealase foi descoberta quando uma mulher ficou bastante doente após se alimentar com cogumelos, e pensou-se inicialmente que ela havia sido envenenada com α-amanita.

4. COMPLEXO β-GLICOSIDASE (LACTASE-GLICOSILCERAMIDASE)

O complexo β-glicosidase é outra grande glicoproteína encontrada na membrana com borda em escova que tem dois sítios catalíticos estendidos no lúmen do intestino. Entretanto, sua estrutura primária é muito diferente da de outras enzimas, e ele se liga à membrana por meio de seu final carboxílico por uma âncora fosfatidilglicano (veja Figura 10.7). O sítio catalítico da lactase hidrolisa a ligação β que conecta a glicose e galactose na lactose (uma atividade da β-galactosidase, ver Figura 27.9). A principal atividade de outros sítios catalíticos em humanos é a ligação β entre glicose ou galactose e ceramidas em glicolipídeos (esse sítio catalítico é algumas vezes chamado de florizina-hidrolase, denominado por sua habilidade em hidrolisar um substrato artificial).

5. LOCALIZAÇÃO NO INTESTINO

A produção de maltose, maltotriose e dextrinas limite pela α-amilase pancreática ocorre no duodeno, a porção mais proximal do intestino delgado. A atividade da sacarase-isomaltase é maior no jejuno, onde as enzimas podem hidrolisar a sacarose e o produto da digestão do amido. A atividade da β-glicosidase também é maior no jejuno, e a da glicoamilase aumenta progressivamente ao longo da extensão do intestino delgado,

R: Não. Esse polissacarídeo é celulose, que contém ligações glicosídicas β-1,4. α-Amilases salivar e pancreática quebram apenas ligações α-1,4 entre unidades glicosílicas.

R: As ligações (1) e (3) podem ser primeiramente hidrolisadas por glicoamilases. A ligação (2) deve requerer isomaltase. Ligações (4) e (5) podem, então, ser hidrolisadas pelo complexo sacarase-isomaltase, ou pelo complexo glicoamilase, todas essas enzimas podem converter maltotriose e maltose a glicose.

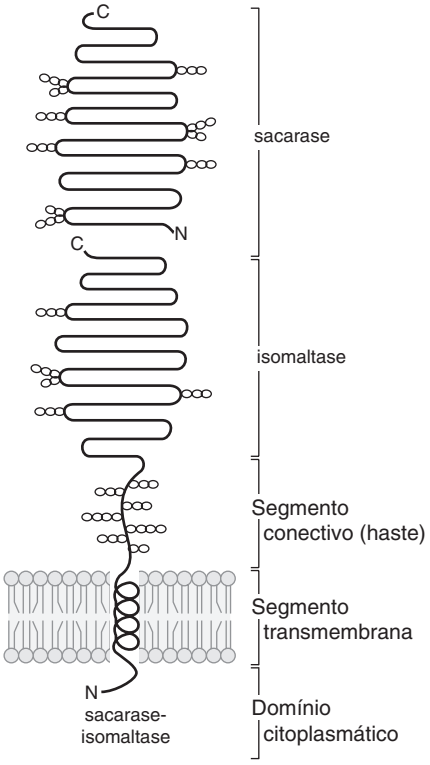


Figura 27.5 A porção principal do complexo sacarase-isomaltase, contendo os sítios catalíticos, projeta-se a partir das células absortivas, dentro do lúmen do intestino. Outro domínio da proteína forma um segmento conectivo (haste) e um segmento ancoradouro que se estende através da membrana até a célula. O complexo é sintetizado como uma cadeia polipeptídica simples dividida em duas subunidades enzimáticas extracelulares. Cada subunidade é um domínio com um sítio catalítico (sacarase-maltase) e sítios isomaltase-maltase. Apesar da atividade de maltase, esses sítios catalíticos são freqüentemente chamados apenas de sacarase e isomaltase.

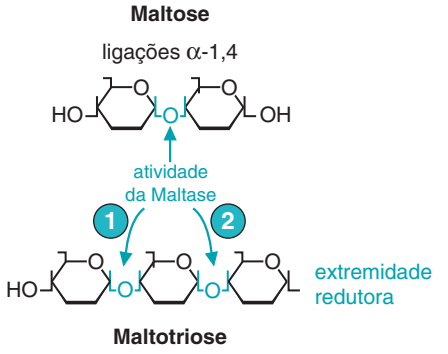


Figura 27.6 Atividade da glicoamilase. A glicoamilase é uma α-1,4 exoglicosidase, a qual inicia clivando o final não-reduzido do carboidrato. Então, para maltotriose, a ligação denominada 1 será hidrolisada primeiro, liberando a ligação na posição 2, sendo esse o próximo ponto a ser hidrolisado.

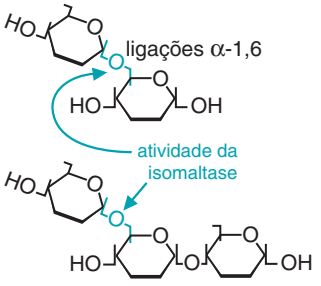


Figura 27.7 Atividade da isomaltase. As flechas indicam as ligações α-1,6 que serão clivadas.

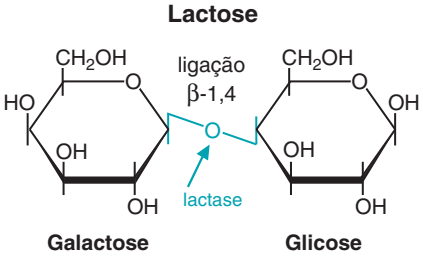


Figura 27.9 Atividade da lactase. A lactase é uma β-galactosidase. Ela cliva o β-galactosídeo lactose, principal carboidrato do leite, formando galactose e glicose.

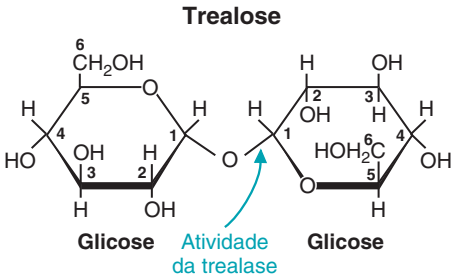


Figura 27.8 Trealose. Esse dissacarídeo contém duas glicoses ligadas por uma ligação não-usual que une seus carbonos anômeros, a qual é clivada pela trealase.

sendo maior no íleo. Portanto, isso representa uma oportunidade final para a digestão de oligômeros do amido que escaparam da atividade da amilase e de dissacaridases nas regiões proximais do intestino delgado.

C. Metabolismo de Carboidratos pela Flora Bacteriana

Nem todo o amido ingerido na dieta é digerido no intestino delgado (Figura 27.10). Amidos com uma porcentagem mais alta de amilose, ou com menor hidratação (p. ex., amido de grãos secos/desidratados), são resistentes à digestão e passam ao cólon, bem como as fibras dietéticas e os carboidratos não-digeridos. Nele, a flora bacteriana rapidamente metaboliza os samarídeos, formando gases, ácidos graxos de cadeia curta e lactato. Os principais ácidos graxos formados são ácido acético (dois carbonos), ácido propiônico (três carbonos) e ácido butírico (quatro carbonos). Os ácidos graxos de cadeia curta são absorvidos pela mucosa das células e podem prover uma substancial porção de energia para essas células. Os principais gases formados são gás hidrogênio (H_2), dióxido de carbono (CO_2) e metano (CH_4). Esses gases são liberados através do

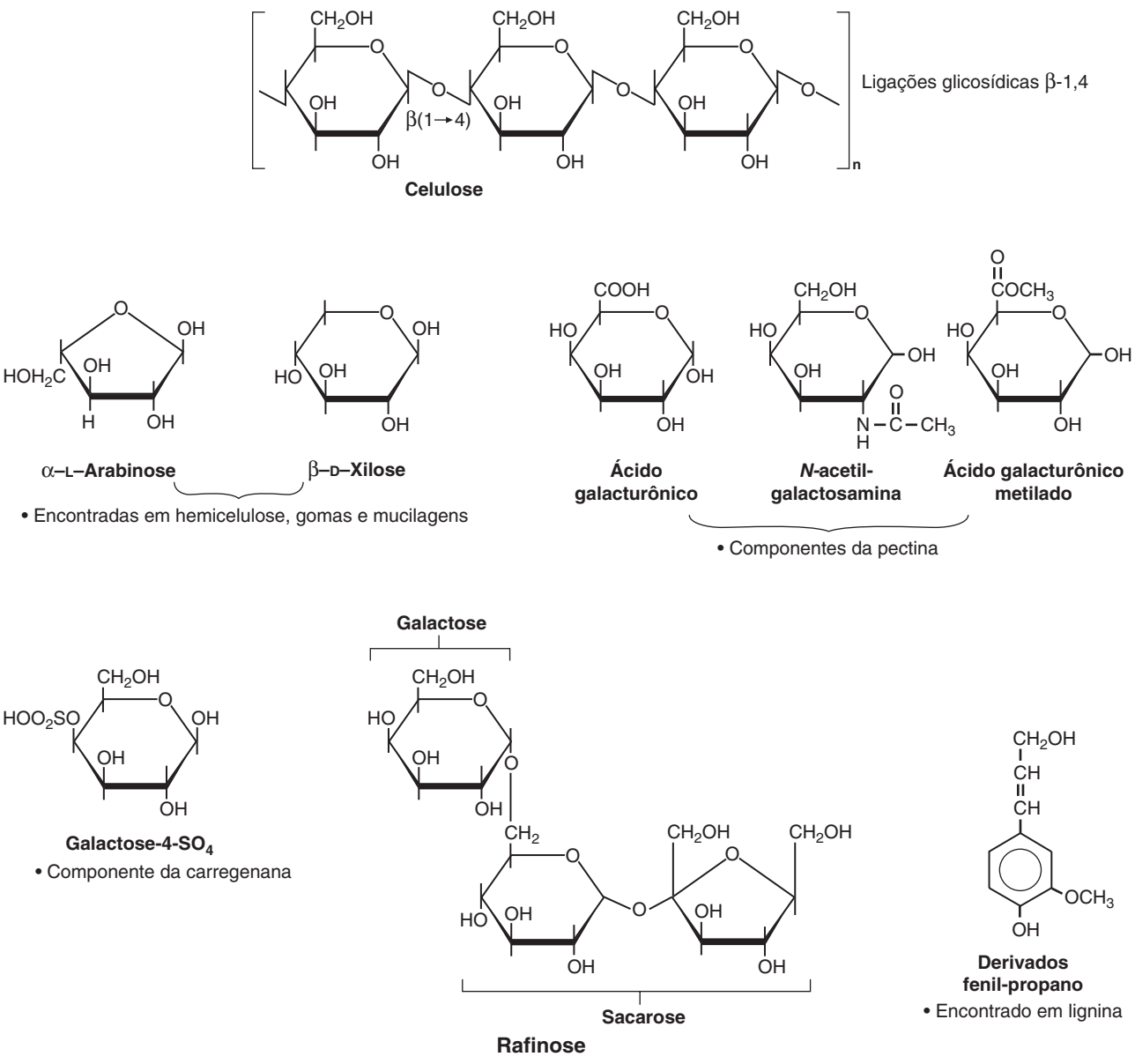


Figura 27.10 Alguns carboidratos não-digestivos. Esses compostos são componentes das fibras dietéticas.

Foi prescrito a Nona Melos o teste de hálito para hidrogênio, um teste que mede a quantidade de gás de hidrogênio expelida após o consumo de uma dose-teste de carboidrato. A associação dos sintomas de Nana Melos à sua ingestão de suco de fruta sugere que ela apresenta um problema resultante da baixa atividade da sacarase ou uma inabilidade de absorver frutose. Seu crescimento e seu adequado ganho de peso sugerem que qualquer deficiência no complexo sacarase-isomaltase deve ser parcial e não resulta em redução funcional importante da atividade da maltase (a atividade da maltase também está presente no complexo glicoamilase). Seu teste de urina foi negativo para carboidratos, sugerindo que o problema está na digestão ou na absorção, pois apenas carboidratos absorvidos e que chegam ao sangue podem ser encontrados na urina. O princípio do teste de hálito para hidrogênio é que, se o carboidrato não for absorvido, ele é metabolizado no lúmen intestinal pelas bactérias que produzem vários gases, incluindo o hidrogênio. O teste é freqüentemente acompanhado pela medida da quantidade de carboidratos nas fezes e no sangue, e da acidez das fezes.

Q: Feijões, ervilhas, sementes de soja e outras plantas leguminosas contendo oligossacarídeos com resíduos de galactose ligados pelos carbonos 1 e 6 (1,6) que não podem ser hidrolisados para absorção, incluindo sacarose com 1, 2 ou 3 resíduos de galactose adicionais (ver Figura 27.10). Qual é o destino desses polissacarídeos no intestino?

cólon, resultando em flatulência, ou pelo hálito. Produtos incompletos da digestão aumentam a retenção de água no cólon, resultando em diarréia.

D. Intolerância à Lactose

A intolerância à lactose corresponde a uma condição de dor, náusea e flatulência após a ingestão de alimentos contendo lactose, mais particularmente produtos provenientes do leite. Embora ela seja freqüentemente causada por baixo nível de lactase, também pode ser resultante de deficiências intestinais (definidas a seguir).

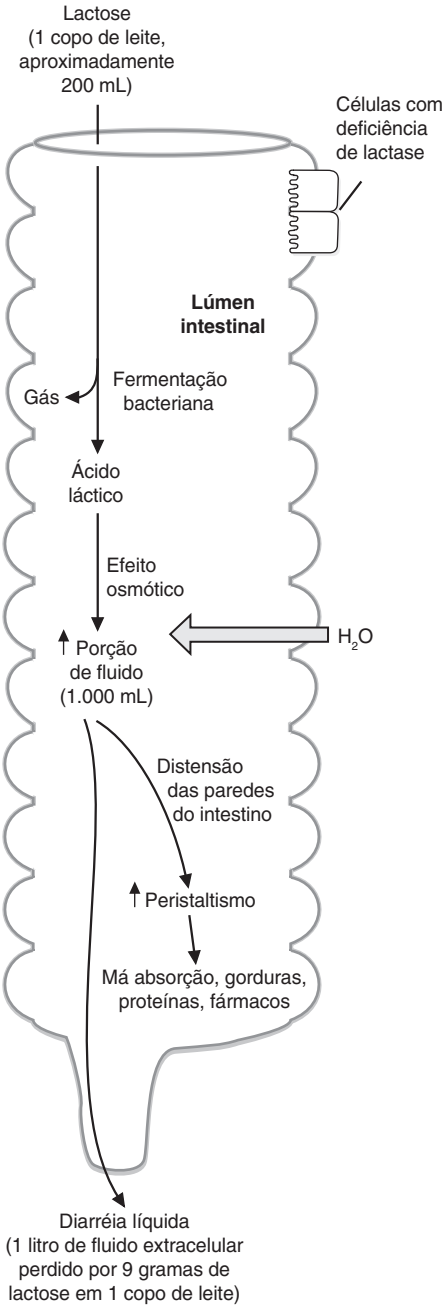
1. LACTASE PERSISTENTE E NÃO-PERSISTENTE

A atividade da lactase evolui em seres humanos por volta da 6ª a 8ª semanas de gestação e aumenta durante o período final da gestação (27ª a 32ª semanas) até o seu término. Ela permanece alta até aproximadamente o primeiro mês após o nascimento e, em seguida, começa a diminuir. Para a maioria da população mundial, a atividade da lactase diminui para o nível adulto por volta dos 5 ou 7 anos de idade (o nível em adultos é 10% menor do que o presente em crianças). As populações com essa característica apresentam hipolactasia adulta (antigamente chamada de deficiência de lactase do adulto) e fenótipo de lactase não-persistente. Em pessoas com descendência principalmente do oeste ocidental e norte europeu e em dependentes de leite das tribos nômades do Sahara Africano, o nível de lactose permanece igual, ou ligeiramente inferior, aos níveis infantis durante toda a fase adulta (fenótipo de lactase persistente). Então, a hipolactasia adulta é a condição normal para a maioria da população mundial (Tabela 27.2).

A intolerância à lactase pode ocorrer tanto devido à deficiência primária de produção da lactase no intestino delgado (como é o caso de Deria Voider) como pode ser secundária a uma patologia da mucosa intestinal, onde a lactase é normalmente produzida. A lactose que não é absorvida é convertida pela flora bacteriana em ácido láctico, gás metano (CH_4) e gás H_2 (ver figura ao lado). O efeito osmótico da lactose e do ácido láctico no lúmen intestinal é responsável pela diarréia freqüentemente vista como parte dessa síndrome. Sintomas similares podem resultar da sensibilidade às proteínas do leite (intolerância ao leite) ou por má absorção de outros carboidratos da dieta.

Em adultos com suspeita de deficiência de lactase, o diagnóstico é feito por dedução, quando a retirada de todos produtos lácteos resulta no alívio dos sintomas, e a readministração desses alimentos reproduz a característica da síndrome. Se o resultado desse procedimento é equivocado, a má absorção de lactose pode ser mais especificamente determinada por medidas do conteúdo de H_2 no hálito do paciente após o consumo de doses de lactose.

Os sintomas de **Deria Voider** não aparecem se forem administrados comprimidos contendo lactase quando do consumo de produtos provenientes do leite.



R: Esses carboidratos não são bem-digeridos pelo intestino humano, mas formam uma boa fonte de energia para a flora bacteriana. Essas bactérias convertem os carboidratos a H_2, ácido láctico e ácidos graxos de cadeia curta. A quantidade de gás formado após a refeição contendo feijão é especialmente notória.

Tabela 27.2 Prevalência de Deficiência Tardia à Lactase

Grupo	Prevalência (%)
População dos EUA	
Asiáticos	100
Índios americanos (Oklahoma)	95
Negros americanos	81
Americanos mexicanos	56
Americanos brancos	24
Outras populações	
Ibo, Yorubano (Nigéria)	89
Italianos	71
Aborígenes (Austrália)	67
Gregos	53
Dinamarqueses	3
Holandes	0

Reproduzida com permissão de Annu Rev Med 1990; 41:145. © 1990 por Annual Reviews, Inc.

2. LESÕES INTESTINAIS

Doenças intestinais que lesam as células absortivas da vilosidade intestinal diminuem a atividade da lactase ao longo do intestino, produzindo uma condição conhecida como deficiência secundária de lactase. *Kwashiorkor* (desnutrição protéica), colites, gastrenterites, afta tropical e não-tropical e consumo excessivo de álcool levam a essa condição. Essa doença também afeta outros dissacarídeos, mas a atividade de sacarase, maltase, isomaltase e glicoamilase é freqüentemente presente em níveis elevados, os quais não apresentam efeitos patológicos. A lactase é em geral a primeira atividade perdida e a última a ser recuperada.

III. FIBRAS DIETÉTICAS

A fibra dietética é a porção da dieta resistente à digestão pelas enzimas digestivas humanas. Consiste principalmente em materiais de plantas que são derivados de polissacarídeos e lignina (Ver Figura 27.10). Os componentes da fibra são freqüentemente divididos em categorias de fibra solúvel ou insolúvel, de acordo com a sua capacidade de se dissolver em água. As fibras insolúveis consistem em três categorias principais: celulose, hemicelulose e ligninas. As categorias de fibras solúveis incluem pectinas, mucilagens e gomas (Tabela 27.3). Embora enzimas humanas não possam digerir fi-

Tabela 27.3 Tipos de Fibra na Dieta

Nomenclatura Clássica	Classes de Componentes	Fonte Dietética
Fibras Insolúveis		
Celulose	Polissacarídeos contendo resíduos glicosílicos unidos por β-1,4	Farinha de trigo, farelos não-processados, couve, ervilhas, grãos verdes, grãos de cera, brócolis, couve de Bruxelas, pepino com pele, pimentas verdes, maçãs e cenouras
Hemicelulose	Polímeros de arabinoxilanas ou galactomananas	Farelo de cereais, todos os grãos, couve de Bruxelas, grãos de mostarda, raízes de beterraba
Lignina	Não-carboidrato, polímeros derivados de fenilpropano	Farelo de cereais de, farelos não-processados, morangos, berinjela, ervilhas, grãos verdes, rabanetes
Fibras solúveis em água (ou dispersantes)		
Substâncias pécticas	Galactourananas, arabinogalactanas, β-glicanos, arabinoxilanas	Sucos, maçãs e frutas cítricas
Gomas	Galactomananas, arabinogalactanas	Farinha de aveia, grãos secos, couve-flor, grãos verdes, couve, cenouras, ervilhas secas, batatas, morangos
Mucilagens	Com grande variedade de ramificações e galactanas substituídas	Semente de linho, *psyllium*, sementes de mostarda

bras, a flora bacteriana do intestino humano normal pode metabolizar fibras dietéticas mais solúveis em gases e ácidos graxos de cadeia curta, mas elas não realizam a digestão do amido e de carboidratos. Alguns desses ácidos graxos podem ser absorvidos e utilizados pelas células epiteliais do cólon do intestino e alguns podem passar ao fígado pela veia porta hepática. Podem ser obtidos até 10% da caloria total do corpo humano a partir de compostos produzidos pela digestão bacteriana de substâncias no trato digestivo.

Em 2002, o Committee on Dietary Reference Intakes emitiu um novo guia para ingestão de fibras: entre 19 a 38 g/dia, dependendo da idade e do sexo do indivíduo. Nenhuma distinção foi feita entre fibras solúveis e insolúveis. Homens adultos de 14 a 50 anos requerem 38 gramas de fibras por dia; mulheres de 4 a 8 anos requerem 25 g/dia, de 9 a 16 anos, 26 g/dia, e de 19 a 30 anos, 25 g/dia. Esses números se elevam na gestação e na amamentação. Um efeito benéfico da fibra é visto na doença diverticular, na qual sacos ou bolsas podem desenvolver-se no cólon devido à fraqueza do músculo e da estrutura da submucosa. Considera-se que a fibra "suavize" a evacuação, reduzindo, portanto, a pressão nas paredes do cólon e promovendo a expulsão das fezes.

Certos tipos de fibras solúveis têm sido associadas à prevenção de doenças. Por exemplo, pectinas podem reduzir o nível de colesterol por promover a ligação dos ácidos biliares, o β-glicano (obtido da aveia) tem demonstrado, em alguns estudos, também ser redutor do nível de colesterol por meio da redução da reabsorção dos ácidos biliares pelo intestino (ver Capítulo 34). A pectina também apresenta benefícios para a dieta de indivíduos com diabetes melito por diminuir a velocidade de absorção de certos açúcares e prevenir a elevação da glicemia sangüínea após as refeições. Entretanto, cada um desses efeitos benéficos relatados é relativamente específico para o tipo de fibra e a forma do alimento que a contém. Esse fator, juntamente com vários outros, tem dificultado a obtenção de resultados conclusivos de estudos sobre o efeito da fibra na saúde humana.



Pectinas são encontradas em frutas, como maçãs. Isso pode ser a base para o provérbio em inglês "uma maçã ao dia deixa o médico longe"?



Carregenana é um tipo de fibra derivada de alga marinha. Ela é composta por sulfato de galactose e derivados do ácido galacturônico (ver Figura 27.10). A carga negativa dos grupos sulfato forma ligações hidrogenadas com água e converte o polissacarídeo em uma substância gelatinosa. A carregeana é adicionada a diversos tipos de alimentos, como sorvete e hambúrgueres do McDonald.

IV. ABSORÇÃO DE CARBOIDRATOS

Uma vez que os carboidratos tenham sido quebrados em monossacarídeos, eles são transportados pelas células epiteliais intestinais até a corrente sangüínea, para serem distribuídos a todos os tecidos. Nem todos os complexos de carboidratos são digeridos na mesma velocidade no intestino, e algumas fontes de carboidratos levam a um aumento praticamente imediato do nível de glicose sangüínea após a ingestão, enquanto outras o fazem lentamente durante o extenso período após a ingestão. O índice glicêmico dos alimentos é um indicativo da velocidade do aumento da concentração sangüínea de glicose após o consumo. A glicose e a maltose apresentam o maior índice glicêmico (142, com pão branco definido como índice de 100). A Tabela 27.4 indica o índice glicêmico de uma variedade de tipos de alimentos. Embora não exista a necessidade de memorizar essa tabela, é importante observar que flocos de milho e batatas possuem alto índice glicêmico, enquanto iogurte e leite desnatado possuem particularmente baixo índice glicêmico.



A resposta glicêmica à ingestão de alimentos não depende somente do índice glicêmico desses, mas também do seu conteúdo de fibras e gorduras, bem como do método de preparo. Carboidratos altamente glicêmicos podem ser consumidos antes ou após o exercício, quando seu metabolismo resulta na rápida entrada de glicose no sangue, onde ela rapidamente está disponível ao músculo. Carboidratos com baixo índice glicêmico entram na circulação sangüínea de forma lenta e podem ser utilizados com maior vantagem se consumidos antes do exercício, assim, quando o exercício aumenta, a glicose está lentamente sendo absorvida pelo intestino para a circulação, onde pode ser usada para manter o nível sangüíneo de glicose durante o período de exercício.



O especialista em dieta explicou a **Ann Sulin** a razão para uma pessoa diabética controlar a alimentação. É importante para Ann adicionar uma variedade de fibras à sua dieta. Formando um gel e retendo água, pectinas e gomas diminuem a velocidade de esvaziamento gástrico e retardam a porção de absorção de dissacarídeos e monossacarídeos, reduzindo, então, a taxa de glicose sangüínea. O índice glicêmico dos alimentos também deve ser considerado para a manutenção do nível apropriado de glicose sangüínea nos pacientes diabéticos. O consumo de uma dieta com baixo índice glicêmico resulta em um aumento menor do nível de glicose após a alimentação, que pode ser mais facilmente controlado por insulina exógena. Por exemplo, a Sra. Sulin é advertida a comer massa e arroz (índice glicêmico 67 e 65, respectivamente) no lugar de batatas (índice glicêmico de 80-120, dependendo do método de preparo) e a incorporar cereais compostos por farelo de trigo, cevada e aveia no seu café da manhã de rotina.

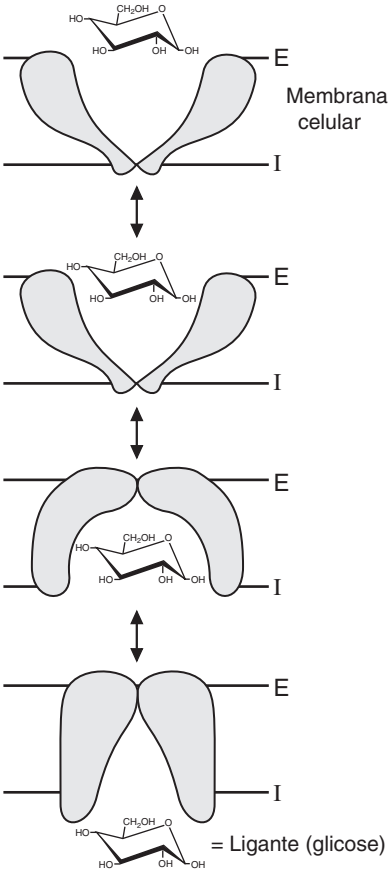


Figura 27.11 Transporte facilitado. O transporte da glicose ocorre sem a rotação da molécula de glicose. Vários grupos da proteína ligam-se aos grupos hidroxila da molécula de glicose e fecham-se por trás dela, que logo é liberada para dentro da célula (p. ex., o transporte ocorre como um "poro de barreira"). E = lado externo; I = lado interno.

A molécula de glicose é extremamente polar e não pode se difundir através da barreira fosfolipídica hidrofóbica da membrana celular. Cada grupo hidroxila da molécula de glicose forma pelo menos duas ligações hidrogênicas com a molécula de água, e seu movimento casual pode requerer energia para deslocar os grupos hidroxila polares das ligações de hidrogênio e para romper as forças Van der Waals entre as cadeias de hidrocarboneto dos ácidos graxos na membrana fosfolipídica.

As células epiteliais dos rins, as quais reabsorvem glicose do sangue, têm transportadores de glicose dependentes de Na^+, similares àqueles das células epiteliais do intestino, que também são capazes de transportar glicose contra seu gradiente de concentração. Outros tipos de células usam principalmente transportadores facilitados de glicose que transportam glicose abaixo de seu gradiente de concentração.

Tabela 27.4 Índice Glicêmico de Alimentos Selecionados, com Valores Ajustados ao do Pão Branco de 100 g

Pães		Legumes	
Pão de Trigo	100	Grãos enlatados	70
Pão de centeio integral	88	Feijão manteiga ou feijão branco	46
Massa		Ervilhas cultivadas (congeladas)	85
Espaguete, branco, fervido	67	Grãos de feijão (secos)	43
		Grãos de feijão (enlatados)	74
		Lentilha verde (enlatada)	74
Cereais		Amendoim	15
Cevada	36	Frutas	
Arroz (instantâneo, fervido por 1 min)	65	Maçã	52
Arroz polido (fervido de 10-25 min)	81	Suco de maçã	45
Milho doce	80	Laranja	59
Cereais do Café da manhã		Passas de uva	93
All bran®	74	Açúcares	
Sucrilhos®	121	Frutose	27
Musli®	96	Glicose	142
Bolos		Lactose	57
Biscoitos de Aveia	78	Sacarose	83
Bolacha de água e sal	100	Produtos Lácteos	
Vegetais de raízes		Sorvete	69
Batatas (instantânea)	120	Todos os leites	44
Batata (nova, branca e fervida)	80	Leite desnatado	46
Batata Frita	77	Iogurte	52
Inhame	74		

A. Absorção pelo Epitélio Intestinal

A glicose é transportada pelas células absortivas do intestino por difusão facilitada e por transporte facilitado dependente de Na^+. (Ver Capítulo 10 para descrição dos mecanismos de transporte.) Ela entra, então, nas células absortivas ligadas às proteínas transportadoras – proteínas integrais de membrana que se ligam à molécula de glicose por um lado da membrana e liberam-na no lado oposto (Figura 27.11). Dois tipos de proteínas transportadoras de glicose estão presentes nas células absortivas do intestino, os transportadores de glicose dependentes de Na^+ e os transportadores por difusão facilitada de glicose (Figura 27.12).

1. TRANSPORTADOR DEPENDENTE DE NA^+

Transportadores de glicose dependentes de Na^+, os quais estão presentes no lado luminal das células absortivas, permitem que essas células concentrem glicose a partir do lúmen intestinal. Uma pequena concentração intracelular de Na^+ é mantida pela Na^+, K^+-ATPase no lado da serosa (sangue) da célula, que utiliza a energia da clivagem do ATP para bombear Na^+ de fora da célula para dentro do sangue. Então, o transporte de pequena concentração de glicose no lúmen para uma maior concentração na célula é promovido por um co-transportador de Na^+ de uma alta concentração no lúmen a uma baixa concentração na célula (transporte ativo secundário).

2. TRANSPORTADORES FACILITADOS DE GLICOSE

O transporte facilitado de glicose, que não envolve ligação com Na^+, possui transportadores localizados no lado da membrana serosa das células. A glicose move-se por transporte facilitado do lado mais concentrado dentro da célula para o menos concentrado no sangue sem gasto de energia. Em adição aos transportadores de glicose

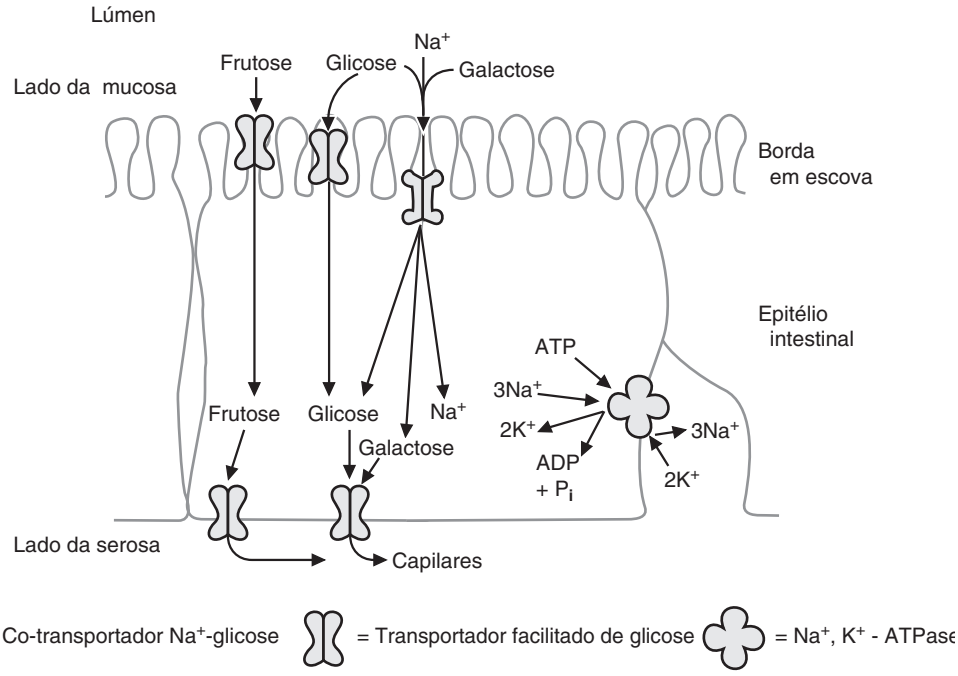


Figura 27.12 Transporte facilitado e dependente de Na^+, nas células epiteliais intestinais. A glicose e a frutose são transportadas por transportadores facilitados de glicose no lúmen e no lado da serosa das células absortivas. Glicose e galactose são transportadas por co-transporte Na^+-glicose no lado luminal (mucosa) das células absortivas.

Tabela 27.5 Propriedades das Isoformas GLUT 1 a GLUT 5 de Proteínas Transportadoras de Glicose

Transportador	Distribuição no Tecido	Comentários
GLUT 1	Eritrócitos humanos Barreira hematencefálica Barreira hematorretina Barreira hematoplacentária Barreira hematotesticular	Expressa em células com função de barreira; é um sistema de transporte com alta afinidade por glicose.
GLUT 2	Fígado Rim Células β-pancreáticas Superfície serosa das células da mucosa intestinal	Transportador de alta capacidade e baixa afinidade. Pode ser utilizado como sensor de glicose no pâncreas.
GLUT 3	Cérebro (neurônios)	Principal transportador no sistema nervoso central; é um sistema de alta afinidade.
GLUT 4	Tecidos adiposos Músculo esquelético Músculo cardíaco	Transportador sensível à insulina. Na presença de insulina, o número de transportadores GLUT 4 aumenta nas células das membranas. É um sistema de alta afinidade.
GLUT 5	Epitélio intestinal Espermatozóides	É atualmente um transportador de frutose.

Técnicas genéticas têm identificado novos transportadores GLUT (GLUT 7-12), mas a função desses ainda não está completamente descrita.

dependentes de Na^+, os transportadores facilitados de glicose também existem no lado luminal das células absortivas. Os vários tipos de transportadores facilitados de glicose encontrados nas células das membranas plasmáticas (referidos como GLUT 1 a GLUT 5) são descritos na Tabela 27.5. Uma estrutura comum a todas essas proteínas são os 12 domínios integrais na membrana. O transportador que se liga ao sódio no lado luminal das células epiteliais intestinais não é um membro da família GLUT.

3. ABSORÇÃO DE GALACTOSE E FRUTOSE PELOS TRANSPORTADORES DE GLICOSE

A galactose é absorvida pelo mesmo mecanismo de absorção de glicose. Ela entra nas células absortivas no lado luminal pelo transportador de glicose dependente de Na^+ e pelos transportadores facilitados de glicose e é transportada ao lado da serosa por esses últimos.

A frutose tanto entra quanto deixa as células absortivas epiteliais por difusão facilitada, aparentemente via proteínas transportadoras que fazem parte da família GLUT. O transportador do lado luminal tem sido identificado como GLUT 5. Embora esse transportador possa transportar glicose, ele possui uma atividade bem maior com frutose (ver Figura 27.12). Outra proteína transportadora de frutose também pode estar presente. Por razões ainda desconhecidas, a frutose é absorvida em uma fração muito mais rápida quando é ingerida como sacarose do que quando é ingerida como monossacarídeo.

B. Transporte de Monossacarídeos para os Tecidos



O eritrócito (célula sangüínea vermelha) é um exemplo de tecido em que o transporte de glicose não é saturável. Embora o transportador de glicose (GLUT 1) tenha um K_m de 1 para 7 mM, ele está presente em concentrações extremamente altas, constituindo cerca de 5% de todas as membranas protéicas. Conseqüentemente, assim que os níveis de glicose caem de um nível pós-prandial de 140 mg/dL (7,5 mM) para o nível normal em jejum de 80 mg/dL (4,5 mM), ou, ainda, para o nível hipoglicêmico de 40 mg/dL (2,2 mM), o reservatório de glicose ainda é adequado para taxas em que a glicólise e a rota da pentose-fosfato operam.

As propriedades das proteínas transportadoras GLUT diferem entre os tecidos, o que reflete na função do metabolismo da glicose em cada tecido. Na maioria dos tipos de células, a velocidade de transporte de glicose de um lado a outro da membrana não é limitante para o metabolismo da glicose. Isso porque a isoforma dos transportadores presentes nesses tipos de células tem um K_m relativamente baixo para glicose (p. ex., uma baixa concentração de glicose irá resultar na metade da fração máxima de transportadores de glicose) ou está presente em uma concentração relativamente alta na membrana celular, de modo que a concentração de glicose intracelular reflete a do sangue. Devido ao fato de a isoenzima hexoquinase presente na célula ter K_m baixo para glicose (0,05 a 0,10 mM), variações no nível de glicose sangüínea não afetam a taxa de fosforilação intracelular de glicose. Entretanto, em determinados tecidos, a velocidade de transporte torna-se limitante quando o nível sérico de glicose está baixo ou quando baixos níveis de insulina sinalizam a ausência da glicose da dieta.

No fígado, o K_m do transportador de glicose (GLUT 2) é relativamente alto em comparação com o de outros tecidos, provavelmente 15 mM ou acima. Isso está em conformidade com a função do fígado de ser um órgão que mantém o nível de glicose no sangue. Dessa forma, o fígado só irá converter a glicose em outra molécula armazenadora de energia quando o nível de glicose estiver alto, como no período imediatamente após uma refeição. No músculo e em tecidos adiposos, o transporte de glicose é geralmente estimulado por insulina. O mecanismo envolve o recrutamento de transportadores de glicose (especificamente, GLUT 4) de vesículas intracelulares para a membrana plasmática. (Figura 27.13). Em tecidos adiposos, o estímulo ao transporte de glicose através da membrana plasmática pela insulina aumenta a sua disponibilidade em sintetizar ácidos graxos e glicerol a partir da rota glicolítica. No músculo esquelético, o estímulo ao transporte de glicose pela insulina aumenta a sua disponibilidade para glicólise e síntese do glicogênio.

V. TRANSPORTE DE GLICOSE ATRAVÉS DA BARREIRA HEMATENCEFÁLICA E PARA DENTRO DE NEURÔNIOS

A resposta hipoglicêmica é identificada por uma diminuição na concentração da glicemia sangüínea a um valor entre 18 e 54 mg/dL (1 e 3 mM). Ela resulta do decréscimo do suprimento de glicose ao cérebro e inicia com uma pequena dor de cabeça e tontura

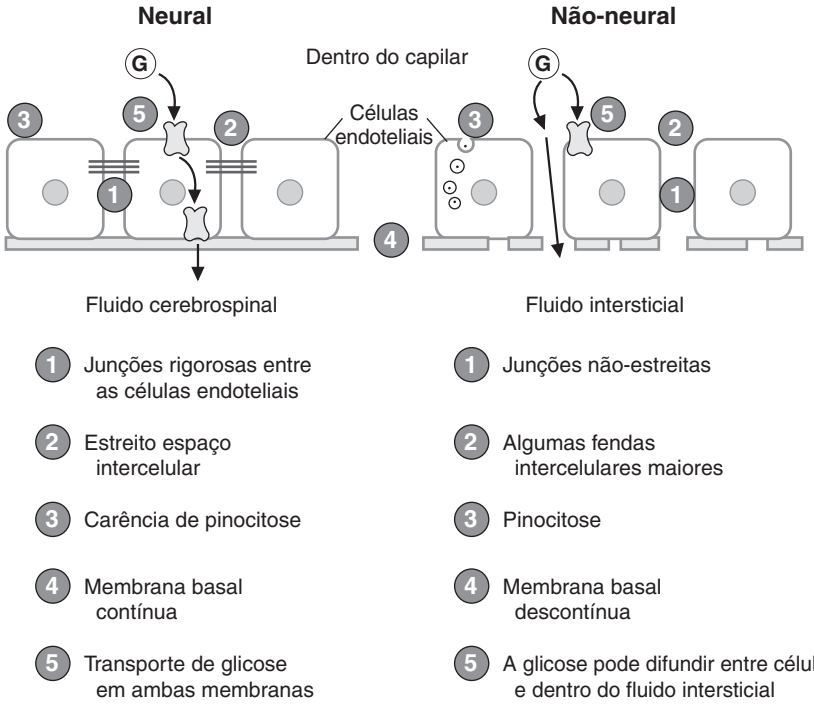


Figura 27.14 Transportador de glicose através do capilar endotelial nos tecidos neurais e não-neurais. Características de transportadores em cada tipo de tecido estão listadas por números referentes aos números do desenho. G = glicose.

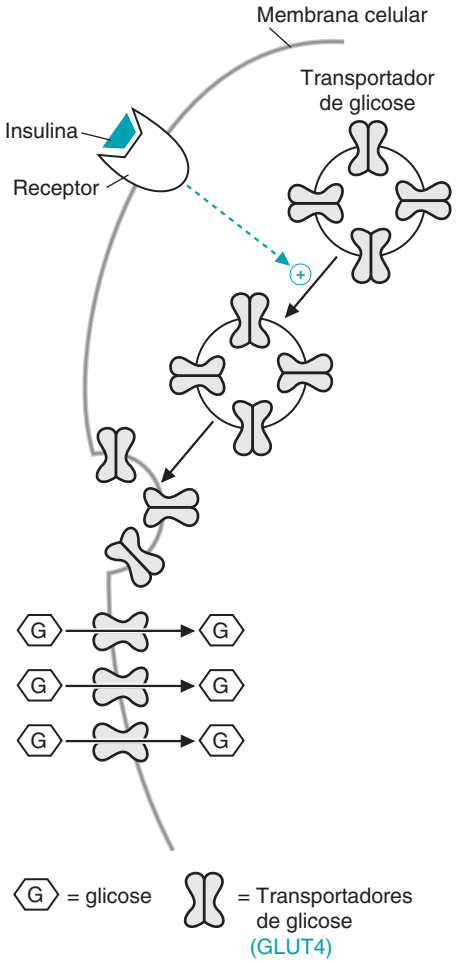


Figura 27.13 Estimulação do transporte de glicose pela insulina dentro do músculo e de células adiposas. A ligação da insulina ao seu receptor celular de membrana resulta em vesículas contendo proteínas transportadoras de glicose que se movem do interior da célula para a membrana.

e pode progredir ao coma. A baixa velocidade de transporte de glicose através da barreira hematencefálica (do sangue ao fluido cerebrospinal) a baixo nível de glicose é considerada a responsável por essa resposta neuroglicopênica. O transporte de glicose do fluido cerebrospinal através da membrana plasmática dos neurônios é rápido, e sua velocidade não depende da produção de ATP a partir da glicólise.

No cérebro, as células endoteliais dos capilares apresentam junções extremamente finas, e a glicose deve passar do sangue ao fluido cerebrospinal extracelular pelo transportador GLUT 1 nas células endoteliais das membranas (Figura 27.14) e, então, através da membrana basal. Medidas de todo o processo de transporte de glicose do sangue ao cérebro (medido por GLUT 3 nas células neuronais) mostram um $K_{m,ap}$ de 7 a 11 mM, e uma velocidade máxima não muito maior do que a fração de glicose utilizada no cérebro. Dessa forma, decréscimos da glicose sangüínea abaixo do nível de jejum de 80 a 90 mg/dL (aproximadamente 5 mM) irão afetar significativamente a taxa do metabolismo de glicose no cérebro, devido à redução do transporte de glicose ao cérebro.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Um em cinco americanos tem alguma forma de desconforto 30 minutos a 12 horas após a ingestão de alimentos ricos em lactose. A maioria fica sintomática quando eles consomem mais do que 25 g de lactose de uma vez (p.ex., 1 copo – 400 mL – de leite ou seu equivalente). Os sintomas de **Deria Voider** são causados por sua "nova" dieta neste país, a qual incluía um copo de leite além do leite utilizado em seu cereal no café da manhã todos os dias.

Manejo da intolerância à lactose inclui reduzir ou evitar alimentos contendo lactose dependendo da gravidade da deficiência de lactase intestinal. Queijos duros (cheddar, suíço, Jarlsberg) têm pouca lactose e podem ser tolerados por pacientes com uma deficiência apenas moderada de lactase. Iogurte com "culturas vivas e ativas" impressos em seus rótulos contêm bactérias que liberam lactases livres quando a bactéria é

liberada por ácido gástrico e enzimas proteolíticas. As lactases livre, então, digerem a lactose. Produtos lácteos disponíveis comercialmente que tenham sido hidrolisados com uma enzima lactase fornecem uma redução de 70 % no conteúdo total de lactose, o que pode ser adequado para prevenir sintomas digestivos em pacientes afetados levemente. Comprimidos e cápsulas contendo lactase estão também disponíveis e devem ser tomados meia hora antes das refeições.

Muitos adultos que têm uma deficiência de lactase desenvolvem a habilidade de ingerir pequenas quantidades de lactose em produtos lácteos sem ter sintomas. Essa adaptação provavelmente envolve um aumento na população de bactérias no cólon que podem quebrar lactose e não uma recuperação ou indução da síntese de lactase. Para muitos indivíduos, produtos lácteos são as principais fontes de cálcio, e sua eliminação completa da dieta pode levar a osteoporose.

Lactose, contudo, é utilizada como um "complemento" ou agente carreador em mais de 1.000 medicamentos e drogas nos Estados Unidos. Pessoas com intolerância à lactose freqüentemente ingerem-na sem saber com suas medicações.



Pacientes mal controlados como **Ann Sulin** freqüentemente têm elevações nos níveis séricos de glicose (hiperglicemia). Isso é freqüentemente atribuído a uma falta de insulina circulante ativa, a qual estimulará a captação de glicose (por meio do recrutamento de transportadores GLUT 4 do retículo endoplasmático para a membrana plasmática) nos tecidos periféricos (coração, músculo e tecido adiposo). Sem a captação por esses tecidos, a glicose tende a se acumular na corrente sangüínea, levando à hiperglicemia.



A grande quantidade de H_2 produzida pela ingestão de frutose sugeriu que o problema de **Nona Melos** era uma deficiência no transporte de frutose para dentro das células de absorção dos vilos instetinais. Se a frutose estivesse sendo absorvida apropriadamente, ela não teria chegado às bactérias do cólon, as quais metabolizaram a frutose gerando o gás hidrogênio. Para confirmar o diagnóstico, foi realizada uma biópsia de jejuno; as atividades da lactase, sacarase, maltase, e trealase estavam normais nas células do jejuno. O tecido foi testado também para enzimas do metabolismo da frutose; essas estavam também na faixa normal. Embora Nona não tenha açúcar na urina, a má absorção de dissacarídeos pode resultar em seu aparecimento na urina se lesão das células da mucosa intestinal permitem sua passagem para o líquido intestinal. Quando Nona passou a receber uma dieta sem sucos de frutas e outros alimentos contendo frutose, ela melhorou e pôde tolerar quantidades pequenas de sacarose pura.

É estimado que mais de 50 % da população adulta são incapazes de absorver frutose em altas doses (50 g), e mais de 10% não podem absorver 25 g de frutose. Esses indivíduos, como aqueles com distúrbios do metabolismo da frutose, devem evitar frutas e outros alimentos contendo altas concentrações de frutose.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



A cólera é uma intensa diarréia aquosa causada por uma bactéria gram-negativa, nascida na água, *Vibrio cholerae*. Ela é uma doença antiga; descrições epidêmicas são encontradas com datas anteriores a 500 a. C. Durante os surtos epidêmicos, a infecção é difundida por um grande número de vibriões que entram em caixas d'água a partir de volumosas fezes líquidas e contaminam o ambiente, principalmente em áreas de extrema pobreza, onde encanamento e sistemas modernos de descarte de lixo não existem.

Após ser ingerido, o *V. cholerae* liga-se à membrana com borda em escova do intestino e secreta uma exotoxina que se une irreversivelmente a um específico receptor químico (G_{m1} gangliosídeo) na superfície da célula. Tal exotoxina catalisa uma reação

de ADP-ribosilação que aumenta a atividade da adenilato-ciclase e, dessa forma, os níveis de AMPc no enterócito. Como resultado, a absorção normal de sódio, ânions e água a partir do lúmen é significativamente diminuída. A exotoxina também estimula as células do folículo (cripta) a secretarem cloreto, acompanhado por cátions e água, a partir da corrente sangüínea para dentro do lúmen do estômago.

Em conseqüência disso, a perda de solutos com o fluido da diarréia pode, em casos graves, exceder a 1 litro/hora, levando a uma rápida desidratação e até mesmo à morte.

A terapia indicada para o tratamento da cólera apresenta a vantagem de que os transportadores Na^+-dependentes para glicose e aminoácidos não são afetados pela exotoxina da cólera. Então, a co-administração via oral de glicose e Na^+ resulta na reposição de glicose e Na^+, acompanhados de cloreto e água, dessa forma praticamente corrigindo a deficiência de íons e a perda de fluidos. Aminoácidos e pequenos peptídeos também são absorvidos por co-transporte Na^+-dependente envolvendo transportador de proteínas distinto ao transportador de glicose Na^+-dependente. Contudo, a adição de proteínas na solução de reposição de sódio e glicose aumenta sua efetividade e diminui significativamente a severidade da diarréia. Terapia adjuvante com antibiótico também pode diminuir a fase diarréica da cólera, mas não supre a necessidade da reposição oral da terapia relatada anteriormente.

Leituras Sugeridas

Bell GJ, Burant CF, Takeda J, Gould GW. Structure and function of mammalian facilitative sugar transporters. J Biol Chem 1993;278:19161-19164.

Brown GK. Glucose transporters: structure, function and consequences of deficiency. J Inherit Metab Dis 2000;23:237-246.

Buller HA, Grand RJ. Lactose intolerance. Annu Rev Med 1990;41:141-148.

Linder MC, ed. Nutrition and metabolism of carbohydrates. In: Nutritional Biochemistry and Metabolism with Clinical Applications, 2nd Ed. New York: Elsevier, 1991:21-50.

Semenza G, Auricchio S, Mantei, N. Small-intestinal disaccharidases. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The metabolic and molecular bases of inherited disease, 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:1623-1650.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 27

1. O principal transportador responsável pelo transporte facilitado de frutose do sangue para o interior das células é qual dos seguintes?

   (A) GLUT 1
   (B) GLUT 2
   (C) GLUT 3
   (D) GLUT 4
   (E) GLUT 5

2. Um paciente alcoólatra desenvolveu uma pancreatite que afetou sua função exócrina pancreática. Ele apresentava desconforto após alimentar-se com uma dieta rica em carboidrato. O paciente deve ter tido uma redução na habilidade de digerir qual dos seguintes componentes?

   (A) Amido
   (B) Lactose
   (C) Fibra
   (D) Sacarose
   (E) Maltose

3. Um paciente diabético tipo 1 nega-se a tomar insulina durante a semana de férias. As células de qual tecido podem ser mais afetadas por essa falha?

   (A) Cérebro
   (B) Fígado
   (C) Músculo
   (D) Células sangüíneas vermelhas
   (E) Pâncreas

4. Após a ingestão de um pedaço de bolo, que tem como ingredientes principais farinha, leite e sacarose, qual dos seguintes carboidratos é o principal a atingir a circulação sangüínea?

   (A) Glicose
   (B) Frutose e galactose

(C) Galactose e glicose
(D) Frutose e glicose
(E) Glicose, galactose e frutose

5. Um paciente apresenta uma alteração genética que estimula as células epiteliais do intestino a produzirem dissacaridases com uma atividade muito menor do que o normal. Comparando-o com uma pessoa normal, após ingerir um copo de leite e farinha de aveia adoçada com um tablete de açúcar, esse paciente vai apresentar uma concentração maior de qual dos seguintes componentes?

(A) Maltose, sacarose e lactose nas fezes
(B) Amido nas fezes
(C) Galactose e frutose no sangue
(D) Glicogênio no músculo
(E) Insulina no sangue

28 Formação e Degradação de Glicogênio

O glicogênio é a forma de armazenamento da glicose encontrada na maioria dos tipos celulares. Ele é composto de unidades glicosil unidas por ligações ***glicosídicas α-1,4****, com* ***ramificações α-1,6*** *ocorrendo aproximadamente a cada 8 a 10 unidades glicosil (Figura 28.1). O fígado e o músculo esquelético contêm as maiores reservas de glicogênio.*

A formação de glicogênio a partir de glicose é uma rota que necessita de energia que inicia, como a maioria do metabolismo da glicose, com a fosforilação da glicose a ***glicose-6-fosfato****. A síntese de glicogênio a partir de* ***glicose-6-fosfato*** *envolve a formação de uridina-difosfato-glicose (****UDP-glicose****) e a transferência de unidades glicosil da UDP-glicose para a extremidade da cadeia de glicogênio pela enzima glicogênio-sintase. Quando a cadeia atinge aproximadamente 11 unidades glicosil, uma* ***enzima ramificadora*** *move 6 a 8 unidades para formar uma ramificação α (1,6).*

A ***glicogenólise****, a rota para a degradação do glicogênio, não é o reverso da rota de biossíntese. A enzima de degradação* ***glicogênio-fosforilase*** *remove uma unidade glicosil por vez da extremidade da cadeia de glicogênio, convertendo-a em* ***glicose-1-fosfato*** *sem ressintetizar UDP-glicose ou UTP. Uma* ***enzima desramificadora*** *remove os resíduos glicosil próximos a cada ponto de ramificação.*



A degradação de glicogênio é uma reação de fosforólise (quebra de uma ligação utilizando um íon fosfato como um nucleófilo). As enzimas que catalisam a fosforólise são chamadas de fosforilases. Por existir mais de uma fosforilase, o substrato em geral é incluído no nome da enzima, como glicogênio-fosforilase ou purina-nucleosídeo-fosforilase.

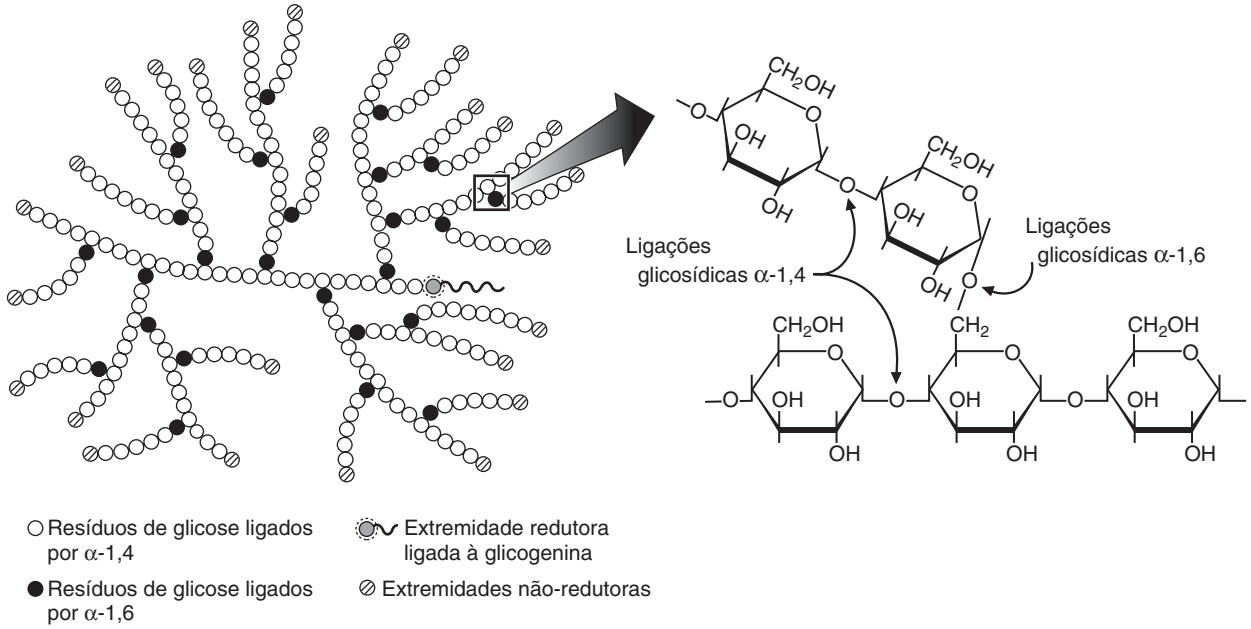


Figura 28.1 Estrutura do glicogênio. O glicogênio é composto por unidades glicosil ligadas por ligações α-1,4 e ligações α-1,6. As ramificações ocorrem com mais freqüência no centro da molécula e com menos freqüência na periferia. O carbono anomérico que não está ligado a outro resíduo glicosil (a extremidade redutora) está ligado à proteína glicogenina por uma ligação glicosídica.

O glicogênio hepático serve como fonte de glicose sangüínea. Para produzir glicose, a glicose-1-fosfato produzida a partir da degradação de glicogênio é convertida a glicose-6-fosfato. A ***glicose-6-fosfatase****, uma enzima encontrada apenas no fígado e nos rins, converte glicose-6-fosfato a glicose livre, a qual, então, entra no sangue.*

A síntese e a degradação de glicogênio são reguladas no fígado por ***alterações hormonais*** *que sinalizam a necessidade de glicose sangüínea (ver Capítulo 26). O corpo mantém os níveis de glicose em jejum em aproximadamente 80 mg/dL, para garantir que o cérebro e os outros tecidos que são dependentes de glicose para a produção de trifosfato de adenosina (ATP) tenham um fornecimento contínuo. A falta de glicose na dieta, sinalizada por uma diminuição na* ***razão insulina/glicose****, ativa glicogenólise e inibe a síntese de glicogênio. A* ***adrenalina****, a qual sinaliza uma utilização aumentada de glicose e outros substratos energéticos para exercício ou situações de emergência, também ativa a glicogenólise hepática. Os hormônios que regulam o metabolismo de glicogênio hepático funcionam principalmente por alterações no estado de* ***fosforilação*** *da glicogênio-sintase na rota de biossíntese e da glicogênio-fosforilase na rota de degradação.*

*No músculo esquelético, o glicogênio fornece glicose-6-fosfato para a síntese de ATP na rota glicolítica. A glicogênio-fosforilase do músculo é estimulada durante exercício pelo aumento do monofosfato de adenosina (****AMP****), um* ***ativador alostérico*** *da enzima, e também por fosforilação. A fosforilação é estimulada por liberação de* ***cálcio*** *durante a contração e pelo hormônio de "luta e fuga" noradrenalina. A síntese de glicogênio é ativada em músculos em repouso pelo aumento de insulina após a ingestão de carboidratos.*

O neonato deve se adaptar rapidamente a um fornecimento intermitente de substrato energético após o nascimento. Quando o cordão umbilical é pinçado, o fornecimento de glicose a partir da circulação materna é interrompido. O efeito combinado da adrenalina e do glucagon sobre as reservas de glicogênio hepáticas do neonato rapidamente reestabelece os níveis de glicose para o normal.



SALA DE ESPERA



Uma menina recém-nascida, **Getta Carbo**, nasceu após uma gestação de 38 semanas. Sua mãe, uma mulher de 36 anos, teve hipertensão moderada durante o último trimestre de gestação relacionada a uma infecção recorrente do trato urinário, que resultou em uma perda grave de apetite e vômitos recorrentes no mês anterior ao parto. Bradicardia fetal (freqüência cardíaca mais baixa do que o normal) foi detectada a cada contração do trabalho de parto, um sinal de possível sofrimento fetal.

No nascimento, Getta estava cianótica (uma descoloração azulada causada por uma falta de oxigenação adequada dos tecidos) e sem energia. Ela se recuperou após vários minutos de ventilação assistida. Seu índice de Apgar de 3 estava baixo um minuto após o nascimento, mas melhorou para 7 em 5 minutos



O índice de Apgar é uma estimativa objetiva da condição geral do recém-nascido, determinado em 1 e em 5 minutos após o nascimento. O melhor índice é 10 (normal em todos os aspectos).

O exame físico no berçário em 10 minutos mostrou uma menina recém-nascida, magra e malnutrida. A temperatura corporal estava levemente baixa, a freqüência cardíaca era rápida, e a freqüência respiratória de 35 respirações/minuto estava elevada. O peso de Getta ao nascimento era de apenas 2.100 g, comparado com um valor normal de 3.300 g. Seu comprimento era de 47 cm, e a circunferência da cabeça era de 33 cm (limite inferior do normal). O laboratório informou que o nível sérico de glicose de Getta quando ela não estava respondendo era de 14 mg/dL. Um valor de glicose abaixo de 40 mg/dL (2,5 mM) é considerado anormal em crianças recém-nascidas.

Com cinco horas de idade, ela estava apneica (sem respirar) e irresponsiva. Ressuscitação ventilatória foi iniciada, e uma cânula foi colocada na veia umbilical. Foi retirado sangue através dessa cânula para a determinação do nível de glicose, e 5 mL de uma solução de glicose 20% foram injetados. Getta lentamente respondeu a essa terapia.

Jim Bodie, um alterofilista de 19 anos, foi levado à emergência do hospital em coma. Meia hora antes, sua mãe ouviu um som de queda no porão onde Jim estava levantando pesos e completando seu treino diário na esteira. Ela encontrou seu filho no chão com movimentos de tremores graves de todos os músculos (uma convulsão do tipo grande mal).

Na emergência, os médicos foram informados de que, apesar das objeções de sua família e amigos, Jim utilizava regularmente andrógenos e outros esteróides anabólicos em um esforço para aumentar sua massa muscular.

Ao exame físico, ele estava comatoso com movimentos de tremores involuntários de suas extremidades. Saliva espumosa escorria de sua boca. Ele mordeu a língua e perdeu o controle de intestino, bexiga e saliva no pico da convulsão.

O laboratório informou um nível de glicose de 18 mg/dL (extremamente baixo). A infusão intravenosa de glicose 5% (5 g de glicose por 100 mL de solução), a qual havia sido iniciada mais cedo, foi aumentada para 10%. Além disso, 50 g de glicose foram dados durante 30 minutos, através do tubo intravenoso.

O exercício na esteira de **Jim Bodie** e a maioria de outros tipos de exercícios moderados envolvendo movimentos totais do corpo (correr, esquiar, dançar, jogar tênis) aumentam a utilização de glicose sangüínea e de outros substratos energéticos dos músculos esqueléticos. A glicose sangüínea normalmente é fornecida pela estimulação da glicogenólise e da gliconeogênese hepáticas.

I. ESTRUTURA DO GLICOGÊNIO

O glicogênio, a forma de armazenamento da glicose, é um polissacarídeo ramificado de glicose composto de cadeias de unidades glicosil unidas por ligações α-1,4 e α-1,6 a cada 8 a 10 resíduos formando ramificações (ver Figura 28.1). Em uma molécula dessa estrutura altamente ramificada, apenas um resíduo glicosil tem um carbono anomérico que não está ligado a outro resíduo de glicose. Esse carbono anomérico no início da cadeia está ligado à proteína glicogenina. As outras extremidades das cadeias são chamadas de extremidades não-redutoras (ver Capítulo 5). A estrutura ramificada permite a degradação e a síntese rápidas de glicogênio, pois enzimas podem trabalhar em várias cadeias simultaneamente a partir das múltiplas extremidades não-redutoras.

O glicogênio está presente nos tecidos como polímeros de peso molecular muito alto (10^7 a 10^8) agrupados juntos em partículas de glicogênio. As enzimas envolvidas na síntese e na degradação de glicogênio, e algumas das enzimas regulatórias, são ligadas à superfície das partículas de glicogênio.

II. FUNÇÃO DO GLICOGÊNIO NO MÚSCULO ESQUELÉTICO E NO FÍGADO

O glicogênio é encontrado na maioria dos tipos celulares, onde serve como reservatório de unidades glicosil para a produção de ATP a partir da glicólise.

O glicogênio é degradado principalmente a glicose-1-fosfato, a qual é convertida a glicose-6-fosfato. No músculo esquelético e em outros tipos celulares, a glicose-6-fosfato entra na rota glicolítica (Figura 28.2). O glicogênio é uma fonte de substratos energéticos extremamente importante para o músculo esquelético quando as necessidades de ATP são altas e quando a glicose-6-fosfato é utilizada rapidamente na glicólise anaeróbica. Em muitos outros tipos de células, o pequeno reservatório de glicogênio tem um propósito similar; ele é uma fonte de emergência de substratos energéticos para a produção de ATP na ausência de oxigênio ou durante fluxo sangüíneo restrito. Em geral, a glicogenólise e a glicólise são ativadas juntas nessas células.

Os propósitos do glicogênio no fígado são muito diferentes daqueles no músculo esquelético e em outros tecidos (ver Figura 28.2). O glicogênio hepático é a primeira e imediata fonte de glicose para a manutenção de níveis sangüíneos de glicose. No fígado, a glicose-6-fosfato, que é gerada a partir da degradação de glicogênio, é hidrolisada a glicose pela glicose-6-fosfatase, uma enzima presente apenas no fígado e nos rins. A degradação do glicogênio fornece, assim, uma fonte prontamente mobilizada de glicose sangüínea quando a glicose da dieta diminui, ou quando exercício aumenta a utilização de glicose sangüínea pelos músculos.

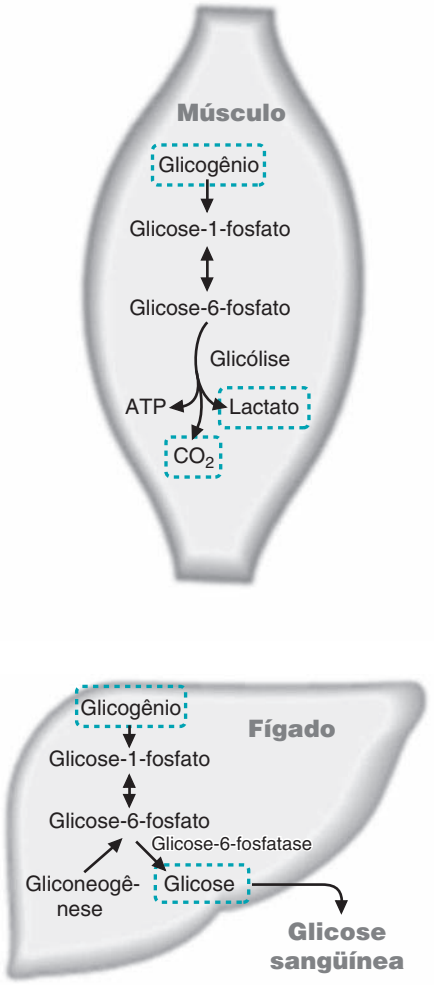


Figura 28.2 Glicogenólise no músculo esquelético e no fígado. As reservas de glicogênio têm diferentes funções nas células musculares e no fígado. No músculo e na maioria dos outros tipos celulares, as reservas de glicogênio servem como fonte de substratos energéticos para a produção de ATP. No fígado, as reservas de glicogênio servem como fonte de glicose sangüínea.

A regulação da síntese de glicogênio serve para a prevenção de ciclo fútil e perda de ATP. O ciclo fútil se refere à situação na qual um substrato é convertido em um produto por uma rota e o produto é convertido novamente no substrato por outra rota. Devido ao fato de a rota biossintética requerer energia, o ciclo fútil resulta em uma perda de energia das ligações de fosfato. Assim, a síntese de glicogênio é ativada quando a degradação é inibida e vice-versa.

Ambas as rotas de glicogenólise e gliconeogênese no fígado fornecem glicose para o sangue, e, conseqüentemente, essas duas rotas são ativadas juntas por glucagon. A gliconeogênese, a síntese de glicose a partir de aminoácidos e outros precursores glicogênicos (discutido em detalhes no Capítulo 31), também forma glicose-6-fosfato, de tal modo que a glicose-6-fosfatase serve como "portão" para o sangue para ambas as rotas (ver Figura 28.2).

III. SÍNTESE E DEGRADAÇÃO DE GLICOGÊNIO

A síntese de glicogênio, como a maioria das rotas do metabolismo da glicose, inicia com a fosforilação da glicose a glicose-6-fosfato pela hexoquinase, ou no fígado, pela glicoquinase (Figura 28.3). A glicose-6-fosfato é o precursor da glicólise, a rota da pentose-fosfato, e das rotas para a síntese de outros carboidratos. Na rota da síntese de glicogênio, a glicose-6-fosfato é convertida a glicose-1-fosfato pela fosfoglicomutase, uma reação reversível.

O glicogênio é formado a partir de glicose-1-fosfato e degradado a glicose-1-fosfato, mas as rotas biossintética e de degradação são separadas e envolvem enzimas diferentes (ver Figura 28.3). A rota biossintética é uma rota que requer energia; o fosfato rico em energia do UTP é utilizado para ativar os resíduos de glicosil em UDP-glicose (Figura 28.4). Na rota de degradação, as ligações glicosídicas entre os resíduos glicosil no glicogênio são simplesmente quebradas pela adição de fosfato para produzir glicose-1-fosfato (ou de água para produzir glicose livre), e a UDP-glicose não é ressintetizada. A existência de rotas separadas para a formação e a degradação de compostos

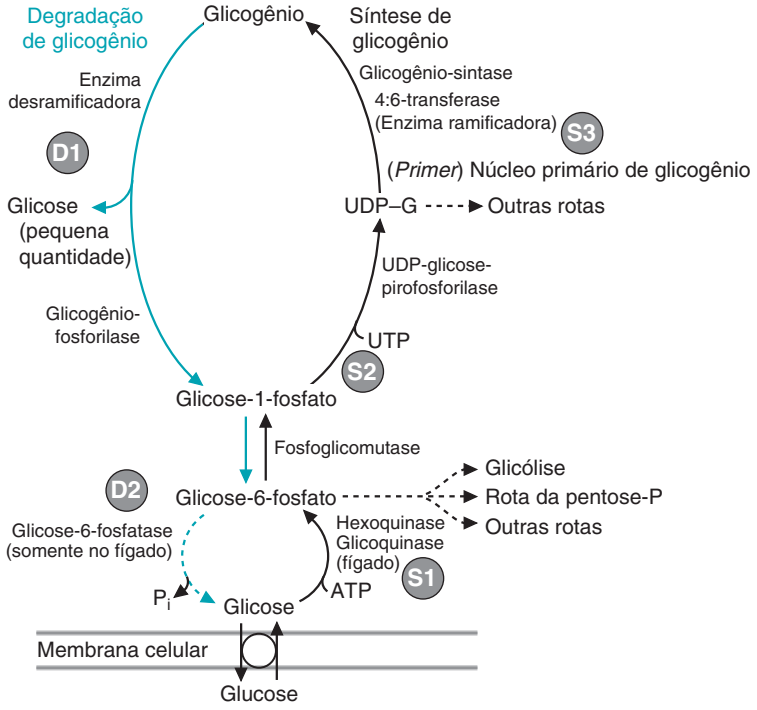


Figura 28.3 Esquema de síntese e degradação do glicogênio. **S1**. A glicose-6-fosfato é formada a partir de glicose pela hexoquinase na maioria das células e pela glicoquinase no fígado. Ela é um ponto de ramificação metabólico da glicólise para as rotas da glicólise, a rota da pentose-fosfato e a síntese de glicogênio. **S2**. A UDP-glicose (UDP-G) é sintetizada a partir de glicose-1-fosfato. A UDP-glicose é o ponto de ramificação para a síntese de glicogênio e outras rotas que requerem a adição de unidades de carboidratos. **S3**. A síntese de glicogênio é catalisada pela glicogênio-sintase e a enzima ramificadora. **D1**. A degradação do glicogênio é catalisada pela glicogênio-fosforilase e a enzima desramificadora. **D2**. A glicose-6-fosfatase no fígado produz glicose a partir de glicose-6-fosfato.

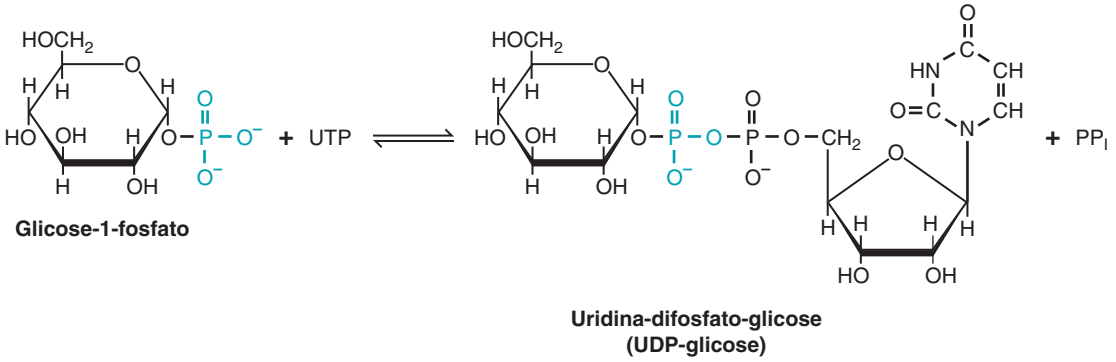


Figura 28.4 Formação de UDP-glicose. A ligação de fosfato rica em energia do UTP fornece a energia para a formação de uma ligação rica em energia na UDP-glicose. O pirofosfato (PP_i), liberado pela reação, é quebrado em 2 P_i.

importantes é um tema comum no metabolismo. Como as rotas de síntese e de degradação utilizam enzimas diferentes, uma pode ser ativada enquanto a outra é inibida.

A. Síntese de Glicogênio

A síntese de glicogênio necessita da formação de ligações glicosídicas α-1,4 para ligar resíduos glicosil em cadeias longas e da formação de ramos α-1,6 a cada 8 a 10 resíduos (Figura 28.5). A maioria da síntese de glicogênio ocorre pelo prolongamento de cadeias polissacarídicas de uma molécula de glicogênio preexistente (um núcleo primário ou *primer* de glicogênio), na qual a extremidade redutora do glicogênio é ligada à proteína glicogenina. Para prolongar as cadeias de glicogênio, resíduos glicosil são adicionados a partir de UDP-glicose às extremidades não-redutoras da cadeia pela glicogênio-sintase. O carbono anomérico de cada resíduo glicosil é ligado em uma ligação α-1,4 à hidroxila do carbono 4 do resíduo glicosil terminal. Quando a cadeia atinge 11 resíduos em comprimento, um pedaço de 6 a 8 resíduos é quebrado pela amilo-4:6-transferase e religado a uma unidade glicosil por uma ligação α-1,6. Ambas as cadeias continuam a se prolongar até que estejam longas o suficiente para produzirem dois novos ramos. Esse processo continua produzindo moléculas altamente ramificadas. A glicogênio-sintase, a enzima que liga resíduos glicosil em ligações α-1,4, é a etapa reguladora da rota.

A síntese de novas moléculas do núcleo primário (*primer*) de glicogênio também ocorre. A glicogenina, a proteína a qual o glicogênio é ligado, glicosila-se (autoglicosilação) pela ligação do resíduo glicosil da UDP-glicose com a hidroxila de um resíduo de serina da cadeia lateral da proteína. A proteína, então, estende a cadeia de carboidrato (utilizando UDP-glicose como substrato) até que a cadeia glicosil esteja longa o suficiente para servir como substrato para a síntese de glicogênio.

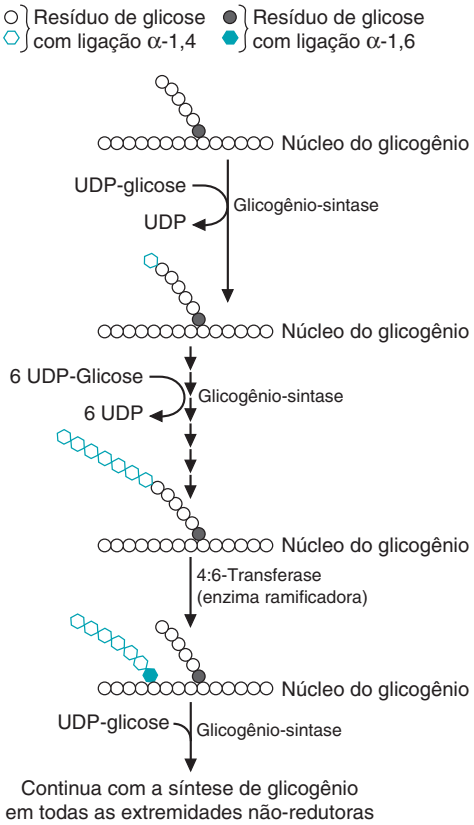


Figura 28.5 Síntese de glicogênio. Ver texto para detalhes.

B. Degradação de Glicogênio

O glicogênio é degradado por duas enzimas, a glicogênio-fosforilase e a enzima desramificadora (Figura 28.6). A enzima glicogênio-fosforilase inicia na extremidade de uma cadeia e sucessivamente quebra resíduos glicosil pela adição de fosfato à ligação glicosídica terminal, liberando, assim, glicose-1-fosfato. Contudo, a glicose-fosforilase não pode agir sobre as ligações glicosídicas dos quatro resíduos glicosil mais próximos a um ponto de ramificação, pois a cadeia ramificada impede estericamente uma ligação apropriada ao sítio catalítico da enzima. A enzima desramificadora, a qual catalisa a remoção dos quatro resíduos mais próximos ao ponto de ramificação, tem duas atividades catalíticas: ela age como uma transferase e como uma 1,6-glicosidase. Como uma transferase, a enzima desramificadora primeiro remove uma unidade contendo três resíduos de glicose e a adiciona à extremidade de uma cadeia mais longa por uma ligação α-1,4. O resíduo glicosil remanescente no ramo α-1,6 é hidrolisado pela atividade de amilo-1,6-glicosidase da enzima desramificadora, resultando na liberação de glicose livre. Assim, uma glicose e aproximadamente 7 a 9 resíduos de glicose-1-fosfato são liberados para cada ponto de ramificação.



A ramificação do glicogênio tem duas funções principais, o aumento dos sítios para a síntese e a degradação e o aumento da solubilidade da molécula.

Um defeito genético da glicosidase lisossomal, chamado de doença do armazenamento do glicogênio do tipo II, leva ao acúmulo de partículas de glicogênio em corpos residuais envolvidos por membranas, os quais provocam distúrbio na função do fígado e das células musculares. As crianças com essa doença em geral morrem de insuficiência cardíaca com poucos meses de idade.

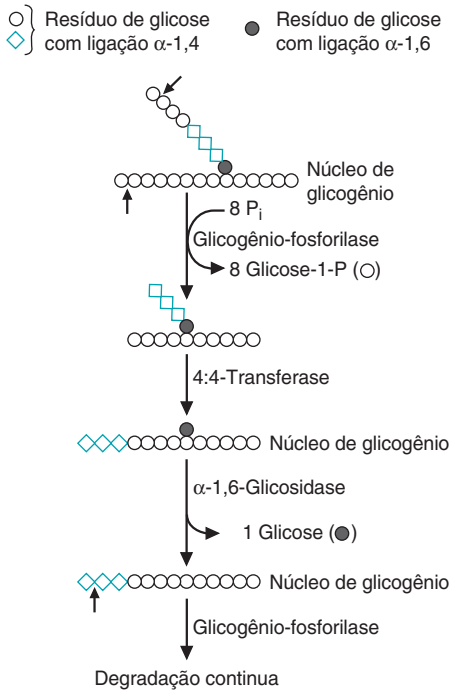


Figura 28.6 Degradação de glicogênio. Ver texto para detalhes.

Uma série de erros inatos do metabolismo, doenças do armazenamento do glicogênio, resultam de deficiências em enzimas da glicogenólise (ver Tabela 28.1). A glicogênio-fosforilase muscular, a enzima-chave regulatória da degradação de glicogênio, é geneticamente diferente da glicogênio-fosforilase hepática, e, assim, uma pessoa pode ter um defeito em uma e não na outra. Por que uma deficiência genética na glicogênio-fosforilase (doença de McArdle) é uma mera inconveniência, enquanto uma deficiência da glicogênio-fosforilase hepática pode ser fatal (doença de Hers)?

Alguma degradação do glicogênio também ocorre dentro dos lisossomas quando partículas de glicogênio se tornam circundadas por membranas que, então, se fundem com as membranas lisossomais. Uma glicosidase lisossomal hidrolisa esse glicogênio a glicose.

IV. REGULAÇÃO DA SÍNTESE E DA DEGRADAÇÃO DE GLICOGÊNIO

A regulação da síntese de glicogênio em tecidos diferentes corresponde à função do glicogênio em cada tecido. O glicogênio hepático serve principalmente para manter a glicose sangüínea durante jejum ou durante necessidade extrema (p. ex., exercício), e as rotas de degradação e de biossíntese são reguladas principalmente por alterações na razão insulina/glucagon e pelos níveis de glicose sangüínea, os quais refletem a disponibilidade da glicose da dieta (Tabela 28.2). A degradação do glicogênio hepático

Tabela 28.1 Doenças do Armazenamento do Glicogênio

Tipo	Enzima Afetada	Órgão Primário Envolvido	Manifestações[a]
0	Glicogênio-sintase	Fígado	Hipoglicemia, hipercetonemia, FTT[b] morte precoce
I[c]	Glicose-6-fosfatase (doença de von Gierke)	Fígado	Fígado e rins aumentados, falha de crescimento, hipoglicemia de jejum, acidose, lipemia, disfunção de plaquetas. Hipoglicemia é a mais grave.
II	Glicosidase α lisossomal	Todos os órgãos com lisossomas	Forma infantil: início precoce progressivo de hipotonia muscular, insuficiência cardíaca, morte antes de dois anos; forma juvenil: miopatia de início mais tarde com envolvimento cardíaco variável; forma adulta: características semelhantes à distrofia das cinturas pélvica e escapular. Depósitos de glicogênio se acumulam nos lisossomas.
III	Amilo-1,6-glicosidase (desramificadora)	Fígado, músculo esquelético, coração	Hipoglicemia em jejum; hepatomegalia na infância em alguns, Características miopáticas. Depósitos de glicogênio têm ramos externos curtos.
IV	Amilo-1,6-glicosidase (ramificadora)	Fígado	Hepato-esplenomegalia; os sintomas podem aparecer a partir de uma reação à presença de um corpo estranho (glicogênio com ramos externos longos). Geralmente fatal.
V	Glicogênio-fosforilase muscular (doença de McArdle)	Músculo esquelético	Dor muscular induzida por exercício, câibras, e fraqueza progressiva, algumas vezes mioglobinúria.
VI	Glicogênio- fosforilase hepática	Fígado	Hepatomegalia, hipoglicemia moderada, bom prognóstico.
VII	Fosfofrutoquinase I	Músculo, células sangüíneas vermelhas	Como no tipo V, mais hemólise enzimopática.
IX[d]	Fosforilase-quinase	Fígado	Como em VI. Hepatomegalia.
X	Proteína-quinase A dependente de AMPc	Fígado	Hepatomegalia.

Reproduzida com permissão de Annu Rev Nutr 1993; 13:85. 1993 by Annual Reviews, Inc.
[a]Todas essas doenças, com exceção do tipo 0, são caracterizadas por aumento nos depósitos de glicogênio.
[b]FFT = falha de desenvolvimento.
[c]A glicose-6-fosfatase é composta por várias subunidades que também transportam glicose, glicose-6-fosfato, fosfato e pirofosfato através das membranas do retículo endoplasmático. Portanto, há vários subtipos dessa doença, correspondendo a defeitos nas diferentes subunidades.
[d]Há vários subtipos dessa doença, correspondendo a diferentes mutações e padrões de herança.

Tabela 28.2 Regulação das Reservas de Glicogênio do Fígado e dos Músculos[a]

Estado	Reguladores	Resposta do Tecido
	Fígado	
Jejum	Sangue: Glucagon ↑ Insulina ↓ Tecido: AMPc ↑	Degradação de glicogênio ↑ Síntese de glicogênio ↓
Refeição com carboidrato	Sangue: Glucagon ↓ Insulina ↑ Glicose ↑ Tecido: AMPc ↓ Glicose ↑	Degradação de glicogênio ↓ Síntese de glicogênio ↑
Exercício e estresse	Sangue: Adrenalina ↑ Tecido: AMPc↓ Ca^{2+}-calmodulina ↑	Degradação de glicogênio ↑ Síntese de glicogênio ↓
	Músculo	
Jejum (repouso)	Sangue: Insulina ↓	Síntese de glicogênio ↓ Transporte de glicose ↓
Refeição com carboidrato (respouso)	Sangue: Insulina ↑	Síntese de glicogênio ↑ Transporte de glicose ↑
Exercício	Sangue: Adrenalina ↑ Tecido: AMP ↑ Ca^{2+}-calmodulina ↑ AMPc ↑	Síntese de glicogênio ↓ Degradação do glicogênio ↑ Glicólise ↑

[a]↑ = aumentado em comparação a outros estados fisiológicos; ↓ = diminuído em comparação a outros estados fisiológicos.

também é ativada por adrenalina, a qual é liberada em resposta a exercício, hipoglicemia ou outras situações de estresse, nas quais há uma necessidade imediata de glicose sangüínea. Em contraste, nos músculos esqueléticos, o glicogênio é um reservatório de unidades glicosil para a produção de ATP a partir da glicólise e da oxidação da glicose. Como conseqüência, a glicogenólise muscular é regulada principalmente por AMP, o qual sinaliza uma falta de ATP, e por Ca^{2+} liberado durante a contração. A adrenalina, a qual é liberada em resposta a exercício e outras situações de estresse, também ativa a glicogenólise no músculo esquelético. As reservas de glicogênio do músculo em repouso diminuem pouco durante o jejum.

A. Regulação do Metabolismo do Glicogênio no Fígado

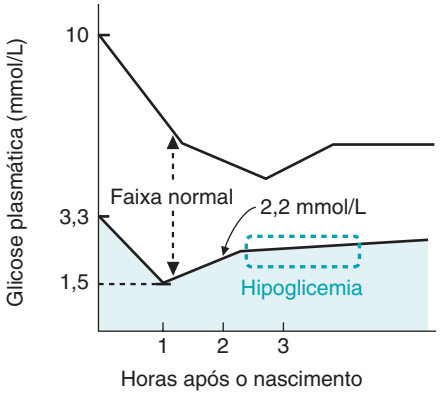
O glicogênio hepático é sintetizado após uma refeição com carboidratos quando os níveis de glicose sangüínea estão elevados e degradado quando os níveis de glicose sangüínea diminuem. Quando uma pessoa ingere uma refeição contendo carboidratos, os níveis de glicose sangüínea imediatamente aumentam, os níveis de insulina aumentam, e os níveis de glucagon diminuem (ver Figura 26.8). Os níveis elevados de glicose sangüínea e o aumento da razão insulina/glucagon inibem a degradação de glicogênio

R: O glicogênio muscular é utilizado dentro do músculo para manter o exercício. Assim, uma pessoa com doença de McArdle (doença de armazenamento do colágeno do tipo V) não tem outros sintomas além de fadiga incomum e cãibras musculares durante o exercício. Esses sintomas podem ser acompanhados por mioglobinúria e liberação de creatina-quinase do músculo no sangue.

O glicogênio hepático é o primeiro reservatório para manter os níveis de glicose sangüínea, e uma deficiência da glicogênio-fosforilase ou de qualquer uma das outras enzimas da degradação do glicogênio hepático pode resultar em hipoglicemia de jejum. A hipoglicemia em geral é moderada, pois os pacientes ainda podem sintetizar glicose a partir de gliconeogênese (ver Tabela 28.1).

A glicose sangüínea materna prontamente cruza a placenta para entrar na circulação fetal. Durante as últimas 9 a 10 semanas de gestação, o glicogênio formado a partir de glicose materna é depositado no fígado fetal sob a influência do meio hormonal dominado pela insulina daquele período. Ao nascimento, os suprimentos de glicose materna cessam, causando uma queda fisiológica temporária nos níveis de glicose no sangue do recém-nascido, mesmo em crianças saudáveis normais. Essa queda serve como um dos sinais para a liberação de glucagon a partir do pâncreas do recém-nascido, o qual por sua vez estimula a glicogenólise. Como resultado, os níveis de glicose no recém-nascido retornam ao normal.

Bebês saudáveis a termo têm reservas adequadas de glicogênio hepático para sobreviver por períodos curtos (12 horas) de deprivação calórica quando outros aspectos do metabolismo de substratos energéticos estão normais. Uma vez que a mãe de **Getta Carbo** estava bastante anoréxica durante o período crítico quando o fígado fetal normalmente está sintetizando glicogênio a partir da glicose fornecida pelo sangue materno, as reservas hepáticas de Getta estavam abaixo do normal. Assim, devido ao fato de o glicogênio fetal ser a maior fonte de substrato energético para o recém-nascido nas primeiras horas de vida, Getta ficou profundamente hipoglicêmica nas cinco horas após o nascimento devido aos seus baixos níveis de carboidratos armazenados.



Níveis de glicose plasmáticos no neonato. A variação normal dos níveis de glicose sangüínea no neonato fica entre as duas linhas pretas. A área azul representa a variação da hipoglicemia que deve ser tratada no neonato. O tratamento de neonatos com os níveis de glicose sangüínea que estão dentro da caixa azul tracejada, a zona de incerteza clínica, é controverso. As unidades da glicose plasmática são dadas em milimoles/L. Os miligramas/dL (miligramas/100 mL) e milimoles/L são utilizados clinicamente para os valores de glicose sangüínea: 80 mg/dL de glicose é equivalente a 5 mmol/L (5 mM). De Mehta A. Arch Dis Child 1994;70:F54.

Q: Uma criança foi diagnosticada com doença do armazenamento do glicogênio do tipo III, uma deficiência da enzima desramificadora (ver Tabela 28.1). O paciente tem hepatomegalia (um fígado aumentado) e tem surtos de hipoglicemia moderada. Para diagnosticar a doença, glicogênio foi obtido do fígado por biópsia após o paciente ter feito jejum durante a noite e foi comparado com glicogênio normal. As amostras de glicogênio foram tratadas com uma preparação de glicogênio-fosforilase comercial e enzima desramificadora comercial. As quantidades de glicose-1-fosfato e glicose produzida no ensaio foram, então, medidas. A razão da glicose-1-fosfato com a glicose para a amostra de glicogênio normal foi de 9:1, e a razão para o paciente foi de 3:1. Como esse resultado pode ser explicado?

Tabela 28.3 Efeito do Jejum sobre o Conteúdo de Glicogênio Hepático em Humanos

Tempo de Jejum (horas)	Conteúdo de Glicogênio (μmol/g de fígado)	Taxa de Glicogenólise (μmol/kg.min)
0	300	—
2	260	4,3
4	216	4,3
24	42	1,7
64	16	0,3

e estimulam a sua síntese. O aumento imediato no transporte de glicose nos tecidos periféricos e o armazenamento de glicose sangüínea como glicogênio auxiliam a trazer os níveis de glicose sangüínea circulante de volta para a faixa normal de 80 a 100 mg/dL do estado em jejum. À medida que aumenta o tempo após uma refeição contendo carboidratos, os níveis de insulina diminuem, e os níveis de glucagon aumentam. A queda da razão insulina/glucagon resulta em inibição da rota de biossíntese e ativação da rota de degradação. Como resultado, o glicogênio hepático é rapidamente degradado a glicose, a qual é liberada para o sangue.

Embora glicogenólise e gliconeogênese sejam ativadas pelos mesmos mecanismos regulatórios, a glicogenólise responde mais rapidamente, com uma liberação maior de glicose. Uma proporção substancial de glicogênio hepático é degradada dentro das primeiras poucas horas após a alimentação (Tabela 28.3). A velocidade de glicogenólise é razoavelmente constante nas primeiras 22 horas, mas em um jejum prolongado ela diminui de forma significativa à medida que o glicogênio hepático diminui. Os estoques de glicogênio hepático são, portanto, rapidamente reconstituídos, e a reserva de glicose é degradada, sempre em resposta a pequenas e rápidas alterações nos níveis de glicose sangüínea.

1. NOMENCLATURA SE RELACIONA COM ENZIMAS DO METABOLISMOS DE GLICOGÊNIO

Tanto a glicogênio-fosforilase como a glicogênio-sintase serão covalentemente modificadas para regular suas atividades (Figura 28.7). Quando ativada por modificação covalente, a glicogênio-fosforilase é referida como glicogênio-fosforilase **a** (**a** de ativa); quando a modificação covalente é removida e a enzima está inativa, ela é referida como glicogênio-fosforilase **b**. A glicogênio-sintase está ativa quando não está modificada de forma covalente e pode ser designada como glicogênio-sintase **a** ou glicogênio sintase **I** (o **I** é de *independente* de modificadores da atividade). Quando a glicogênio-sintase está covalentemente modificada, ela está inativa, na forma de glicogênio-sintase **b** ou glicogênio-sintase **D** (para *dependente* de um modificador de atividade).

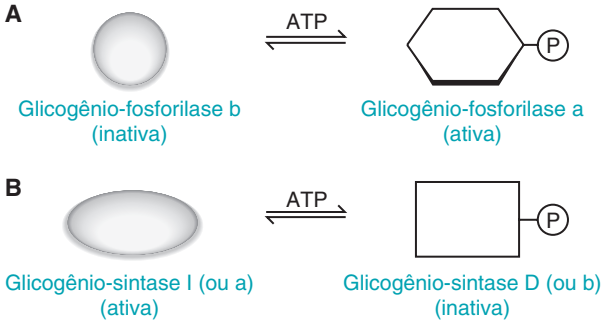


Figura 28.7 A conversão das formas ativa e inativa da glicogênio-fosforilase **(A)** e da glicogênio-sintase **(B)**. Observe como a nomenclatura muda dependendo da fosforilação e do estado de atividade da enzima.

2. REGULAÇÃO DO METABOLISMO DO GLICOGÊNIO HEPÁTICO POR INSULINA E GLUCAGON

A insulina e o glucagon regulam o metabolismo de glicogênio hepático pela alteração do estado de fosforilação da glicogênio-fosforilase na rota de degradação e da glicogênio-sintase na rota de biossíntese. Um aumento de glucagon e uma diminuição de insulina durante o estado de jejum iniciam uma cascata de fosforilação coordenada por AMPc, que resulta na fosforilação da glicogênio-fosforilase em uma enzima ativa e na fosforilação da glicogênio-sintase em uma enzima inativa (Figura 28.8). Como conseqüência, a degradação de glicogênio é estimulada, e a síntese de glicogênio é inibida.

3. GLUCAGON ATIVA UMA CASCATA DE FOSFORILAÇÃO QUE CONVERTE GLICOGÊNIO-FOSFORILASE B A GLICOGÊNIO-FOSFORILASE A

O glucagon regula o metabolismo de glicogênio por seu segundo mensageiro intracelular AMPc e proteína-quinase A (ver Capítulo 26). O glucagon, pela ligação a seu receptor na membrana celular, transmite um sinal através de proteínas G que ativa a

R: Com uma deficiência da enzima desramificadora, mas níveis normais de glicogênio-fosforilase, as cadeias de glicogênio do paciente poderiam ser degradadas *in vivo* apenas até quatro resíduos distantes do ponto de ramificação. Quando as amostras de glicogênio são tratadas com a preparação comercial contendo as enzimas normais, um resíduo de glicose é liberado para cada ramo α-1,6. Contudo, na amostra de glicogênio do paciente, com os ramos externos curtos, três glicoses-1-fosfato e um resíduo de glicose foram obtidos para cada ramo α-1,6. O glicogênio normal tem 8 a 10 resíduos glicosil por ramo, e, assim, dá uma razão de aproximadamente 9 moles de glicose-1-fosfato para 1 mol de glicose.

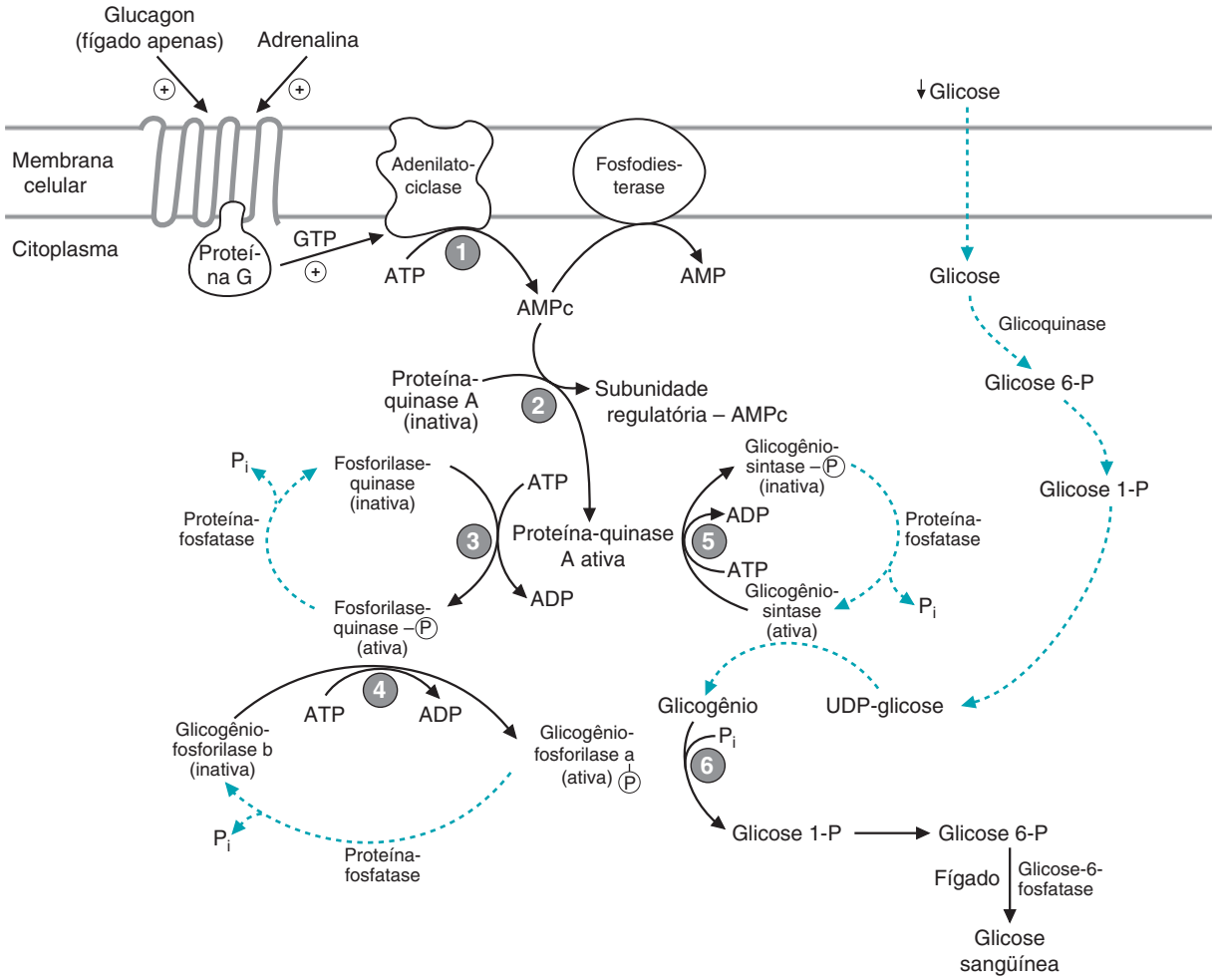


Figura 28.8 Regulação da síntese e da degradação de glicogênio no fígado. 1. O glucagon se ligando ao receptor de glucagon ou a adrenalina se ligando ao receptor β no fígado ativam a adenilato-ciclase, através de proteínas G, a qual sintetiza AMPc a partir de ATP. 2. O AMPc se liga à proteína-quinase A (proteína-quinase AMPc-dependente), ativando assim as subunidades catalíticas. 3. A proteína-quinase A ativa a fosforilase-quinase por fosforilação. 4. A fosforilase-quinase adiciona um fosfato a resíduos específicos de serina na glicogênio-fosforilase b, convertendo-a assim na glicogênio-fosforilase a ativa. 5. A proteína-quinase A também fosforila glicogênio-sintase, diminuindo assim sua atividade. 6. Como resultado da inibição da glicogênio-sintase e da ativação da glicogênio-fosforilase, o glicogênio é degradado a glicose-1-fosfato. As linhas azuis tracejadas indicam reações que são diminuídas no fígado de pessoas em jejum.

Para lembrar se uma enzima particular foi ativada ou inibida por fosforilação dependente de AMPc, considere se faz sentido para a enzima ser ativada ou inibida sob condições de jejum (em um *PHast, PHosphorylate*).

adenilato-ciclase, causando aumento dos níveis de AMPc (ver Figura 28.8). O AMPc se liga às subunidades de proteína-quinase A, as quais se dissociam das subunidades catalíticas. As subunidades catalíticas da proteína-quinase A são ativadas por dissociação e fosforilam a enzima fosforilase-quinase, tornando-a ativa. A fosforilase-quinase é a proteína-quinase que converte o confôrmero da glicogênio-fosforilase b hepática inativa no confôrmero da glicogênio-fosforilase a ativa pela transferência de um fosfato de ATP para um resíduo de serina específico nas subunidades de fosforilase. Como resultado da ativação da glicogênio-fosforilase, a glicogenólise é estimulada.

4. INIBIÇÃO DA GLICOGÊNIO-SINTASE POR FOSFORILAÇÃO DIRECIONADA POR GLUCAGON

Quando a degradação de glicogênio é ativada pela cascata de fosforilação estimulada por AMPc, a síntese de glicogênio é simultaneamente inibida. A enzima glicogênio-sintase também é fosforilada pela proteína-quinase A, mas essa fosforilação resulta em uma forma menos ativa, a glicogênio-sintase b.

A fosforilação da glicogênio-sintase é muito mais complexa do que a glicogênio-fosforilase. A glicogênio-sintase tem múltiplos sítios de fosforilação, os quais podem ser ativados por até 10 proteína-quinases diferentes. A fosforilação por proteína-quinase A, por si mesma, não inativa a glicogênio-sintase. Em vez disso, a fosforilação por proteína-quinase A facilita a adição subseqüente de grupos fosfato por outras quinases, e essas inativam a enzima. Um termo que tem sido aplicado para alterações da atividade resultando de múltipla fosforilação é fosforilação hierárquica ou sinergística – a fosforilação de um sítio torna o outro sítio mais ativo e mais fácil de ser fosforilado por uma proteína-quinase diferente.

A maioria das enzimas que são reguladas por fosforilação tem múltiplos sítios de fosforilação. A glicogênio-fosforilase, a qual tem apenas uma serina por subunidade e pode ser fosforilada apenas pela fosforilase-quinase, é a exceção. Para algumas enzimas, os sítios de fosforilação são antagonistas, e a fosforilação iniciada por um hormônio se contrapõe aos efeitos de outros hormônios. Para outras enzimas, os sítios de fosforilação são sinérgicos, e a fosforilação em um sítio estimulado por um hormônio pode agir sinergicamente com fosforilação em outro sítio.

5. REGULAÇÃO DE PROTEÍNA-FOSFATASES

Ao mesmo tempo em que a proteína-quinase A e a fosforilase-quinase estão adicionando grupos fosfato às enzimas, as proteína-fosfatase que removem este fosfato são inibidas. As proteína-fosfatases removem grupos fosfato, ligados a resíduos de serina ou outros resíduos em enzimas, por hidrólise. A proteína-fosfatase hepática 1 (PP-1 hepática), uma das maiores proteína-fosfatase envolvidas no metabolismo do glicogênio, remove grupos fosfato da glicogênio-fosforilase e da glicogênio-sintase. Durante o jejum, a PP-1 hepática é inativada por diversos mecanismos. Um é a dissociação da partícula de glicogênio, de tal modo que os substratos não ficam mais disponíveis para a fosfatase. Um segundo é a ligação de proteínas inibitórias, como a proteína chamada de inibidor-1, a qual, quando fosforilada por um mecanismo mediado por glucagon (ou adrenalina), liga-se e inibe a fosfatase. A insulina ativa indiretamente a PP-1 hepática por sua própria cadeia de transdução do sinal iniciada na tirosina-quinase dos receptores de insulina.

A maioria das enzimas que são reguladas por fosforilação também pode ser convertida para a conformação ativa por efetores alostéricos. A glicogênio-sintase b, a forma menos ativa da glicogênio-sintase, pode ser ativada pelo acúmulo de glicose-6-fosfato acima de níveis fisiológicos. A ativação da glicogênio-sintase por glicose-6-fosfato pode ser importante em pessoas com deficiência de glicose-6-fosfatase, um distúrbio conhecido como tipo I ou doença do armazenamento do glicogênio de Von Gierke. Quando a glicose-6-fosfato produzida a partir de gliconeogênese se acumula no fígado, ela ativa a síntese de glicogênio, mesmo que a pessoa esteja hipoglicêmica e tenha níveis baixos de insulina. A glicose-1-fosfato também está elevada, resultando em inibição da glicogênio-fosforilase. Como conseqüência, grandes depósitos de glicogênio se acumulam, e ocorre hepatomegalia.

6. INSULINA NO METABOLISMO DO GLICOGÊNIO NO FÍGADO

A insulina é antagonista ao glucagon na degradação e na síntese de glicogênio. O nível de glicose no sangue é o sinal controlador da secreção de insulina e glucagon. A glicose estimula a liberação de insulina e suprime a liberação de glucagon; um aumenta enquanto o outro diminui após uma refeição rica em carboidratos. Contudo, os níveis de insulina no sangue se alteram em um grau maior com o ciclo jejum-alimentação do que os níveis de glucagon, e, assim, a insulina é considerada o principal regulador da síntese e da degradação do glicogênio. O papel da insulina no metabolismo do glicogênio com freqüência é ignorado devido ao fato de os mecanismos pelos quais a insulina reverte todos os efeitos do glucagon sobre enzimas metabólicas individuais estarem ainda sob investigação. Além da ativação da PP-1 hepática pela cascata de fosforilação da tirosina-quinase dos receptores de insulina, a insulina pode ativar a fosfodiesterase que converte AMPc em AMP, diminuindo, assim, os níveis de AMPc e inativando a proteína-quinase A. Independentemente do mecanismo envolvido, a insulina é capaz de reverter todos os efeitos do glucagon e é o regulador hormonal mais importante dos níveis de glicose sangüínea.

7. NÍVEIS DE GLICOSE SANGÜÍNEA E SÍNTESE E DEGRADAÇÃO DE GLICOGÊNIO

Quando uma pessoa ingere uma refeição rica em carboidratos, a degradação de glicogênio imediatamente pára. Embora as alterações nos níveis de insulina e glucagon sejam relativamente rápidas (10 a 15 minutos), o efeito inibitório direto dos níveis de glicose em elevação sobre a degradação de glicogênio é ainda mais rápido. A glicose, como um efetor alostérico, inibe a glicogênio-fosforilase do fígado pela estimulação da desfosforilação dessa enzima. À medida que os níveis de insulina aumentam, e os níveis de glucagon diminuem, os níveis de AMPc diminuem, e a proteína-quinase A se reassocia com suas subunidades inibitórias e se torna inativa. As proteínas-fosfatase são ativadas, e a fosforilase a e a glicogênio-sintase b são desfosforiladas. O resultado geral desses efeitos é a inibição rápida da degradação e a ativação rápida da síntese do glicogênio.

8. ADRENALINA E CÁLCIO NA REGULAÇÃO DO GLICOGÊNIO HEPÁTICO

A adrenalina, o hormônio de "luta-ou-fuga", é liberada da medula da supra-renal em resposta a sinais nervosos, refletindo uma necessidade aumentada de glicose. Para escapar de situações de perigo, os músculos esqueléticos utilizam quantidades aumentadas de glicose sangüínea para produzir ATP. Como resultado, a glicogenólise hepática deve ser estimulada. No fígado, a adrenalina estimula a glicogenólise por dois tipos diferentes de receptores, os receptores agonistas α e β.

a. ADRENALINA AGINDO NOS RECEPTORES β

A adrenalina agindo nos receptores β transmite um sinal através de proteínas G para a adenilato-ciclase, a qual aumenta o AMPc e ativa a proteína-quinase A. A regulação da degradação e a síntese de glicogênio no fígado por adrenalina e glucagon são similares (ver Figura 28.8).

b. ADRENALINA AGINDO NOS RECEPTORES α

A adrenalina também se liga a receptores α no fígado. Essa ligação ativa a glicogenólise e inibe a síntese de glicogênio principalmente pelo aumento dos níveis de Ca^{2+} no fígado. Os efeitos da adrenalina no receptor α-agonista são mediados pelo sistema de transdução do sinal do fosfatidilinositol-bisfosfato (PIP_2)-Ca^{2+}, um dos sistemas intracelulares de segundo mensageiro empregados por muitos hormônios (Figura 28.9) (ver Capítulo 11).

No sistema de transdução do sinal do fosfatidilinositol-bisfosfato (PIP_2)-Ca^{2+}, o sinal é transferido do receptor de membrana para a fosfolipase C ligada à membrana por proteínas G. A fosfolipase C hidrolisa PIP_2 para formar diacilglicerol (DAG) e inositol-trifosfato (IP_3). O IP_3 estimula a liberação de Ca^{2+} do retículo endoplasmático. O Ca^{2+} e o DAG ativam a proteína-quinase C. A quantidade de cálcio ligada a uma das proteínas ligadoras de cálcio, calmodulina, está também aumentada.

Cálcio/calmodulina se associam como uma subunidade com diversas enzimas e modificam suas atividades. Eles se ligam para inativar a fosforilase-quinase, ativando, assim, parcialmente essa enzima. (A enzima completamente ativada é ligada à subunidade cálcio/calmodulina e é fosforilada.) A fosforilase-quinase, então, fosforila a glicogênio-fosforilase b, ativando, assim, a degradação do glicogênio. Cálcio/calmodulina é também uma proteína modificadora que ativa uma das glicogênio-sintase-quinases (cálcio/calmodulina-sintase-quinase). A proteína-quinase C, a cálcio/calmodulina-sintase-quinase e a fosforilase-quinase fosforilam a glicogênio-sintase em diferentes resíduos de serina na enzima, inibindo, assim, a glicogênio-sintase e, portanto, a síntese de glicogênio.

O efeito da adrenalina no fígado, portanto, aumenta ou é sinérgico com os efeitos do glucagon. A liberação de adrenalina durante surtos de hipoglicemia ou durante exercício pode estimular a glicogenólise hepática e inibir a síntese de glicogênio de forma muito rápida.



Uma inabilidade do fígado e do músculo de armazenar glicose como glicogênio contribui para a hiperglicemia em pacientes como **Di Abietes**, com diabetes melito tipo 1, e em pacientes como **Ann Sulin**, com diabetes melito tipo 2. A ausência de insulina em pacientes com diabetes melito tipo 1 e os altos níveis de glucagon resultam em atividade diminuída da glicogênio-sintase. A síntese de glicogênio no músculo esquelético de pacientes do tipo 1 também está limitada pela falta de transporte de glicose estimulado pela insulina. A resistência à insulina em pacientes do tipo 2 tem o mesmo efeito.

Uma injeção de insulina suprime a liberação de glucagon e altera a razão insulina/glucagon. O resultado é uma rápida captação de glicose no músculo esquelético e uma rápida conversão de glicose a glicogênio no músculo esquelético e no fígado.



No recém-nascido, a liberação de adrenalina durante o trabalho de parto e o nascimento contribui para reestabelecer os níveis de glicose sangüínea. Infelizmente, **Getta Carbo** não tem estoques de glicogênio hepático adequados para garantir um aumento em seus níveis de glicose sangüínea.

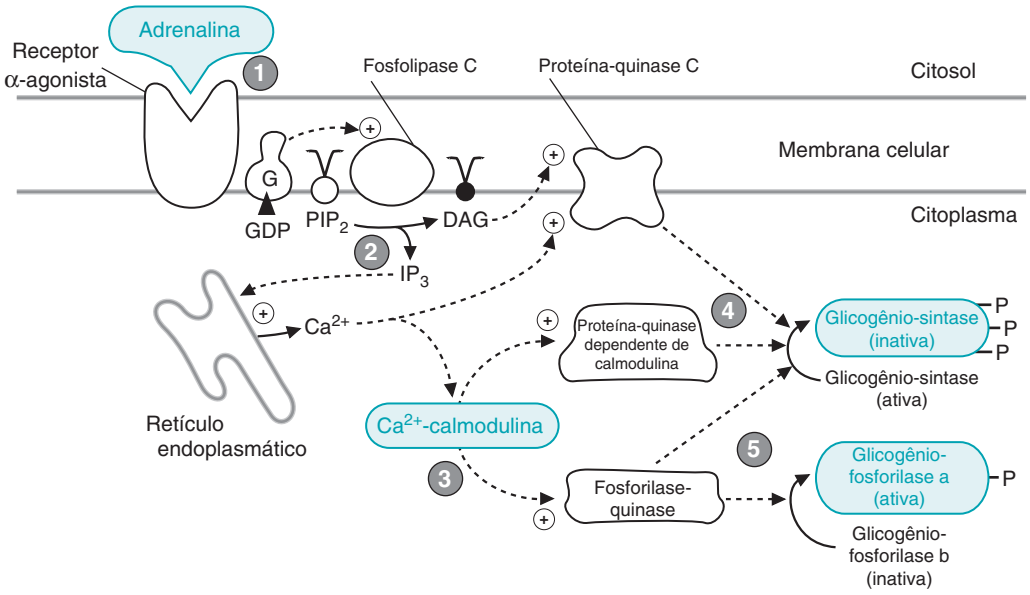


Figura 28.9 Regulação da síntese e da degradação de glicogênio por adrenalina e Ca^{2+}. 1. O efeito da ligação de adrenalina a receptores α-agonistas no fígado transmite um sinal através de proteínas G para a fosfolipase C, a qual hidrolisa PIP_2 a DAG e IP_3. 2. O IP_3 estimula a liberação de Ca^{2+} do retículo endoplasmático. 3. O Ca^{2+} se liga à proteína modificadora calmodulina, a qual ativa a proteína-quinase dependente de calmodulina e fosforilase-quinase. Ambos Ca^{2+} e DAG ativam a proteína-quinase C. 4. Essas três quinases fosforilam a glicogênio-sintase em diferentes sítios e diminuem sua atividade. 5. A fosforilase-quinase fosforila a glicogênio-fosforilase b em sua forma ativa. Dessa maneira, ela ativa tanto a glicogenólise como inibe a síntese de glicogênio.

B. Regulação da Síntese e da Degradação de Glicogênio no Músculo Esquelético

A regulação da glicogenólise no músculo esquelético está relacionada à disponibilidade de ATP para a contração muscular. O glicogênio do músculo esquelético produz glicose-1-fosfato e uma pequena quantidade de glicose livre. A glicose-1-fosfato é con-



Jim Bodie gradualmente recuperou a consciência com infusões contínuas de altas concentrações de glicose tituladas para manter sua glicose sangüínea entre 120 e 160 mg/dL. Embora ele tenha permanecido sonolento e moderadamente confuso nas primeiras 12 horas, finalmente foi capaz de contar aos médicos que tinha injetado cerca de 80 unidades de insulina regular (de ação rápida) a cada seis horas quando comia uma dieta rica em carboidratos nos últimos dois dias precedentes à convulsão. Pessoas normais sob condições basais secretam uma média de 40 unidades de insulina diária. Ele tinha injetado insulina pela última vez logo antes de se exercitar. Um artigo em uma revista de fisiculturismo que ele tinha lido recentemente citou os efeitos anabólicos da insulina em aumentar a massa muscular. Ele tinha comprado a insulina e as seringas necessárias da mesma fonte ilegal de drogas da qual regularmente comprava seus esteróides anabólicos.

Normalmente, a glicogenólise muscular fornece a glicose necessária para os tipos de exercícios de alta intensidade que precisam de glicólise anaeróbica, como levantamento de peso. O exercício na esteira de Jim também utiliza glicose sangüínea, a qual é fornecida pela glicogenólise hepática. Os altos níveis de insulina sérica, resultantes da injeção que ele aplicou logo antes de seu treino, ativaram o transporte de glicose para o músculo esquelético e a síntese de glicogênio, enquanto inibiam a degradação de glicogênio. Seu exercício, o qual continuaria a utilizar glicose sangüínea, poderia normalmente ser mantido pela quebra do glicogênio hepático. Contudo, a síntese de glicogênio no fígado foi ativada, e a degradação foi inibida pela injeção de insulina.

vertida a glicose-6-fosfato, a qual é destinada à rota glicolítica; a ausência de glicose-6-fosfatase no músculo esquelético impede a conversão de unidades glicosil a partir de glicogênio em glicose sangüínea. O glicogênio do músculo esquelético é, portanto, degradado apenas quando a demanda pela produção de ATP a partir da glicólise é alta. As maiores demandas ocorrem durante a glicólise anaeróbica, a qual requer mais moles de glicose para cada ATP produzido do que a oxidação de glicose a CO_2 (ver Capítulo 22). A glicólise anaeróbica ocorre em tecidos que têm menos mitocôndrias, um alto conteúdo de enzimas glicolíticas e níveis mais altos de glicogênio ou fibras glicolíticas de contração rápida. Ela ocorre com mais freqüência no início – antes que ocorra vasodilatação para trazer substratos energéticos transportados pelo sangue. A regulação da degradação do glicogênio do músculo esquelético, portanto, deve responder muito rapidamente à necessidade de ATP, indicada por um aumento no AMP.

A regulação da síntese e da degradação do glicogênio no músculo esquelético difere daquela no fígado em vários aspectos importantes: (a) o glucagon não tem efeito sobre o músculo, e, assim, os níveis de glicogênio no músculo não variam com o estado de jejum/alimentado; (b) o AMP é um ativador alostérico da isoenzima muscular glicogênio-fosforilase, mas não da glicogênio-fosforilase hepática (Figura 28.10); (c) os efeitos do Ca^{2+} no músculo resultam principalmente da liberação de Ca^{2+} pelo retículo sarcoplasmático após a estimulação neural, e não pela captação estimulada por adrenalina; (d) a glicose não é um inibidor fisiológico da glicogênio-fosforilase a no músculo; (e) o glicogênio é um inibidor por retroalimentação da glicogênio-sintase do músculo mais forte do que da glicogênio-sintase hepática, resultando em uma quantidade menor de glicogênio armazenado por grama de peso de tecido muscular. Contudo, os efeitos da fosforilação pela proteína-quinase A estimulada por adrenalina sobre a degradação e a síntese de glicogênio do músculo esquelético são similares àqueles que ocorrem no fígado (ver Figura 28.8).

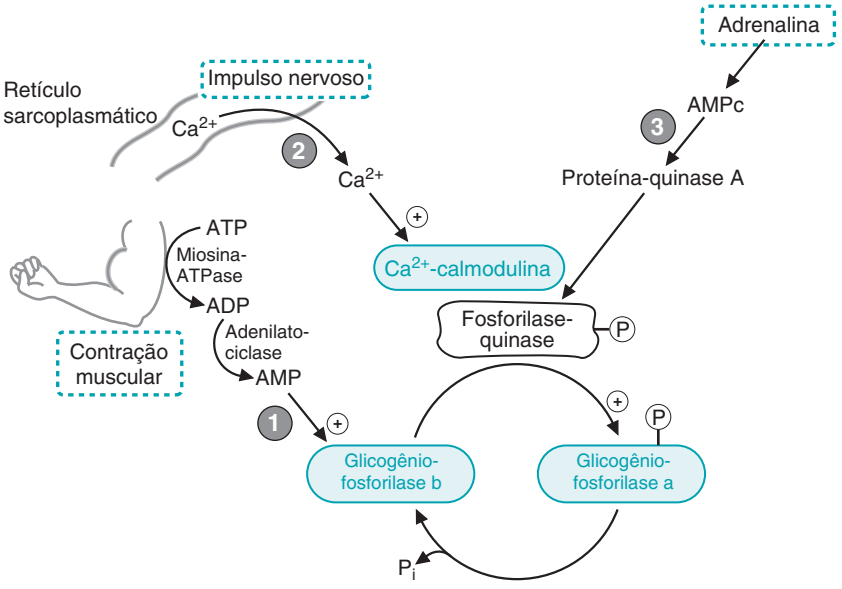


Figura 28.10 Ativação da glicogênio-fosforilase muscular durante o exercício. A glicogenólise no músculo esquelético é iniciada por contração muscular, impulsos nervosos e adrenalina. 1. O AMP produzido pela degradação de ATP durante a contração muscular ativa alostericamente a glicogênio-fosforilase b. 2. Os impulsos neurais que iniciam a contração liberam Ca^{2+} a partir do retículo sarcoplasmático. O Ca^{2+} se liga à calmodulina, a qual é uma proteína modificadora que ativa a fosforilase-quinase. 3. A fosforilase-quinase também é ativada por fosforilação por proteína-quinase A. A formação de AMPc e a ativação resultante de proteína-quinase A são iniciadas pela ligação de adrenalina a receptores da membrana plasmática.

A glicogênio-fosforilase do músculo é uma isoenzima geneticamente distinta da glicogênio-fosforilase hepática e contém uma seqüência de aminoácidos que tem um sítio de ligação para nucleotídeo púrico.

Quando o AMP se liga a esse sítio, ele altera a conformação do sítio catalítico para uma estrutura muito similar àquela da enzima fosforilada (ver Figura 9.9). Assim, a hidrólise de ATP a ADP e o conseqüente aumento de AMP gerado pela adenilatoquinase durante a contração muscular podem diretamente estimular a glicogenólise para fornecer substrato energético para a rota glicolítica. O AMP também estimula a glicólise pela ativação da fosfofrutoquinase-1, de tal modo que esse único efetor ativa a glicogenólise e a glicólise. A ativação da subunidade cálcio/calmodulina da fosforilase-quinase pelo Ca^{2+} liberado do retículo sarcoplasmático durante a contração muscular também fornece uma maneira direta e rápida de estimular a degradação de glicogênio.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

A hipoglicemia de **Getta Carbo** ilustra a importância das reservas de glicogênio no neonato. No nascimento, o feto deve fazer dois ajustes principais na maneira em que os substratos energéticos são utilizados: ele deve se adaptar para utilizar uma variedade maior de substratos energéticos do que era disponível no útero e deve se adaptar para ser alimentado de forma intermitente. No útero, o feto recebe um suprimento relativamente constante de glicose a partir da circulação materna através da placenta, produzindo um nível de glicose no feto que se aproxima de 75% dos níveis no sangue materno. Com respeito à regulação hormonal da utilização de substrato energético no útero, os tecidos fetais funcionam em um ambiente dominado pela insulina, a qual promove o crescimento. Durante as últimas 10 semanas de gestação, esse meio hormonal leva à formação e ao armazenamento de glicogênio. No nascimento, as alterações dietéticas da criança para uma dieta contendo quantidades maiores de gordura e lactose (galactose e glicose na mesma proporção) é oferecida em intervalos em vez de modo contínuo. Ao mesmo tempo, a necessidade do neonato por glicose será relativamente maior do que aquela do adulto, pois a razão entre o peso do cérebro e do fígado do recém-nascido é maior. Assim, a criança tem dificuldade ainda maior em manter a homeostase da glicose do que o adulto.

No momento em que o cordão umbilical é pinçado, o neonato normal se defronta com um problema metabólico: os altos níveis de insulina da existência fetal devem ser rapidamente revertidos para prevenir a hipoglicemia. Essa reversão é conseguida pela secreção dos hormônios contra-regulatórios adrenalina e glucagon. A liberação de glucagon é disparada pela diminuição normal da glicose sangüínea após o nascimento. A resposta neural que estimula a liberação de glucagon e adrenalina é ativada por anoxia, pinçamento do cordão e estimulação tátil que são parte do parto normal. Essas respostas têm sido referidas como "função sensória normal" do neonato.

Dentro de 3 a 4 horas de nascimento, esses hormônios contra-regulatórios restabelecem os níveis de glicose sérica no sangue do recém-nascido por suas ações glicogenolítica e gliconeogênica. A falha na "função sensória" normal de Getta resultou da má nutrição materna, a qual levou a uma deposição inadequada de glicogênio no fígado de Getta antes do nascimento. A conseqüência foi um grau sério de hipoglicemia pós-natal.

A habilidade em manter a homeostase da glicose durante os primeiros dias de vida também depende da ativação da gliconeogênese e da mobilização de ácidos graxos. A oxidação de ácidos graxos no fígado não apenas ativa a gliconeogênese (ver Capítulo 31), mas também gera corpos cetônicos. O cérebro neonatal tem uma capacidade aumentada de utilizar corpos cetônicos em relação ao das crianças (quatro vezes) e dos adultos (40 vezes). Essa habilidade é consistente com o conteúdo relativamente alto de gordura do leite materno.

Jim Bodie tentou aumentar sua massa muscular com andrógenos e insulina. Os efeitos anabólicos (retentor de nitrogênio) dos andrógenos sobre as células dos músculos esqueléticos aumentam a massa muscular pelo aumento do fluxo de aminoácidos para dentro do músculo e pela estimulação da síntese protéica.

A insulina exógena tem o potencial de aumentar a massa muscular por ações similares e também pelo aumento do conteúdo de glicogênio muscular.

Os efeitos colaterais mais sérios da administração de insulina é o desenvolvimento de hipoglicemia grave, tal como ocorreu em **Jim Bodie**. O efeito adverso imediato se relaciona com um fluxo inadequado de substrato energético (glicose) para o metabolismo cerebral. Quando a hipoglicemia é extrema, o paciente pode sofrer uma convulsão e, se a hipoglicemia piora, pode evoluir para coma e morrer. Se isso não for tratado, lesão cerebral irreversível ocorre naqueles que sobrevivem.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



O efeito regulatório da insulina com freqüência é descrito como de ativação de fosfatases. Os efeitos da insulina na regulação da PP-1 hepática e muscular são complexos e ainda não estão completamente compreendidos.

A PP-1 é direcionada para partículas de glicogênio por quatro fatores tecido-específicos: G_M é encontrado no músculo esquelético; G_L é encontrado no fígado; PTG (proteína direcionada para o glicogênio, do inglês *protein targeting glycogen*) é encontrada em quase todos os tecidos, e R6 também é encontrada na maioria dos tecidos. Os fatores direcionadores se ligam a PP-1 e glicogênio e localizam a PP-1 para as partículas de glicogênio, onde a enzima estará fisicamente próxima às enzimas reguladas do metabolismo do glicogênio, fosforilase-quinase, glicogênio-fosforilase e glicogênio-sintase. A regulação da fosfatase envolverá interações complexas entre as enzimas-alvo, a subunidade que direciona, a fosfatase e a proteína inibidora 1. As interações também são tecido-específicas no caso de G_M e G_L.

A visão simplista da regulação da PP-1 hepática é como descrito a seguir. A PP-1 se liga a G_L e à partícula de glicogênio. A glicogênio-fosforilase a se liga ao complexo e, ao fazer isso, altera a conformação da PP-1, tornando-a inativa. Quando os níveis de glicose se elevam no sangue (p. ex., após uma refeição), a glicose é transportada nas células do fígado por transportadores GLUT 2, e o nível intracelular de glicose se eleva. A glicose pode se ligar à glicogênio-fosforilase a, a qual libera a inibição da PP-1, e a glicogênio-fosforilase a será convertida em glicogênio-fosforilase b pela PP-1 ativa. Adicionalmente, à medida que a glicose intracelular é convertida a glicose-6-fosfato pela glicoquinase, o aumento nos níveis de glicose-6-P ativa a PP-1 para desfosforilar a glicogênio-sintase, ativando, assim, a enzima sintetizadora de glicogênio. A visão complicada da regulação da PP-1 hepática também deve levar em consideração as interações PTG-PP-1 (PTG também é expresso no fígado) e as quinases que são ativadas pela insulina ou por glucagon/adrenalina, o que leva a alterações nas atividades das enzimas metabolizadoras do glicogênio.

Em contraste à regulação hepática, a regulação muscular da atividade da PP-1 por G_M é diretamente responsiva à fosforilação por quinases. Um evento de fosforilação que parece ser crítico é o da ser-67 de G_M, e, portanto, a fosfatase é removida de seus substratos e não pode reverter a fosforilação das enzimas-alvo. Se ser-67 está alterada para treonina, a fosforilação naquele sítio está bloqueada, e PP-1 não se dissocia de G_M. Isso indica a importância do evento de fosforilação na regulação da ação da PP-1 no músculo.

Trabalhos futuros serão necessários antes de uma compreensão completa de como a insulina reverte a estimulação da glicogenólise obtida por glucagon/adrenalina.

Leituras Sugeridas

Chen YT. Glycogen storage diseases. In: Scriver CR, Beauder AL, Valle D, Sly WS, et al., eds. The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease, vol I, 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:1521-1551.

Parker PH, Ballew M, Greene HL. Nutritional management fo glycogen storage disease. Annu Rev Nutr 1993;13:83-109.

Roach, P. Glycogen and its metabolism. Current Mol Med 2002;2:101-120.

Skurat AV, Roach PJ. Regulation of glycogen synthesis. In: LeRoith D, Taylor SI, Olefsky JM, eds. Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text, 2nd Ed. New York: Lippincott, Williams & Wilkins, 2000:251-264.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 28

1. A degradação do glicogênio normalmente produz qual das seguintes alternativas?

   (A) Mais glicose do que glicose-1-fosfato
   (B) Mais glicose-1-fosfato do que glicose
   (C) Quantidades iguais de glicose e glicose-1-fosfato
   (D) Nem glicose nem glicose-1-fosfato
   (E) Apenas glicose-1-fosfato

2. Um paciente tem grandes depósitos de glicogênio no fígado, os quais, após uma noite de jejum, têm ramos menores do que o normal. Essa anormalidade poderia ser causada por uma forma defeituosa de qual das seguintes proteínas ou atividades?

   (A) Glicogênio-fosforilase
   (B) Receptor de glucagon
   (C) Glicogenina
   (D) Amilo-1,6-glicosidase
   (E) Amilo-4,6-transferase

3. Um paciente adolescente com uma deficiência de fosforilase muscular foi examinado enquanto exercitava seu antebraço apertando uma bola de borracha. Comparado com uma pessoa normal realizando o mesmo exercício, esse paciente exibiria qual das seguintes alternativas?

   (A) Exercício por um tempo maior sem fadiga
   (B) Tem níveis aumentados de glicose no sangue retirado do antebraço
   (C) Tem níveis diminuídos de lactato no sangue retirado do braço
   (D) Tem níveis mais baixos de glicogênio em espécimes de biópsia do músculo do seu antebraço
   (E) Hiperglicemia

4. Em um teste de tolerância à glicose, uma pessoa no estado metabólico basal ingere uma grande quantidade de glicose. Se a pessoa é normal, essa ingestão resultaria em qual das seguintes alternativas?

   (A) Uma atividade aumentada da glicogênio-sintase no fígado
   (B) Uma razão aumentada da glicogênio-fosforilase a em relação à glicogênio-fosforilase b no fígado
   (C) Uma razão aumentada da formação de lactato nas células sangüíneas vermelhas
   (D) Uma inibição da atividade da proteína-fosfatase 1 no fígado
   (E) Um aumento nos níveis de AMPc no fígado

5. Considere um diabético tipo 1 que negligenciou sua utilização de insulina pelas últimas 72 horas e também não comeu muito. Qual das seguintes alternativas descreve melhor o nível de atividade de enzimas hepáticas envolvidas no metabolismo de glicogênio sob essas condições?

	Glicogênio-sintase	Fosforilase-quinase	Glicogênio-fosforilase
(A)	Ativa	Ativa	Ativa
(B)	Ativa	Ativa	Inativa
(C)	Ativa	Inativa	Inativa
(D)	Inativa	Inativa	Inativa
(E)	Inativa	Ativa	Inativa
(F)	Inativa	Ativa	Ativa

29 Rotas do Metabolismo de Carboidratos: Rota da Pentose-Fosfato, Frutose e Metabolismo da Galactose

A glicose está no centro do metabolismo de carboidratos e é o principal ***carboidrato*** *da dieta. Outros carboidratos na dieta são convertidos a intermediários do metabolismo da glicose, e seus destinos são paralelos aos da glicose. Quando outros carboidratos que não a glicose são necessários para a síntese de diversos compostos, como lactose, glicoproteínas ou glicolipídeos, eles são sintetizados a partir de glicose.*

A ***frutose****, o segundo carboidrato mais comum na dieta adulta, é ingerida principalmente como monossacarídeo ou parte da* ***sacarose*** *(Figura 29.1). Ela é metabolizada principalmente no fígado (e em uma extensão menor no intestino delgado e nos rins) pela fosforilação na posição 1 para formar* ***frutose-1-fosfato****, seguida pela conversão a intermediários da rota glicolítica. Os principais produtos de seu metabolismo no fígado são, portanto, os mesmos que os da glicose (incluindo lactato, glicose sangüínea e glicogênio). A* ***frutosúria essencial*** *(****deficiência de frutoquinase****) e a* ***intolerância hereditária à frutose*** *(uma deficiência da quebra da frutose-1-fosfato pela* ***aldolase B****) são distúrbios hereditários do metabolismo da frutose.*

A síntese de frutose a partir de glicose na ***rota poliol*** *ocorre nas vesículas seminais e em outros tecidos. A* ***aldose-redutase*** *converte glicose ao álcool monossacarídeo* ***sorbitol*** *(um poliol), o qual é, então, oxidado a frutose. Nas lentes do olho, os níveis elevados de sorbitol no diabetes melito podem contribuir para a formação de* ***catarata****.*

A galactose é ingerida principalmente como ***lactose****, a qual é convertida a galactose e glicose nos intestinos. A* ***galactose*** *é convertida a glicose principalmente no fígado. Ela é fosforilada a galactose-1-fosfato pela* ***galactoquinase*** *e ativada a um UDP-monossacarídeo pela* ***galactosil-uridililtransferase****. A rota metabólica produz glicose-1-fosfato. A* ***galactosemia clássica****, uma deficiência de galactosil-uridililtransferase, resulta no acúmulo de galactose-1-fosfato no fígado e na inibição do metabolismo do glicogênio hepático e de outras rotas que necessitam de UDP-monossacarídeos. A catarata pode ocorrer pelo acúmulo de galactose no sangue, a qual é convertida a* ***galactitol*** *(o álcool derivado do monossacarídeo galactose) nas lentes do olho.*

A ***rota da pentose-fosfato*** *consiste nos componentes* ***oxidativos*** *e* ***não-oxidativos*** *(Figura 29.2). Na rota oxidativa, a glicose-6-fosfato é oxidada a* ***ribulose-5-fosfato****,* CO_2 *e* ***NADPH****. A ribulose-5-fosfato, uma pentose, pode ser convertida a* ***ribose-5-fosfato*** *para a síntese de nucleotídeo. O NADPH é utilizado pelas rotas redutoras, como a* ***biossíntese de ácidos graxos****, a* ***detoxificação*** *de drogas por monoxigenases e o* ***sistema de defesa da glutationa*** *contra lesão por espécies reativas de oxigênio (EROS).*

Na fase não-oxidativa da rota, a ribulose-5-fosfato é convertida a ribose-5-fosfato e a intermediários da rota glicolítica. Essa porção da rota é reversível: portanto a ribose-5-fosfato também pode ser formada a partir de intermediários da glicólise.

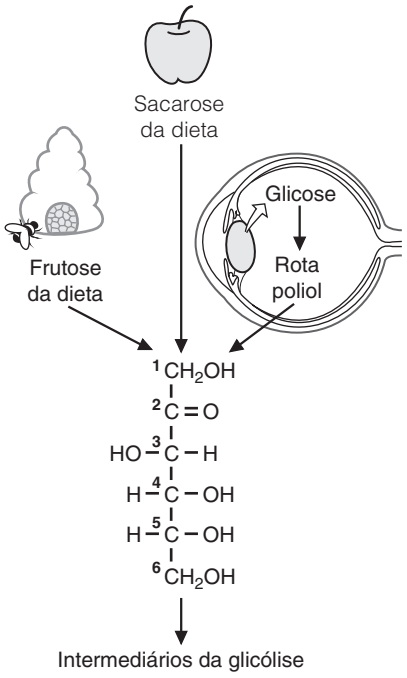


Figura 29.1 Frutose. O carboidrato frutose é encontrado na dieta como monossacarídeo livre nos alimentos, como o mel, ou como um componente do dissacarídeo sacarose nas frutas e nos doces. Ele também pode ser sintetizado a partir da glicose pela rota poliol. Nas lentes do olho, a rota poliol contribui para a formação de cataratas. A frutose é metabolizada pela conversão a intermediários da glicólise.

As enzimas em geral utilizam NADPH ou NADH, mas não ambos. As reações que requerem a entrada de elétrons como íons hidreto em geral são catalisadas por enzimas específicas para NADPH.

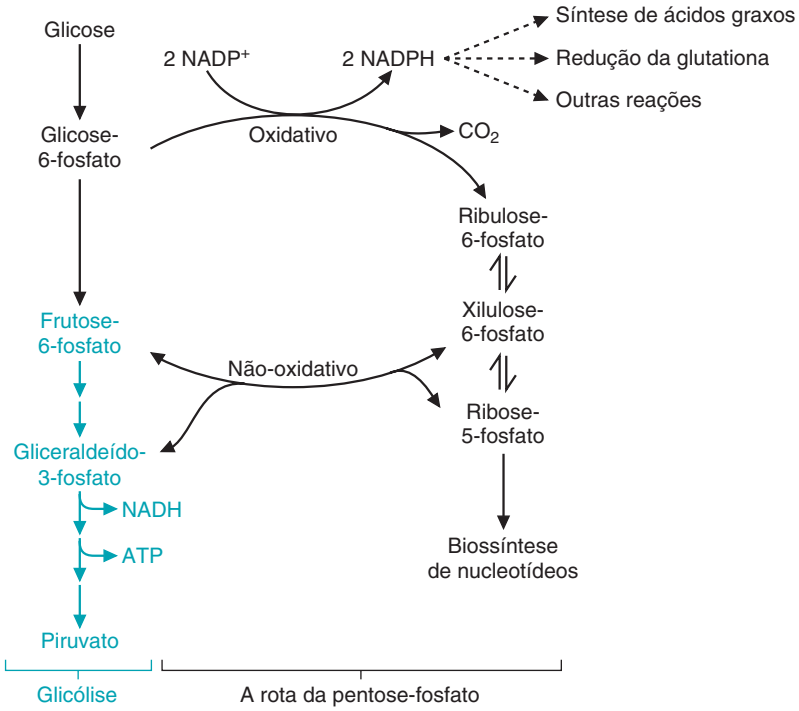


Figura 29.2 Visão geral da rota da pentose-fosfato. A rota da pentose-fosfato produz NADPH para reações que necessitam de equivalentes de redução (elétrons) ou ribose-5-fosfato para a biossíntese de nucleotídeos. A glicose-6-fosfato é um substrato para a rota da pentose-fosfato e a glicólise. Os intermediários de monossacarídeos de cinco carbonos são reversivelmente interconvertidos a intermediários da glicólise. A porção da glicólise que não é parte da rota da pentose-fosfato é mostrada em azul.

A rota da pentose-fosfato também é chamada de desvio da hexose-monofosfato (desvio HMP). Ela desvia hexoses da glicólise, formando pentoses, as quais podem ser reconvertidas a intermediários da glicólise.

Uma das enzimas envolvidas nessa interconversão de monossacarídeos, a ***transcetolase****, utiliza* ***tiamina-pirofosfato*** *como coenzima.*

Os monossacarídeos produzidos pela rota da pentose-fosfato entram na glicólise como frutose-6-fosfato e gliceraldeído-3-fosfato, e seu metabolismo na rota glicolítica produz NADH, trifosfato de adenosina (ATP) e piruvato. A equação geral para a conversão da glicose-6-fosfato a frutose-6-fosfato e gliceraldeído-3-fosfato por ambas as reações oxidativa e não-oxidativa da rota da pentose-fosfato é:

$$3\ \text{glicose-6-P} + 6\ NADP^+ \rightarrow 3\ CO_2 + 6\ NADPH + 6\ H^+ + 2\ \text{frutose-6-P} + \text{gliceraldeído-3-P}.$$

SALA DE ESPERA

Candice Sucher é uma garota de 18 anos que foi ao médico para um exame antes de entrar na faculdade. Enquanto coletava a história clínica, o médico foi informado de que ela evitava cuidadosamente comer todas as frutas e quaisquer alimentos que continham açúcar. Ela refere que, desde uma idade muito precoce, aprendeu que esses alimentos causavam fraqueza grave e sintomas sugestivos de baixa glicose no sangue, como tremor e sudorese. A história clínica também indicou

que sua mãe a tinha descrito como tendo sido um bebê muito irritável, que com freqüência chorava incessantemente, em especial após refeições, e vomitava freqüentemente. Nessas vezes, o abdômen de Candice se tornava distendido, e ela ficava sonolenta e apática. Sua mãe tinha, por intuição, eliminado certos alimentos da dieta de Candice, após o que a gravidade e a freqüência desses sintomas diminuíram.



Erin Galway é uma menina de 3 semanas de idade que iniciou com vômitos três dias após o nascimento, em geral dentro de 30 minutos após ser amamentada. O abdômen ficava distendido nesses momentos, e com freqüência ela ficava irritada e chorava. Quando sua mãe notou que o branco dos olhos de Erin estavam amarelos, ela a levou ao pediatra. O médico concordou que Erin estava levemente ictérica. Ele também notou um aumento do fígado e questionou a possibilidade de formação precoce de catarata nas lentes dos olhos de Erin. Ele solicitou testes de função hepática e renal e fez dois testes de fita na urina em seu consultório, um para medir apenas glicose na urina e o outro capaz de detectar qualquer carboidrato redutor.



Al Martini desenvolveu uma febre de 38,6ºC no seu segundo dia de hospitalização por alcoolismo agudo. Ele tinha uma tosse produtiva com escarro acinzentado. Um raio X de tórax mostrou pneumonia de lobo inferior. Uma lâmina de seu escarro mostrou muitos bacilos pleiotróficos gram-negativos. O escarro foi enviado para cultura e para determinar quais antibióticos seriam efetivos para tratar o organismo causador (teste de sensibilidade). Como a acompanhante do paciente informou que ele tinha alergia a penicilina, foi iniciada uma combinação de antibióticos com trimetoprima e sulfametoxazol (TMP/sulfa). Não era do conhecimento da acompanhante que ele tivesse sido tratado previamente com sulfa.

No terceiro dia de terapia com TMP/sulfa para sua pneumonia, Al Martini estava levemente ictérico. O nível de hemoglobina tinha diminuído para 3,5 g/dL a partir do valor da admissão, e a urina estava marrom-avermelhada devido à presença de hemoglobina livre. O Sr. Martini aparentemente tinha sofrido uma hemólise aguda (lise ou destruição de algumas de suas células sangüíneas vermelhas) induzida por infecção e exposição ao fármaco sulfa.

I. FRUTOSE

A frutose é encontrada na dieta como componente da sacarose na fruta, como um monossacarídeo livre no mel e em xarope de milho com alta frutose (ver Figura 29.1). A frutose entra nas células epiteliais e em outros tipos de células por difusão facilitada por transportador GLUT V. Ela é metabolizada a intermediários da glicólise. Os problemas com a absorção e o metabolismo de frutose são relativamente mais freqüentes do que com outros carboidratos.

A. Metabolismo da Frutose

A frutose é metabolizada pela conversão a gliceraldeído-3-P e diidroxiacetona-fosfato, que são intermediários de glicólise (Figura 29.3). As etapas são paralelas àquelas da glicólise. A primeira etapa no metabolismo da frutose, assim como no da glicose, é a fosforilação. A frutoquinase, a principal-quinase envolvida, fosforila frutose na posição 1. A frutoquinase tem uma $V_{máx}$ alta e rapidamente fosforila frutose quando ela entra na célula. A frutose-1-fosfato formada não é um intermediário da glicólise, mas sim é quebrada pela aldolase B a diidroxiacetona-fosfato (um intermediário da glicólise) e gliceraldeído. O gliceraldeído é, então, fosforilado a gliceraldeído-3-P pela triose-quinase. Diidroxiacetona-fosfato e gliceraldeído-3-fosfato são intermediários da rota glicolítica e podem proceder através dela a piruvato, ciclo do TCA e síntese de ácidos graxos. Alternativamente, esses intermediários também podem ser convertidos a glicose por gliconeogênese. Em outras palavras, o destino da frutose é paralelo àquele da glicose.



Quando pessoas com defeitos de aldolase B ingerem frutose, os níveis extremamente altos de frutose-1-fosfato que se acumulam no fígado e nos rins causam diversos efeitos adversos. A hipoglicemia resulta da inibição da glicogenólise e da gliconeogênese. A glicogênio-fosforilase (e possivelmente a fosfoglicomutase e outras enzimas do metabolismo de glicogênio) é inibida pela frutose-1-fosfato acumulada. A aldolase B é necessária para a síntese de glicose a partir de gliceraldeído-3-fosfato e diidroxiacetona-fosfato, e sua baixa atividade em pessoas deficientes de aldolase B é mais diminuída pela frutose-1-fosfato acumulada. A inibição da gliconeogênese resulta em acidose láctica.

O acúmulo de frutose-1-fosfato também esvazia substancialmente as reservas de fosfato. A reação da frutoquinase utiliza ATP em uma velocidade rápida, de tal modo que a mitocôndria regenera ATP rapidamente, o que leva a uma queda nos níveis de fosfato livre. Os níveis baixos de fosfato liberam a inibição da AMP-desaminase, a qual converte AMP a monofosfato de inosina (IMP). A base nitrogenada do IMP (hipoxantina) é degradada a ácido úrico. A falta de fosfato e a depleção de nucleotídeo-adenina leva a uma perda de ATP, além de contribuir para a inibição das rotas biossintéticas, incluindo gliconeogênese.

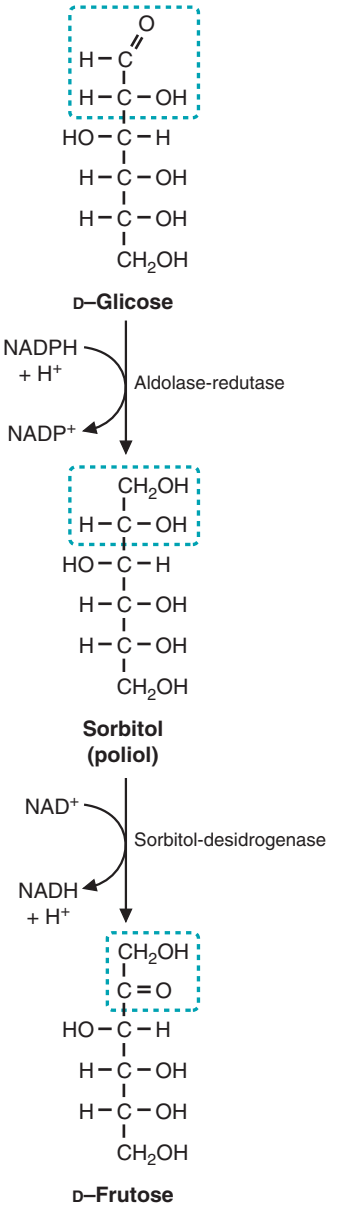


Figura 29.4 A rota do poliol converte glicose em frutose.

Q: A frutosúria essencial é um distúrbio genético benigno causado por uma deficiência da enzima frutoquinase. Como essa doença é benigna, quando uma deficiência de aldolase B (intolerância hereditária à frutose) pode ser fatal? **Candice Sucher** poderia ter frutosúria essencial?

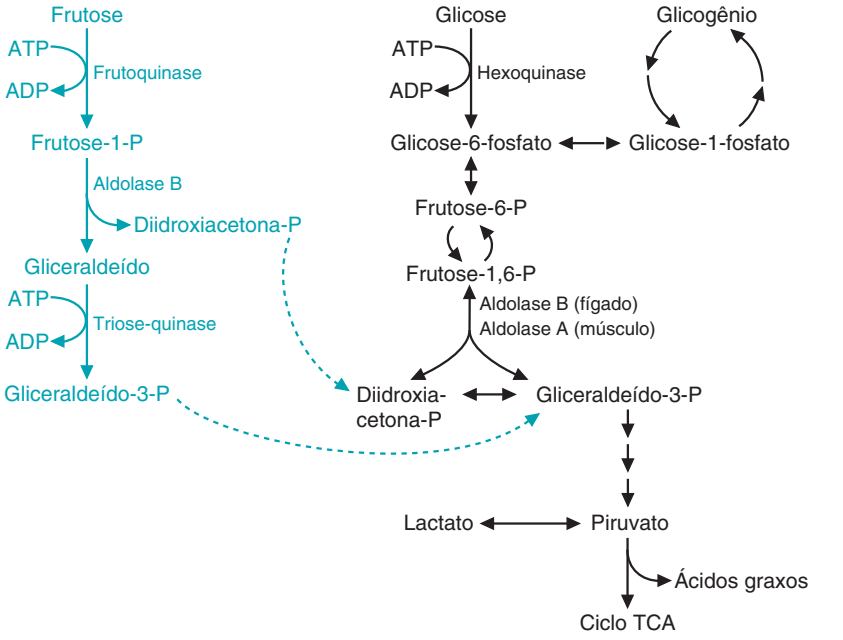


Figura 29.3 Metabolismo da frutose. A rota para a conversão da frutose a diidroxiacetona-fosfato e gliceraldeído-3-fosfato é mostrada em azul. Esses dois componentes são intermediários da glicólise e são convertidos no fígado principalmente a glicose, glicogênio ou ácidos graxos. No fígado, a aldolase B quebra a frutose-1-fosfato na rota para o metabolismo da frutose e a frutose-1,6-bisfosfato na rota da glicólise.

O metabolismo da frutose ocorre principalmente no fígado e em uma extensão menor na mucosa do intestino delgado e no epitélio proximal dos túbulos renais, pois esses tecidos têm frutoquinase e aldolase B. A aldolase existe como diversas isoformas: aldolases A, B, C e aldolase fetal. Embora todas essas isoformas de aldolase possam quebrar frutose-1,6-bisfosfato, o intermediário da glicólise, apenas aldolase B também pode quebrar frutose-1-fosfato. Aldolase A, presente no músculo e na maioria dos outros tecidos, e a aldolase C, presente no cérebro, não têm quase nenhuma habilidade de quebrar frutose-1-fosfato. A aldolase fetal, presente no fígado antes do nascimento, é similar à aldolase C.

A aldolase B é a enzima limitante da velocidade do metabolismo da frutose, embora não seja uma enzima limitante da velocidade da glicólise. Ela tem uma afinidade muito menor por frutose-1-fosfato do que por frutose-1,6-bisfosfato (embora o k_{cat} seja o mesmo) e é muito lenta nos níveis fisiológicos de frutose-1-fosfato. Como conseqüência, após ingerir uma alta dose de frutose, pessoas normais acumulam frutose-1-fosfato no fígado enquanto ela é lentamente convertida a intermediários glicolíticos. Pessoas com intolerância hereditária à frutose (uma deficiência de aldolase B) acumulam quantidades muito maiores de frutose-1-fosfato no fígado.

Outros tecidos também têm capacidade de metabolizar frutose, mas o fazem de forma muito mais lenta. As isoformas da hexoquinase presentes nos músculos, no tecido adiposo e nos outros tecidos podem converter frutose a frutose-6-fosfato, mas reagem de forma muito mais eficiente com glicose. Como resultado, a fosforilação da frutose é muito lenta na presença de níveis fisiológicos de glicose e glicose-6-fosfato intracelular.

B. Síntese de Frutose na Rota Poliol

A frutose pode ser sintetizada a partir de glicose na rota poliol. A rota poliol é assim denominada a partir da primeira etapa da rota, na qual monossacarídeos são reduzi-

dos a seus derivados alcoólicos pela enzima aldose-redutase (Figura 29.4). A glicose é reduzida ao álcool sorbitol, e esse é, então, oxidado a frutose. Essa rota está presente em vesículas seminais, as quais sintetizam frutose para o líquido seminal. Os espermatozóides utilizam frutose como uma fonte de substrato energético principal no líquido seminal e, então, trocam para glicose no trato reprodutor feminino. A utilização de frutose parece prevenir a quebra acrossomal da membrana plasmática (e a conseqüente ativação) enquanto os espermatozóides ainda estão no líquido seminal.

A rota poliol está presente em muitos tecidos, mas sua função em todos os tecidos não é compreendida. A aldose-redutase é relativamente não-específica, e sua principal função pode ser o metabolismo de um outro monossacarídeo aldeído a não ser glicose. A atividade dessa enzima pode levar a grandes problemas nas lentes do olho, onde é responsável pela produção de sorbitol a partir de glicose e galactitol a partir de galactose. Quando a concentração de glicose ou galactose está elevada no sangue, seu respectivo derivado alcoólico é sintetizado nas lentes de forma mais rápida do que pode ser removido, resultando em pressão osmótica aumentada dentro das lentes.

O acúmulo de sorbitol no tecido muscular e nervoso pode contribuir para a neuropatia periférica característica de pacientes com diabetes melito mal controlado. Essa é uma das razões por que é tão importante para **Di Abietes** (que tem diabetes melito tipo 1) e **Ann Sulin** (que tem diabetes melito tipo 2) conseguir controle glicêmico.

O acúmulo de monossacarídeos e alcoóis derivados de sacarídeos nas lentes de pacientes com hiperglicemia (p. ex., diabetes melito) resulta na formação de cataratas. Os níveis de glicose estão elevados e aumentam a síntese de sorbitol e frutose. Como conseqüência, uma pressão osmótica alta é criada nas lentes. Os altos níveis de glicose e frutose também resultam em glicosilação não-enzimática das proteínas das lentes. O resultado da pressão osmótica aumentada e da glicosilação das proteínas das lentes é uma opacidade das lentes conhecida como catarata. **Erin Galway** parece ter uma catarata precoce, provavelmente causada pelo acúmulo de galactose e de seu derivado alcoólico galactitol.

II. METABOLISMO DA GALACTOSE – METABOLISMO A GLICOSE-1-FOSFATO

A galactose da dieta é metabolizada principalmente pela fosforilação a galactose-1-fosfato e, então, conversão a UDP-galactose e glicose-1-fosfato (Figura 29.5). A fosforilação da galactose, novamente uma primeira etapa importante na rota, é realizada por uma quinase específica, a galactoquinase. A formação de UDP-galactose é conseguida por ataque do oxigênio do fosfato da galactose-1-fosfato sobre o fosfato α da UDP-glicose, liberando glicose-1-fosfato enquanto forma UDP-galactose. A enzima que catalisa essa reação é a galactose-1-fosfato-uridililtransferase. A UDP-galactose é, então, convertida a UDP-glicose pela UDP-glicose-epimerase reversível (a configuração do grupo hidroxila no carbono quatro é revertida nessa reação). O resultado total dessa seqüência de reações é que a galactose é convertida a glicose-1-fosfato, às custas de uma ligação de ATP rica em energia. A soma dessas reações está indicada nas seguintes equações:

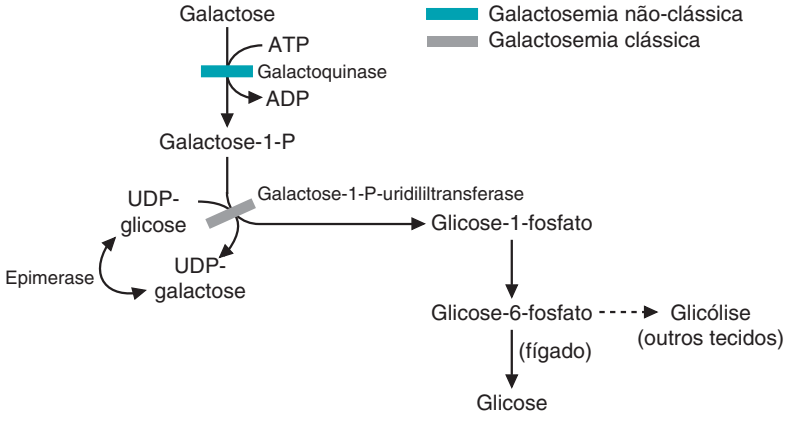


Figura 29.5 Metabolismo da galactose. A galactose é fosforilada a galactose-1-fosfato pela galactoquinase. A galactose-1-fosfato reage com UDP-glicose para liberar glicose-1-fosfato. A galactose, então, pode ser convertida a glicose sangüínea, entrar na glicólise ou em qualquer outra rota metabólica da glicose. Na galactosemia clássica, uma deficiência de galactose-1-fosfato uridililtransferase (mostrado em cinza) resulta no acúmulo de galactose-1-fosfato em tecidos e no aparecimento de galactose no sangue e na urina. Na galactosemia não-clássica, uma deficiência de galactoquinase resulta no acúmulo de galactose.

Na frutosúria essencial, a frutose não pode ser convertida a frutose-1-fosfato. Essa condição é benigna, pois os metabólitos tóxicos da frutose não se acumulam no fígado, e os pacientes permanecem quase assintomáticos. Parte da frutose ingerida é lentamente fosforilada pela hexoquinase em tecidos não-hepáticos e metabolizada pela glicólise, e parte aparece na urina. Não há limite renal para a frutose; o aparecimento renal de frutose na urina (frutosúria) não necessita de uma alta concentração de frutose no sangue.

A intolerância hereditária à frutose, inversamente, resulta no acúmulo de frutose-1-fosfato e frutose. Por inibir a glicogenólise e a gliconeogênese, os altos níveis de frutose-1-fosfato causaram a hipoglicemia que **Candice Sucher** teve quando criança, quando ela se tornava apática e sonolenta, e quando adulta, tendo sudorese e tremores.

A urina de **Erin Galway** foi negativa para glicose quando medida com a fita de glicose-oxidase, mas foi positiva para a presença de açúcar redutor. O carboidrato redutor foi identificado como galactose. Seus testes de função hepática mostraram um aumento na bilirrubina sérica e em várias enzimas hepáticas. A albumina estava presente na urina. Esses achados e a história clínica aumentaram a suspeita de seu médico de que Erin tinha galactosemia clássica.

A galactosemia clássica é causada por uma deficiência de galactose-1-fosfato-uridililtransferase. Nessa doença, a galactose-1-fosfato se acumula nos tecidos, e galactose aumenta no sangue e na urina. Essa condição difere de uma deficiência de galactoquinase mais rara (galactosemia não-clássica), na qual galactosemia e galactosúria ocorrem, mas galactose-1-fosfato não é formada. Ambos os defeitos enzimáticos resultam em catarata a partir da formação de galactitol pela aldose-reductase na rota poliol. A aldose-redutase tem um K_m relativamente alto para galactose, aproximadamente 12 a 20 mM, de tal modo que galactitol é formado apenas em pacientes galactosêmicos que tenham ingerido galactose. O galactitol não é posteriormente metabolizado e se difunde para fora das lentes de forma muito lenta. Assim, a hipergalactosemia é ainda mais provável de causar catarata do que a hiperglicemia. **Erin Galway**, embora com apenas três semanas de idade, pareceu estar formando catarata precoce nas lentes dos olhos.

Um dos problemas mais sérios da galactosemia clássica é retardo mental irreversível. Reconhecendo esse problema, o médico de **Erin Galway** quis iniciar imediatamente com terapia dietética. Um teste que mede galactose-1-fosfato-uridililtransferase nos eritrócitos foi solicitado. A atividade da enzima estava praticamente ausente, confirmando o diagnóstico de galactosemia clássica.

(1) Galactose + ATP $\xrightarrow{\text{Galactoquinase}}$ Galactose-1-P + ADP

(2) Galactose-1-P + UDP-glicose $\xrightarrow{\text{Galactose-1-P -uridililtransferase}}$ UDP-galactose

(3) UDP-galactose $\xrightarrow{\text{UDP-glicose-epimerase}}$ UDP-glicose

Equação total: Galactose + ATP $\longrightarrow$ Glicose-1-fosfato + ADP

As enzimas para a conversão de galactose a glicose-1-fosfato estão presentes em muitos tecidos, incluindo os eritrócitos adultos, fibroblastos e tecidos fetais. O fígado tem uma atividade alta dessas enzimas e pode converter a galactose da dieta em glicose sangüínea e glicogênio. O destino da galactose da dieta, como o da frutose, portanto, é paralelo ao da glicose. A habilidade de metabolizar galactose é ainda maior em crianças do que em adultos. Crianças recém-nascidas ingerem até 1 g de galactose por kg por mamada (como lactose). Ainda assim a velocidade de metabolismo é tão alta que o nível sangüíneo na circulação sistêmica é menor do que 3 mg/dL e nenhuma galactose é perdida na urina.

III. A ROTA DA PENTOSE-FOSFATO

A rota da pentose-fosfato é essencialmente um desvio em torno da primeira etapa da glicólise que produz NADPH e ribose-5-P (bem como outros monossacarídeos pentose). A glicose-6-fosfato é o precursor comum a ambas as rotas. A primeira etapa oxidativa da rota da pentose-fosfato produz 2 moles de NADPH por glicose-6-fosfato oxidada. A segunda etapa da rota da pentose-fosfato produz ribose-5-P e converte intermediários não-utilizados a frutose-6-P e gliceraldeído-3-P na rota glicolítica (ver Figura 29.2). Todas as células necessitam de NADPH para a detoxicação redutora, e a maioria das células necessita de ribose-5-P para a síntese de nucleotídeo. Conseqüentemente, a rota está presente em todas as células. As enzimas se localizam no citosol, assim como as enzimas da glicólise.

A. Fase Oxidativa da Rota da Pentose-Fosfato

1. PRODUÇÃO DE NADPH

Na primeira fase oxidativa da rota da pentose-fosfato, a glicose-6-fosfato é descarboxilada de forma oxidativa a um monossacarídeo pentose, ribulose-5-fosfato (Figura 29.6). A primeira enzima dessa rota, a glicose-6-fosfato-desidrogenase, oxida o aldeído em C1 e reduz $NADP^+$ a NADPH. A gliconolactona que é formada é rapidamente hidrolisada a 6-fosfogliconato, um derivado ácido do monossacarídeo com um grupo carboxílico em C1. A próxima etapa de oxidação libera esse grupo carboxila como CO_2, com os elétrons sendo transferidos para $NADP^+$. Essas reações são mecanicamente muito semelhantes àquela catalisada pela isocitrato-desidrogenase no ciclo do TCA. Assim, 2 moles de NADPH por mol de glicose-6-fosfato são formados a partir dessa porção da rota.

O NADPH, mais do que o NADH, em geral é utilizado nas células para rotas que requerem a entrada de elétrons para reações de redução, pois a razão NADPH/$NADP^+$ é muito maior do que a razão NADH/NAD^+. O NADH produzido a partir da oxidação de substrato energético é rapidamente oxidado de volta a NAD^+ pela NADH-desidrogenase na cadeia de transporte de elétrons, de tal modo que o nível de NADH é muito baixo na célula.

O NADPH pode ser produzido a partir de diversas reações no fígado e em outros tecidos, mas não nas células sangüíneas vermelhas*. Por exemplo, em tecidos com mitocôndria, uma trans-hidrogenase que requer energia localizada próxima aos complexos da cadeia de transporte de elétrons pode transferir equivalentes redutores de NADH para $NADP^+$ a fim de produzir NADPH.

O NADPH, contudo, não pode ser diretamente oxidado pela cadeia de transporte de elétrons, e a razão de NADPH para $NADP^+$ nas células é maior do que um. O potencial de redução de NADPH, portanto, pode contribuir para a energia necessária para os processos de biossíntese e fornecer uma fonte constante de poder redutor para as reações de detoxicação.

*N. de R.T. Nas células sangüíneas o NADPH é produzido na rota da pentose-fosfato.

2. RIBOSE-5-FOSFATO A PARTIR DO BRAÇO OXIDATIVO DA ROTA

Para produzir ribose-5-fosfato a partir da rota oxidativa, a ribulose-5-fosfato formada a partir da ação de duas etapas oxidativas é isomerizada para produzir ribose-5-fosfato (uma conversão de cetose-a-aldose, similar à frutose-6-fosfato sendo isomerizada a glicose-6-fosfato; ver Seção III.B.I a seguir). A ribose-5-fosfato pode, então, entrar na rota da síntese de nucleotídeo, se necessário, ou pode ser convertida a intermediários glicolíticos, como descrito a seguir para a fase não-oxidativa da rota da pentose-fosfato. A rota pela qual a ribose-5-fosfato passa é determinada pelas necessidades da célula no momento de sua síntese.

B. A Fase Não-Oxidativa da Rota da Pentose-Fosfato

As reações não-oxidativas dessa rota são reações reversíveis que permitem que intermediários da glicólise (especificamente gliceraldeído-3-P e frutose-6-P) sejam convertidos em monossacarídeos de cinco carbonos (como ribose-5-P), e vice-versa. As necessidades da célula determinarão em qual direção essa rota procederá. Se a célula produziu ribose-5-P, mas não precisa sintetizar nucleotídeos, então a ribose-5-P será convertida a intermediários glicolíticos. Se a célula ainda necessita de NADPH, a ribose-5-P será convertida de volta a glicose-6-P utilizando as reações não-oxidativas (ver a seguir). Finalmente, se a célula já tem níveis altos de NADPH, mas precisa produzir nucleotídeos, as reações oxidativas da rota da pentose-fosfato serão inibidas, e os intermediários glicolíticos frutose-6-P e gliceraldeído-3-P serão utilizados para produzir monossacarídeos de cinco carbonos utilizando exclusivamente a fase não-oxidativa da rota da pentose-fosfato.

1. A CONVERSÃO DA RIBOSE-5-FOSFATO A INTERMEDIÁRIOS GLICOLÍTICOS

A porção não-oxidativa da rota da pentose-fosfato consiste em uma série de reações de redistribuição e transferência que primeiro converte ribulose-5-fosfato a ribose-5-fosfato e xilulose-5-fosfato, e, então, a ribose-5-fosfato e a xilulose-5-fosfato são convertidas em intermediários da rota glicolítica. As enzimas envolvidas são epimerase, isomerase, transcetolase e transaldolase.

A epimerase e a isomerase convertem ribulose-5-fosfato a dois outros monossacarídeos de 5 carbonos (Figura 29.7). A isomerase converte ribulose-5-fosfato a ribose-5-fosfato. A epimerase altera a posição estereoquímica de um grupo hidroxila (no carbono 3), convertendo ribulose-5-fosfato a xilulose-5-fosfato.

A transcetolase transfere fragmentos de 2 carbonos de ceto-monossacarídeos (monossacarídeos com grupo cetônico no C2) para outros monossacarídeos. A transcetolase pega um fragmento de 2 carbonos da xilulose 5-fosfato quebrando a ligação carbono-carbono entre o grupo cetônico e o carbono adjacente, liberando, assim, gliceraldeído-3-fosfato (Figura 29.8). O fragmento de 2 carbonos é ligado de forma covalente à tiamina-pirofosfato, a qual o transfere para o carbono aldeído de outro monossacarídeo, formando uma nova cetose. O papel da tiamina-pirofosfato aqui é, então,



A xilulose-5-fosfato foi recentemente identificada como um ativador de proteína-fosfatase 2A (PP2A). A PP2A remove fosfatos de PFK-2 e de um fator de transcrição que se liga a elementos responsivos a carboidratos em promotores de genes como a piruvato-quinase. A hidrólise dos fosfatos ativa ambas as proteínas, de tal modo que a xilulose-5-fosfato pode regular as rotas relacionando ambos os metabolismos de carboidratos e de gorduras.

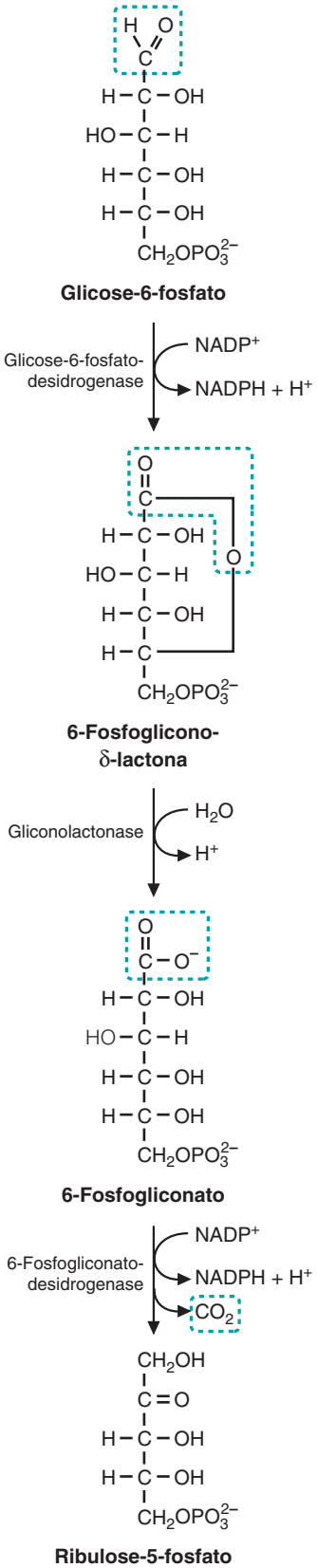


Figura 29.6 Porção oxidativa da rota da pentose-fosfato. O carbono 1 da glicose-6-fosfato é oxidado a um ácido e, então, liberado como CO_2 em uma reação de descarboxilação oxidativa. Cada etapa de oxidação produz um NADPH.

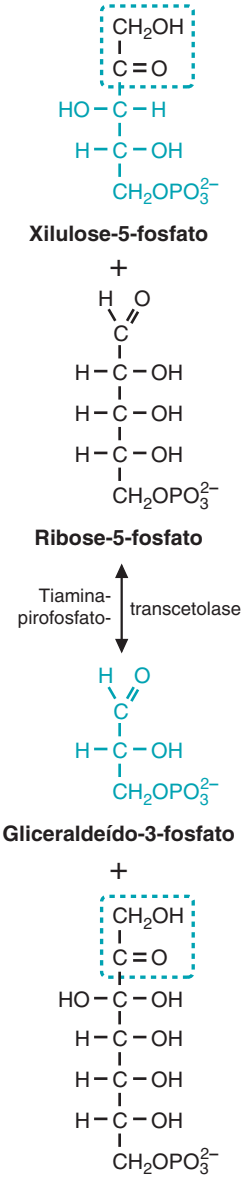


Figura 29.8 Unidades de dois carbonos transferidas pela transcetolase. A transcetolase quebra a ligação próxima ao grupo cetônico e transfere o fragmento de cetona de 2 carbonos para um aldeído. A tiamina-pirofosfato carrega o fragmento de 2 carbonos, formando uma ligação covalente com o carbono do grupo cetônico.

Médicos suspeitaram que o fato subjacente na destruição das células sangüíneas vermelhas de **Al Martini** era um defeito ligado ao X no gene que codifica a glicose-6-fosfato-desidrogenase. A célula sangüínea vermelha é dependente dessa enzima como uma fonte de NADPH para manter os níveis reduzidos de glutationa, uma de suas maiores defesas contra estresse oxidativo (ver Capítulo 24). A deficiência de glicose-6-fosfato-desidrogenase é a enzimopatia conhecida mais comum e afeta cerca de 7% da população mundial e cerca de 2% da população dos Estados Unidos. A maioria das pessoas deficientes de glicose-6-fosfato-desidrogenase é assintomática, mas sofre episódio de anemia hemolítica se exposta a certos fármacos, a certos tipos de infecção, ou se ingere feijão fava. Quando indagado, Al Martini respondeu que não sabia o que era feijão fava e que não sabia se era alérgico a ele.

muito similar ao seu papel na descarboxilação oxidativa do piruvato a α-cetoglutarato (ver Capítulo 20, Seção I.B). Duas reações na rota da pentose-fosfato utilizam transcetolase; na primeira, o fragmento de cetona com 2 carbonos da xilulose-5-fosfato é transferido para a ribose-5-fosfato para formar sedo-heptulose-7-fosfato; na outra, um fragmento de cetona de 2 carbonos (em geral derivado da xilulose-5-fosfato) é transferido para a eritrose-4-fosfato para formar frutose-6-fosfato.

A transaldolase transfere um fragmento de cetona de 3 carbonos da sedo-heptulose-7-fosfato para a gliceraldeído-3-fosfato para formar eritrose-4-fosfato e fruto-

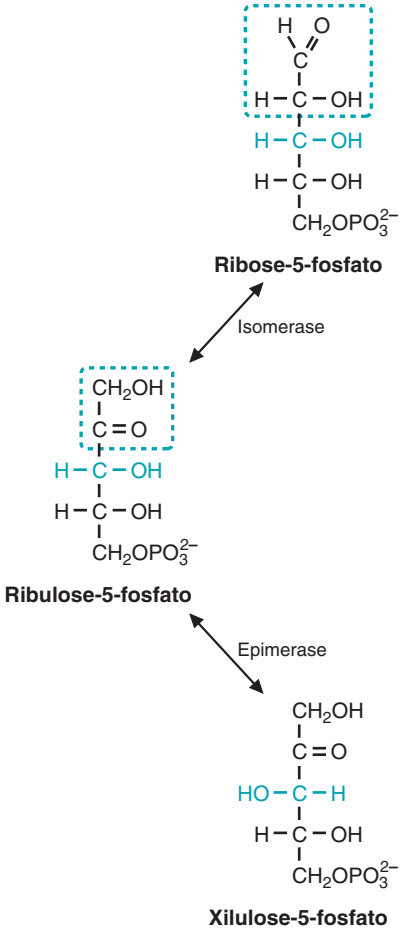


Figura 29.7 A ribulose-5-fosfato é epimerizada (a xilulose-5-fosfato) e isomerizada (a ribose-5-fosfato).

se-6-fosfato (Figura 29.9). A quebra de aldol ocorre entre as hidroxilas dos carbonos adjacentes ao grupo cetônico (nos carbonos 3 e 4 do monossacarídeo). Essa reação é similar à reação da aldolase na glicólise, e a enzima utiliza um grupo amino ativo, da cadeia lateral da lisina, para catalisar a reação.

O resultado total do metabolismo de 3 moles de ribulose-5-fosfato na rota da pentose-fosfato é a formação de 2 moles de frutose-6-fosfato e 1 mol de gliceraldeído-3-fosfato, o qual, então, continua através da rota glicolítica com a produção de NADH, ATP e piruvato. Devido ao fato de a rota da pentose-fosfato iniciar com glicose-6-fosfato e realimentar a rota glicolítica, ela algumas vezes é chamada de desvio da hexose-

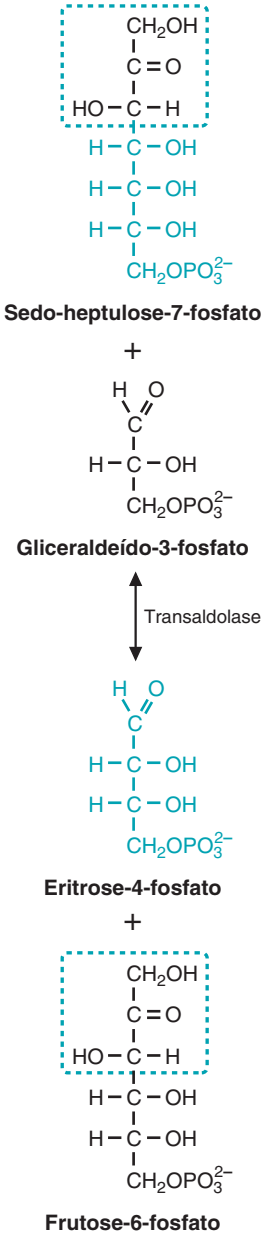


Figura 29.9 A transaldolase transfere um fragmento de 3 carbonos que contém um grupo álcool próximo a um grupo ceto.

A atividade da transcetolase das células sangüíneas vermelhas é utilizada para medir o estado nutricional de tiamina e diagnosticar a presença de deficiência de tiamina. A atividade da transcetolase é medida na presença e na ausência de tiamina-pirofosfato. Se a ingesta de tiamina de um paciente é adequada, a adição de tiamina-pirofosfato não aumenta a atividade da transcetolase, pois ela já contém tiamina-pirofosfato ligada. Se o paciente tem deficiência de tiamina, a atividade da transcetolase será baixa, e a adição tiamina-pirofosfato estimulará muito a reação. **Al Martini,** no Capítulo 19, teve diagnóstico da doença cardíaca beribéri resultante da deficiência de tiamina. O diagnóstico foi fundamentado em testes de laboratório que confirmaram a deficiência de tiamina.

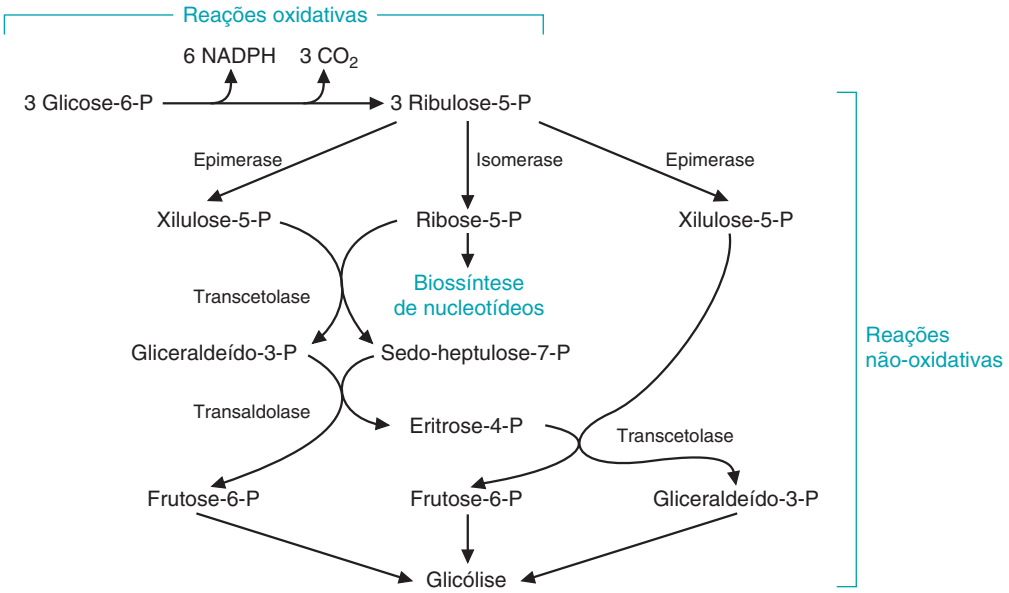


Figura 29.10 Uma seqüência balanceada de reações na rota da pentose-fosfato. A interconversão de monossacarídeos na rota da pentose-fosfato resulta na conversão de 3 glicose-6-fosfato a 6 NADPH, 3 CO_2, 2 frutose-6-fosfato e um gliceraldeído-3-fosfato.

monofosfato (um desvio ou uma rota para a glicose-6-fosfato). A seqüência de reação iniciando a partir de glicose-6-P, e envolvendo ambas as fases oxidativa e não-oxidativa da rota, é mostrada na Figura 29.10.

2. PRODUÇÃO DE RIBOSE-5-FOSFATO A PARTIR DE INTERMEDIÁRIOS DA GLICÓLISE

As reações catalisadas por epimerase, isomerase, transcetolase e transaldolase são todas reações reversíveis sob condições fisiológicas. Assim, a ribose-5-fosfato necessária para a síntese de purina e pirimidina pode ser produzida a partir de intermediário da rota glicolítica, bem como a partir da fase oxidativa da rota da pentose-fosfato. A seqüência de reações que produzem ribose-5-fosfato a partir de intermediários da glicólise é mostrada a seguir.

(1) Frutose-6-P + gliceraldeído-3-P $\xleftrightarrow{\textit{Transcetolase}}$ Eritrose-6-P + xilulose-5-p

(2) Eritrose-4-P + frutose-6-P $\xleftrightarrow{\textit{Transaldolase}}$ Sedo-heptulose-7-P + gliceraldeído-3-P

(3) Sedo-heptulose-7-P + gliceraldeído-3-P $\xleftrightarrow{\textit{Transcetolase}}$ Ribose-5-P + xilulose-5-P

(4) 2 Xilulose-5-P $\xleftrightarrow{\textit{Epimerase}}$ 2 Ribulose-5-P

(5) 2 Ribulose-5-P $\xleftrightarrow{\textit{Isomerase}}$ 2 Ribose-5-P

Equação total: 2 frutose-6-P + gliceraldeído-3-P $\longleftrightarrow$ *3 Ribose-5-P*

C. Papel da Rota da Pentose-Fosfato na Produção de NADPH

Em geral, a fase oxidativa da rota da pentose-fosfato é a principal fonte de NADPH nas células. O NADPH fornece os equivalentes redutores para as reações de biossíntese e para as reações de oxirredução envolvidas na proteção contra a toxicidade de ERO (ver Capítulo 24). A defesa mediada por glutationa contra estresse oxidativo é comum a todos os tipos de células (incluindo as células sangüíneas vermelhas), e a necessidade de NADPH para manter a glutationa reduzida provavelmente é responsável pela distribuição universal da rota da pentose-fosfato entre os diferentes tipos de células. A Figura 29.11 ilustra a importância dessa rota na manutenção da integridade da membrana das células sangüíneas vermelhas. O NADPH também é utilizado para rotas anabólicas, como síntese de ácidos graxos, síntese de colesterol e alongamento da cadeia de ácidos graxos (Tabela 29.1). Ela é a fonte de equivalentes redutores para a hidroxilação por citocromo P450 de compostos aromáticos, esteróides, alcoóis e fármacos. As maiores concentrações de glicose-6-fosfato-desidrogenase são encontradas em células fagocíticas, onde a NADPH-oxidase utiliza NADPH para formar superóxido a partir de oxigênio molecular. O superóxido produz peróxido de oxigênio, o qual mata os microrganismos captados pelas células fagocíticas (ver Capítulo 24).

A entrada de glicose-6-fosfato na rota da pentose-fosfato é controlada pela concentração celular de NADPH. O NADPH é um forte produto inibidor da glicose-6-fosfato-desidrogenase, a primeira enzima da rota. À medida que o NADPH é oxidado em outras rotas, a inibição por produto da glicose-6-fosfato-desidrogenase é aliviada, e a velocidade da enzima é acelerada para produzir mais NADPH.

Tabela 29.1 Rotas que Necessitam de NADPH

Detoxicação
• Redução da glutationa oxidada
• Citocromo P450-monoxigenases
Síntese redutoras
• Síntese de ácidos graxos
• Alongamento da cadeia de ácidos graxos
• Síntese de colesterol
• Síntese de neurotransmissores
• Síntese de nucleotídeos
• Síntese de superóxidos

Q: Como a energia total liberada do metabolismo de 3 moles de glicose-6-fosfato pela rota da pentose-fosfato a piruvato se compara a 3 moles de glicose-6-fosfato liberados pela glicólise?

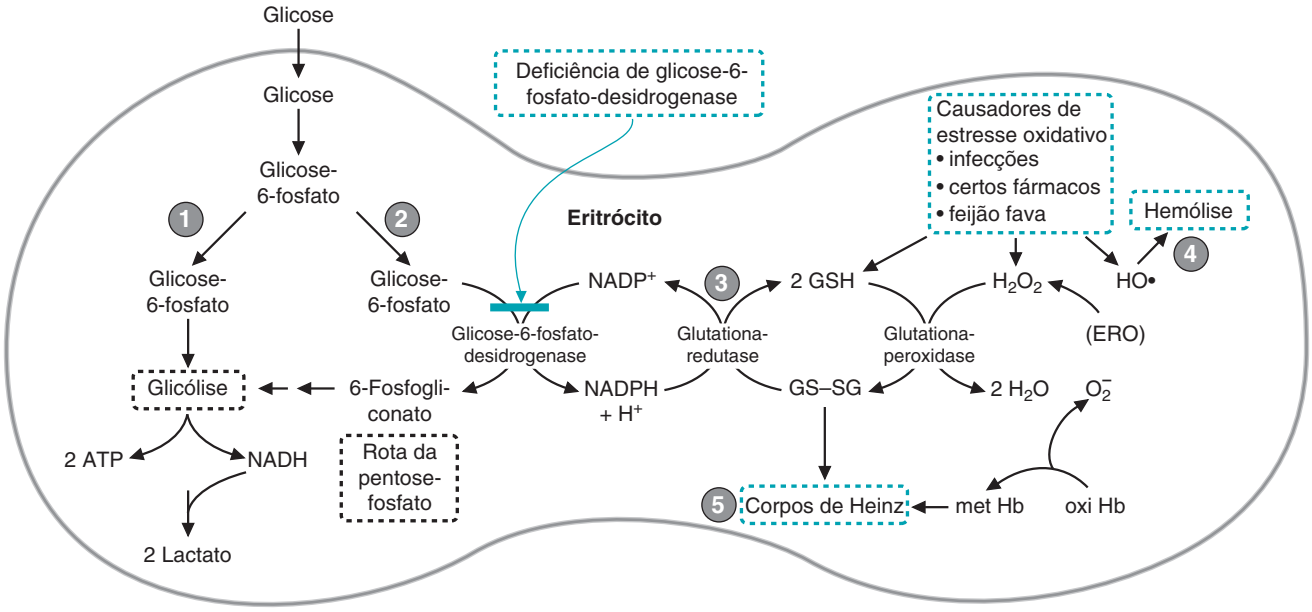


Figura 29.11 Hemólise causada por espécies reativas de oxigênio. 1. A manutenção da integridade da membrana do eritrócito depende de sua habilidade de produzir ATP e NADH a partir da glicólise. 2. O NADPH é produzido pela rota da pentose-fosfato. 3. O NADPH é utilizado para a redução de glutationa oxidada a glutationa reduzida. A glutationa é necessária para a remoção de H_2O_2 e peróxidos de lipídeos produzidos por espécies reativas de oxigênio (ERO). 4. Nos eritrócitos de pessoas saudáveis, a produção contínua de íon superóxido a partir da oxidação não-enzimática da hemoglobina fornece uma fonte de espécies reativas de oxigênio. O sistema de defesa da glutationa está comprometido por deficiência da glicose-6-fosfato-desidrogenase, infecções, certos fármacos e glicosídeos púricos do feijão fava. 5. Como conseqüência, os corpos de Heinz, agregados da reação cruzada da hemoglobina, formam-se nas membranas celulares e sujeitam a célula a estresse mecânico quando ela tenta passar através de pequenos capilares. A ação dos ERO sobre a membrana celular bem como o estresse mecânico da falta da capacidade de se deformar resultam em hemólise.

R: A energia líquida liberada a partir de 3 moles de glicose-6-fosfato metabolizada pela rota da pentose-fosfato e pela última porção da rota glicolítica é de 6 moles de NADPH, 3 moles de CO_2, 5 moles de NADH, 8 moles de ATP e 5 moles de piruvato. Em contraste, o metabolismo de 3 moles de glicose-6-fosfato pela glicólise é 6 moles de NADH, 9 moles de ATP e 6 moles de piruvato.

Tabela 29.2 Necessidades Celulares Determinam a Direção das Reações da Rota da Pentose-Fosfato

Necessidade Celular	Direção da Rota Metabólica
Apenas NADPH	Reações oxidativas produzem NADPH; reações não-oxidativas convertem ribulose-5-P a glicose-6-P para produzir mais NADPH.
NADPH + ribose-5-P	Reações oxidativas produzem NADPH e ribulose-5-P; a isomerase converte ribulose-5-P a ribose-5-P.
Apenas ribose-5-P	Apenas reações não-oxidativas. NADPH alto inibe glicose 6-P-desidrogenase; assim, transcetolase e transaldolase serão utilizadas para converter frutose-6-P e gliceraldeído-3-P a ribose-5-P.
NADPH e piruvato	Ambas as reações oxidativas e não-oxidativas são utilizadas. As reações oxidativas produzem NADPH e ribulose-5-P As reações não-oxidativas convertem a ribulose-5-P a frutose-6-P e gliceraldeído-3-P, e a glicólise converterá esses intermediários a piruvato.

No fígado, a síntese de ácidos graxos a partir de glicose é uma rota principal de reoxidação de NADPH. A síntese de glicose-6-fosfato-desidrogenase hepática, como a enzima-chave para a glicólise e a síntese de ácidos graxos, é induzida pela razão insulina/glucagon aumentada após uma refeição rica em carboidratos. Um resumo das possíveis rotas que a glicose-6-P pode seguir utilizando a rota da pentose-fosfato é apresentado na Tabela 29.2.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

A intolerância hereditária à frutose (IHF) é causada por um nível baixo de atividade da frutose-1-fosfato-aldolase na aldolase B, uma isoenzima da frutose-1,6-bisfosfato-aldolase que também é capaz de quebrar frutose-1-fosfato. Em pacientes de descendência européia, o defeito mais comum é uma mutação *missense* única no éxon 5 (G → C), resultando em uma substituição de aminoácido (Ala → Pro). Como resultado dessa substituição, uma aldolase B sem capacidade catalítica é sintetizada em abundância. A prevalência exata de IHF nos Estados Unidos não está estabelecida, mas é de aproximadamente 1 por 15.000 a 25.000 habitantes. A doença é transmitida por um padrão de herança autossômico recessivo.

Quando pacientes afetados, como **Candice Sucher**, ingerem frutose, a frutose é convertida a frutose-1-fosfato. Devido à deficiência de aldolase B, a frutose-1-fosfato não pode ser metabolizada a diidroxiacetona-fosfato, e gliceraldeído e se acumula naqueles tecidos que têm frutoquinase (fígado, rins e intestino delgado). A frutose é detectada na urina com testes de carboidrato redutor (ver Capítulo 5). Um teste de rastreamento de DNA (com base na produção de um novo sítio de restrição por uma mutação) fornece agora um método seguro para confirmar um diagnóstico de intolerância hereditária à frutose.

Em bebês e crianças pequenas, os principais sintomas incluem alimentação insuficiente, vômitos, desconforto intestinal e falha de desenvolvimento. Quanto maior a ingestão de frutose na dieta, tanto mais grave a reação clínica. O resultado de ingestão prolongada de frutose são alterações ultra-estruturais no fígado e nos rins, levando a insuficiência hepática e renal. A intolerância hereditária à frutose em geral é uma doença da infância, pois adultos com intolerância à frutose que sobreviveram evitam a ingestão de frutas, açúcar de mesa e outros doces.

Erin Galway tem galactosemia, a qual é causada por uma deficiência da galactose-1-fosfato-uridililtransferase; ela é uma das doenças genéticas mais comuns. A galactosemia é um distúrbio autossômico recessivo do metabolismo da galactose que ocorre em cerca de 1 em 60.000 recém-nascidos. Aproximadamente dois terços dos estados nos Estados Unidos rastream recém-nascidos para essa doença, pois a falha em iniciar o tratamento imediato resulta em retardo mental. Falha

no desenvolvimento é o sintoma clínico inicial mais comum. Vômitos ou diarréia são encontrados na maioria dos pacientes, em geral iniciando em poucos dias após a ingestão de leite. Sinais de distúrbio de função hepática, icterícia ou hepatomegalia estão igualmente presentes após a primeira semana de vida. A icterícia de doença hepática intrínseca pode ser acentuada por hemólise grave em alguns pacientes. Catarata tem sido observada dentro de poucos dias após o nascimento.

O manejo de pacientes requer a eliminação de galactose da dieta. Falha em eliminar esse monossacarídeo resulta em insuficiência hepática progressiva e morte. Em crianças, é utilizado leite artificial feito a partir de caseína ou soja hidrolisada.

Na cultura do escarro de **Al Martini**, enviada no segundo dia de sua hospitalização por alcoolismo agudo e pneumonia, cresce *Haemophilus influenzae*. Esse organismo é sensível a uma variedade de antibióticos, incluindo TMP/sulfa. Infelizmente, parece que o Sr. Martini sofreu uma hemólise aguda (lise ou destruição de algumas de suas células sangüíneas vermelhas), provavelmente induzida pela exposição ao fármaco sulfa e sua infecção por *H. influenzae*. A hemoglobina que escapou das células sangüíneas vermelhas lisadas foi filtrada por seus rins e apareceu em sua urina.

Por mecanismos que ainda não estão completamente delineados, certos fármacos (como sulfas e antimaláricos), uma variedade de agentes infecciosos e exposição a feijão fava podem causar destruição de células sangüíneas vermelhas em pessoas com uma deficiência genética de glicose-6-fosfato-desidrogenase. Presumivelmente, esses pacientes não podem produzir NADPH suficiente para se defender contra ERO. Embora eritrócitos não tenham a maioria das outras fontes enzimáticas de NADPH para o sistema antioxidante da glutationa, eles têm mecanismos de defesa providos pelas vitaminas antioxidantes E e C e catalase. Assim, pessoas que não são totalmente deficientes de glicose-6-fosfato-desidrogenase permanecem assintomáticos a menos que um estresse oxidativo adicional, como uma infecção, produza radicais de oxigênio adicionais.

Alguns fármacos, como o antimalárico primaquina e a sulfonamida a qual Al Martini estava tomando, afetam a habilidade das células sangüíneas vermelhas de se defenderem contra estresse oxidativo. O feijão fava, que tem a aparência de vagem e algumas vezes é chamado de feijão largo, contém os glicosídeos úricos vicina e isouramil. Esses compostos reagem com a glutationa. Foi sugerido que níveis celulares de glutationa reduzida (GSH) diminuem em tal extensão que grupos sulfidrila em algumas enzimas-chave não podem ser mantidos na forma reduzida.

As maiores taxas de prevalência para deficiência de glicose-6-fosfato-desidrogenase são encontradas na África tropical e na Ásia, em algumas áreas do Oriente Médio e Mediterrâneo e em Papua Nova Guiné. A distribuição geográfica dessa deficiência é similar àquela do traço falciforme e provavelmente esteja relacionada à resistência relativa que ela confere contra o parasita da malária.

Devido ao fato de pessoas com essa deficiência serem assintomáticas enquanto não expostas a um "desafio oxidante", o curso clínico da anemia hemolítica em geral é autolimitado se o agente causador é removido. Contudo, polimorfismo genético é responsável por uma variabilidade substancial na gravidade da doença. Os pacientes gravemente afetados podem ter uma anemia hemolítica crônica e outras seqüelas mesmo sem exposição conhecida a fármacos, infecção e outros fatores causais. Em tais pacientes, icterícia neonatal também é comum e pode ser grave o suficiente para causar morte.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



Antes que a toxicidade da frutose fosse avaliada, substituição de frutose por glicose em soluções intravenosas, e de frutose por sacarose em um tubo de alimentação enteral ou dieta para diabéticos, com freqüência era recomendada. (Tubo de alimentação enteral se refere a tubos colocados no intestino; tubo de alimentação parenteral se refere a tubos colocados na veia, alimentação intravenosa.) A

administração de frutose intravenosa para pacientes com diabetes melito ou outras formas de resistência à insulina evitava a hiperglicemia encontrada com glicose intravenosa, possivelmente devido ao fato de o metabolismo da frutose no fígado desviar a etapa regulada por insulina da fosfofrutoquinase-1. Contudo, devido ao fluxo não-regulado de frutose através da glicólise, a alimentação intravenosa com frutose com freqüência resultava em acidose láctica (ver Figura 29.3). Além disso, a reação da frutoquinase é muito rápida, e tecidos se tornam depletados de ATP e fosfato quando grandes quantidades de frutose eram metabolizadas em um curto período de tempo. Isso levaria à morte celular. A frutose é menos tóxica na dieta ou em alimentação enteral devido à velocidade relativamente baixa de absorção de frutose.

Leituras Sugeridas

Hasler J, Lee S. Acute hemolytic anemia after ingestion of fava beans [letter]. Am J Emerg Med 1993;11:560-561.

Holton JB, Walter JH, Tyfield LA. Galactosemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, VaIIe D, Sly WS, et al., eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:1553-1587.

Luzatto L, Mehta A, Vuillamy T. Glicose 6-phosphate dehidrogenase deficiency. In: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, Sly WS, et al., eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:4517-4553.

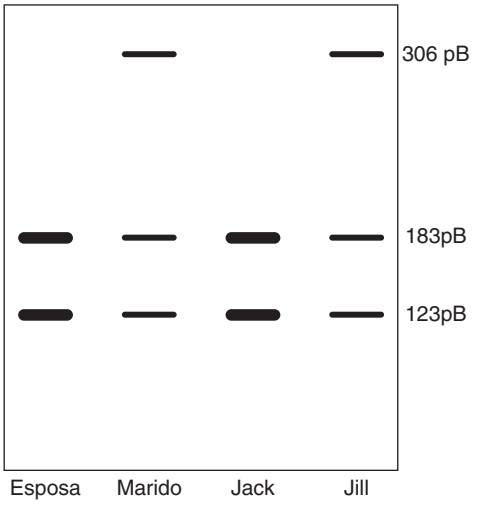
Sheetz MJ, King GL. Molecular understanding of hyperglycemic adverse effects for diabetic complications. JAMA 2002:2579-2588.

Shibuya A, Hirono A, lshii S. Fujii. Miwa S. Hemolytic crisis after excessive ingestion of fava beans in a male infant with G6PD Canton. lnt J Hematol 1999:233-235.

Steinman B, Gitzelmann R, Van den Berghe G. Disorders of fructose metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, Sly WS, et al, eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:1489-1520.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 29

1. A intolerância hereditária à frutose é uma doença genética recessiva mais comumente causada por uma mutação no éxon 5 do gene da aldolase B. A mutação fortuitamente causa uma nova seqüência de AhaII de reconhecimento. Para testar essa mutação, DNA foi extraído da esposa, do marido e de suas duas crianças, Jack e Jill. O DNA para o éxon 5 do gene da aldolase B foi amplificado por reação em cadeia da polimerase (PCR), tratado com AhaII, submetido a eletroforese em um gel de agarose e corado com um corante que se liga a DNA.



Qual das seguintes conclusões pode ser feita a partir dos dados apresentados?

(A) Ambas as crianças têm a doença.
(B) Nenhuma das crianças tem a doença.
(C) Jill tem a doença, Jack não tem.
(D) Jack tem a doença, Jill não tem.
(E) Não há informação suficiente para fazer uma determinação.

2. O marido, ao examinar o gel, ficou preocupado porque poderia não ser o pai biológico de uma ou de ambas as crianças. Pelo padrão do gel, poderia ser concluída logicamente qual das seguintes alternativas?

(A) Ele provavelmente não é o pai de Jill.
(B) Ele provavelmente não é o pai de Jack.
(C) Ele poderia ser o pai de ambas as crianças.
(D) Ele provavelmente não é o pai de ambas as crianças.
(E) Não há informação suficiente para fazer uma determinação.

3. Um alcoólatra foi trazido para a emergência por um coma hipoglicêmico. Devido ao fato de alcoólatras em geral serem malnutridos, qual das seguintes enzimas pode ser utilizada para testar uma deficiência de tiamina?

(A) Aldolase
(B) Transaldolase
(C) Transcetolase
(D) Glicose-6-fosfato-desidrogenase
(E) UDP-galactose-epimerase

4. A alimentação intravenosa com frutose pode levar à acidose láctica causada por qual das seguintes alternativas?

(A) Desvio da etapa regulada pela piruvato quinase
(B) Desvio da etapa regulada pela PFK-1
(C) Ativação alostérica da aldolase B
(D) Ativação alostérica da lactate-desidrogenase
(E) Aumento da razão [ATP]/[ADP] no fígado

5. A rota poliol da produção de sorbitol e o desvio da rota HMP são ligados por qual das seguintes alternativas?

(A) O desvio HMP produz 6-fosfogliconato, um intermediário na rota poliol.
(B) O desvio HMP produz NADPH, o qual é necessário para a rota poliol.
(C) O desvio HMP produz ribitol, um intermediário da rota poliol.
(D) Ambas as rotas utilizam glicose como material inicial.
(E) Ambas as rotas utilizam frutose como material inicial.

30 Síntese de Glicosídeos, Lactose, Glicoproteínas e Glicolipídeos

Muitas das rotas para a interconversão de carboidratos ou a formação de seus derivados utilizam monossacarídeos ativados ligados a nucleotídeos. Tanto a ***UDP-glicose*** *quanto a* ***UDP-galactose*** *são utilizadas para reações de* ***glicosiltransferase*** *em muitos sistemas. A lactose, por exemplo, é sintetizada a partir de UDP-galactose e glicose na glândula mamária. A UDP-glicose também pode ser oxidada para formar UDP-glicuronato, o qual é utilizado para formar* ***derivados glicurônicos*** *da bilirrubina e compostos xenobióticos. Os derivados glicurônicos em geral são excretados mais rapidamente na urina ou na bile do que o composto original.*

Além de servir como substrato energético, os carboidratos em geral são encontrados em ***glicoproteínas*** *(cadeias de carboidratos ligadas a proteínas) e* ***glicolipídeos*** *(cadeias de carboidratos ligadas a lipídeos). Os* ***nucleotídeos ligados a carboidratos*** *são utilizados para doar resíduos de monossacarídeos para a formação das ligações glicosídicas nas glicoproteínas e nos glicolipídeos. Esses grupos de carboidratos têm muitos tipos diferentes de funções.*

As glicoproteínas contêm cadeias curtas de carboidratos (oligossacarídeos) que em geral são ramificadas. Esses oligossacarídeos em geral são compostos por glicose, galactose e seus aminos derivados. Além disso, manose, L-fucose e ácido N-acetilneuramínico (NANA) com freqüência estão presentes. As cadeias de carboidratos crescem pela adição seqüencial de monossacarídeos a um resíduo de ***serina*** *ou* ***treonina*** *da proteína. Os nucleotídeos glicosilados são os precursores. As cadeias ramificadas de carboidratos também podem ser ligadas a um nitrogênio amida da* ***asparagina*** *na proteína. Nesse caso, as cadeias são sintetizadas sobre o* ***dolicol-fosfato*** *e subseqüentemente transferidas para a proteína. As glicoproteínas são encontradas no muco, no sangue, em compartimentos dentro das células (como lisossomas), na matriz extracelular e inseridas na membrana celular com a porção carboidrato se estendendo para o espaço extracelular.*

Os glicolipídeos pertencem à classe de ***esfingolipídeos****. Eles são sintetizados a partir de nucleotídeo ligado a carboidrato que adiciona monossacarídeos seqüencialmente a um grupo hidroximetila do lipídeo ceramida (relacionado à esfingosina). Eles com freqüência contêm ramos de ácido N-acetilneuramínico produzidos a partir de CMP-NANA. Eles são encontrados na membrana celular com a porção carboidrato se projetando da superfície celular. Esses carboidratos, bem como alguns carboidratos de glicoproteínas, servem como* ***fatores de identificação celular****.*



SALA DE ESPERA



Para manter-se durante o curso de medicina, **Erna Nemdy** trabalha de noite em um banco de sangue de um hospital. Ela é responsável por garantir que sangue de doador compatível esteja disponível para pacientes necessitando de transfusões de sangue. Como parte de seu treinamento, Ema aprendeu que as superfí-

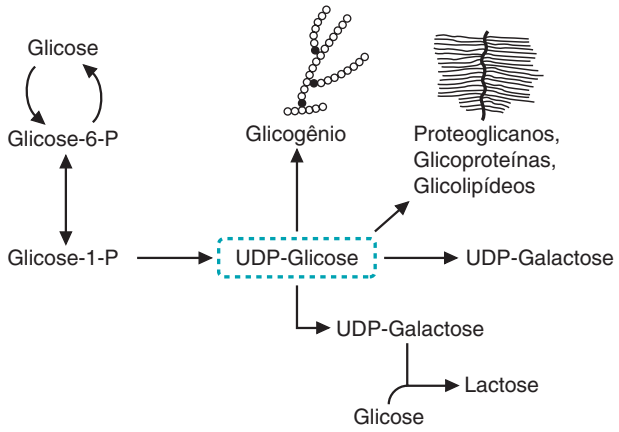


Figura 30.1 Metabolismo da UDP-glicose. A porção glicose ativada da UDP-glicose pode ser ligada por uma ligação glicosídica a outros carboidratos, como no glicogênio ou nas cadeias laterais dos oligossacarídeos e polissacarídeos e nas cadeias laterais de proteoglicanos, glicoproteínas e glicolipídeos. A UDP-glicose também pode ser oxidada a UDP-glicuronato ou epimerizada a UDP-galactose, um precursor da lactose.

cies externas de todas as células sangüíneas contêm grandes quantidades de determinantes antigênicos. Esses determinantes com freqüência são glicoproteínas ou glicolipídeos que diferem de uma pessoa para outra. Como resultado, todas as transfusões de sangue expõem o recipiente a muitos antígenos estranhos. A maioria deles, felizmente, não induz anticorpos ou induz anticorpos que iniciam pequenas ou nenhuma resposta imunológica. Para transfusões de sangue de rotina, portanto, são realizados testes apenas para a presença de antígenos que determinam se o tipo de sangue do paciente é A, B, AB ou O.

O desenvolvimento psicomotor de **Jay Sakz** tornou-se progressivamente mais anormal. Aos dois anos de idade, ele claramente tem retardo mental e é quase cego. Sua fraqueza muscular progrediu a ponto de não poder sentar ou mesmo engatinhar. Como resultado de um reflexo de tosse fraca, não é capaz de limpar as secreções respiratórias normais e tem infecções respiratórias recorrentes.

I. INTERCONVERSÕES ENVOLVENDO NUCLEOTÍDEOS GLICOSILADOS

Os carboidratos ativados ligados a nucleotídeos são convertidos a outros carboidratos, oxidados a derivados ácidos e ligados a proteínas, lipídeos ou outro carboidrato por ligações glicosídicas.

A. Reações da UDP-Glicose

A UDP-glicose é um nucleotídeo-glicosilado ativado que é um precursor de glicogênio e lactose, UDP-glicuronato e glicuronídeos e das cadeias de carboidratos em proteoglicanos, glicoproteínas e glicolipídeos (Figura 30.1). Os proteoglicanos e os glicosaminoglicanos são discutidos em mais detalhes no Capítulo 49. Na síntese de muitas das porções dos carboidratos desses compostos, um monossacarídeo é transferido de um nucleotídeo ligado a carboidratos para um álcool ou outro grupo nucleofílico para formar uma ligação glicosídica (Figura 30.2). O uso de UDP como um grupo que é liberado nessa reação fornece a energia para a formação da nova ligação. As enzimas que formam ligações glicosídicas são glicosiltransferases (p. ex., a glicogênio-sintase é uma glicosiltransferase). As transferases estão envolvidas na formação de ligações glicosídicas nos glicuronídeos de bilirrubina, proteoglicanos e lactose.

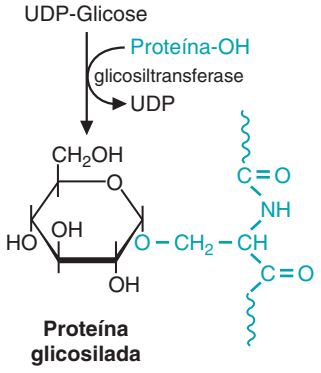


Figura 30.2 Glicosiltransferases. Essas enzimas transferem monossacarídeos de nucleotídeos ligados a carboidratos para resíduos de aminoácidos em proteínas, como o grupo hidroxila da serina ou o grupo amida da asparagina. Outras transferases transferem carboidratos específicos de nucleotídeos ligados a carboidratos para um grupo hidroxila de outros carboidratos. A ligação formada entre o carbono anomérico do carboidrato e o grupo nucleofílico de outro composto é uma ligação glicosídica.

Q: Como o ácido glicurônico se diferencia do ácido glicônico?

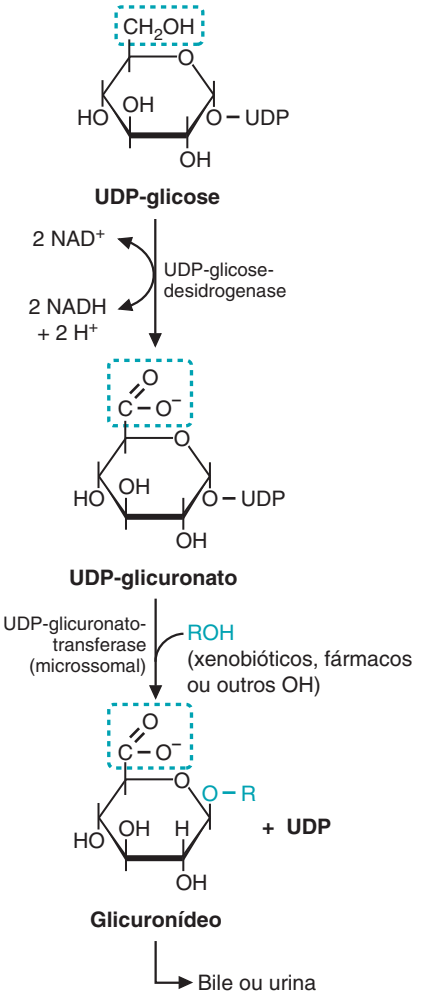


Figura 30.4 Formação de glicuronato e glicuronídeos. Uma ligação glicosídica é formada entre a hidroxila anomérica do glicuronato e o grupo hidroxila de um composto apolar. O grupo carboxila carregado negativamente do glicuronato aumenta a solubilidade na água e permite que compostos que de outra maneira seriam apolares sejam excretados na urina ou na bile.

Q: Altas concentrações de galactose-1-fosfato inibem a fosfoglicomutase, a enzima que converte glicose-6-fosfato em glicose-1-fosfato. Como essa inibição pode ser responsável pela hipoglicemia e icterícia que acompanha a deficiência de galactose-1-fosfato-uridililtransferase?

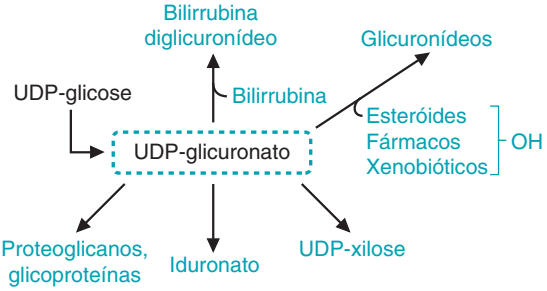


Figura 30.3 Rotas metabólicas do UDP-glicuronato. O UDP-glicuronato é formado a partir de UDP-glicose (mostrada em preto). O glicuronato a partir de UDP-glicuronato é incorporado em glicosaminoglicanos, onde certos resíduos de glicuronato são convertidos a iduronato (ver Capítulo 49). O UDP-glicuronato é um precursor de UDP-xilose, outro resíduo de carboidrato incorporado a glicosaminoglicanos. O glicuronato também é transferido para grupos carboxila da bilirrubina ou grupos álcool de esteróides, fármacos e xenobióticos para formar glicuronídeos. O "ídeo" no nome indica que esses compostos são glicosídeos. Os xenobióticos são substâncias ativas de forma farmacológica, endocrinológica ou toxicológica que não são produzidas endogenamente e, portanto, são estranhas a um organismo. Fármacos são um exemplo de xenobióticos.

B. UDP-Glicuronato: Uma Fonte de Cargas Negativas

Uma das maiores rotas do metabolismo de UDP-glicose é a formação de UDP-glicuronato, o qual serve como um precursor de outros carboidratos e de glicuronídeos (Figura 30.3). O glicuronato é formado pela oxidação do álcool no C6 da glicose em um ácido (por dois estados de oxidação) por uma desidrogenase dependente de NAD^+ (Figura 30.4). O glicuronato também está presente na dieta e pode ser formado a partir da degradação de inositol (o álcool derivado de monossacarídeo que forma inositoltrifosfato [IP_3], um segundo mensageiro intracelular para muitos hormônios).

C. Formação de Glicuronídeos

A função do glicuronato na excreção de bilirrubina, fármacos, xenobióticos e outros compostos contendo um grupo hidroxila é adicionar cargas negativas e aumentar sua solubilidade. A bilirrubina é um produto de degradação do heme que é formado no sistema reticuloendotelial e é apenas levemente solúvel no plasma. Ele é transportado para o fígado ligado à albumina. No fígado, os resíduos glicuronato são transferidos de UDP-glicuronato para dois grupos carboxila na bilirrubina, seqüencialmente formando bilirrubina monoglicuronídeo e bilirrubina-diglicuronídeo, as formas "conjugadas" de bilirrubina (Figura 30.5). A bilirrubina-diglicuronídio mais solúvel (comparada com a bilirrubina não-conjugada) é, então, ativamente transportada pela bile para excreção.

Muitos xenobióticos, fármacos, esteróides e outros compostos com grupos hidroxila e uma baixa solubilidade em água são convertidos a glicuronídeos de uma maneira similar por glicuroniltransferases presentes no retículo endoplasmático e no citoplasma do fígado e dos rins (Tabela 30.1). Essa é uma das maiores rotas de excreção desses compostos.

Uma falha do fígado em transportar, armazenar ou conjugar bilirrubina resulta no acúmulo de bilirrubina não-conjugada no sangue. A icterícia, a coloração amarela da pele e do branco dos olhos (esclera) que **Erin Galway** teve, ocorre quando o plasma se torna supersaturado com bilirrubina (> 2 a 2,5 mg/dL) e o excesso se difunde para os tecidos.

Quando os níveis de bilirrubina são medidos no sangue, pode-se medir bilirrubina indireta (essa é a forma não-conjugada da bilirrubina, a qual está ligada à albumina), bilirrubina direta (a forma conjugada, solúvel em água) ou bilirrubina total (a soma dos níveis direto e indireto). Se os níveis de bilirrubina total estão altos, então a determinação de bilirrubina direta ou indireta é necessária para determinar de forma apropriada a causa para a elevação da bilirrubina total.

O glicuronato, uma vez formado, pode entrar nas rotas do metabolismo da glicose por reações que eventualmente a convertem em D-xilulose-5-fosfato, um intermediário da rota da pentose-fosfato. Na maioria dos outros mamíferos a não ser os humanos, um intermediário dessa rota é o precursor do ácido ascórbico (vitamina C). Os humanos, contudo, são deficientes dessa rota e não podem sintetizar vitamina C.

Tabela 30.1 Alguns Compostos Degradados e Excretados como Glicuronídeos Urinários

Estrógeno (hormônio sexual feminino)
Progesterona (hormônio esteróide)
Triiodotironina (hormônio tireóideo)
Acetilaminofluoreno (xenobiótico carcinogênico)
Meprobamato (fármaco para dormir)
Morfina (analgésico)

D. Síntese de UDP-Galactose e Lactose a partir de Glicose

A lactose é sintetizada a partir de UDP-galactose e glicose (Figura 30.6). Contudo, a galactose não é necessária na dieta para síntese de lactose, pois pode ser sintetizada a partir de glicose.

1. CONVERSÃO DE GLICOSE A GALACTOSE

Galactose e glicose são epímeros; elas diferem apenas na posição estereoquímica de um grupo hidroxila. Assim, a formação de UDP-galactose a partir de UDP-glicose é uma epimerização (Figura 30.7). A epimerase não transfere realmente o grupo hidroxila; ela oxida a hidroxila a uma cetona pela transferência de elétrons para NAD^+ e, então, doa elétrons de volta para formar novamente o grupo álcool no outro lado do carbono.

R: O 6-fosfogliconato é produzido pela primeira reação oxidativa na rota da pentose-fosfato, na qual o carbono 1 da glicose é oxidado a carboxilato. Em contraste, o ácido glicurônico é oxidado no carbono 6 para formar carboxilato.

2. SÍNTESE DE LACTOSE

A lactose é única por ser sintetizada apenas na glândula mamária do adulto por períodos curtos de tempo, durante a lactação. A lactose-sintase, uma enzima presente no retículo endoplasmático da glândula mamária lactente, catalisa a última etapa na biossíntese da lactose, a transferência de galactose de UDP-galactose para glicose (ver Figura 30.6). A lactose-sintase tem duas subunidades protéicas, uma galactosiltransferase e α-lactoalbumina. A α-lactoalbumina é uma proteína modificadora sintetizada após o parto (nascimento) em resposta ao hormônio prolactina. Essa subunidade da enzima diminui o K_m da galactosiltransferase para a glicose de 1.200 para 1 mM, aumentando, assim, a velocidade de síntese de lactose. Na ausência de α-lactoalbumina, a galactosiltransferase transfere unidades galactosil para glicoproteínas.

Q: Uma mulher grávida que era extremamente intolerante à lactose perguntou a seu médico se seria capaz de amamentar sua criança uma vez que ela não bebia leite ou produtos lácteos. Qual a orientação que ela deve receber?

Muitos (60%) recém-nascidos a termo desenvolvem icterícia, chamada de icterícia neonatal. Essa em geral é causada por uma destruição aumentada de células sangüíneas vermelhas após o nascimento (geralmente o feto tem um número pequeno de células sangüíneas vermelhas) e um sistema de conjugação da bilirrubina no fígado imaturo. Isso leva a níveis elevados de bilirrubina não-conjugada, a qual é depositada em meios hidrofóbicos (gordura). Se os níveis de bilirrubina alcançam certo limite nas 48 horas de idade, o recém-nascido é um candidato à fototerapia, na qual a criança é colocada sob lâmpadas que emitem luz entre os comprimentos de onda 425 e 475 nm. A bilirrubina absorve essa luz, sofre alterações químicas e se torna mais solúvel em água. Em geral, dentro de uma semana após o nascimento, o fígado do recém-nascido pode manejar a carga produzida pela renovação de células sangüíneas vermelhas.

R: A inibição da fosfoglicomutase resulta em hipoglicemia pela interferência com a formação de UDP-glicose (o precursor de glicogênio) e a degradação de glicogênio novamente em glicose-6-fosfato. Noventa por cento da degradação de glicogênio leva a glicose-1-fosfato, a qual pode ser apenas convertida em glicose-6-fosfato por fosfoglicomutase. Quando a atividade da fosfoglicomutase é inibida, ocorre menor produção de glicose-6-P, e, assim, menos glicose está disponível para exportação. Dessa forma, o glicogênio armazenado é apenas 10% eficiente em aumentar os níveis de glicose sangüínea, e ocorre hipoglicemia. Os níveis de UDP-glicose estão reduzidos, pois a glicose-1-P é necessária para sintetizar UDP-glicose, e, na ausência de atividade da fosfoglicomutase, a glicose-6-P não pode ser convertida a glicose-1-P. Isso previne a formação de UDP-glicuronato, o qual é necessário para converter a bilirrubina à forma diglicuronídeo para o transporte na bile. A bilirrubina se acumula nos tecidos, dando a eles uma cor amarela (icterícia).

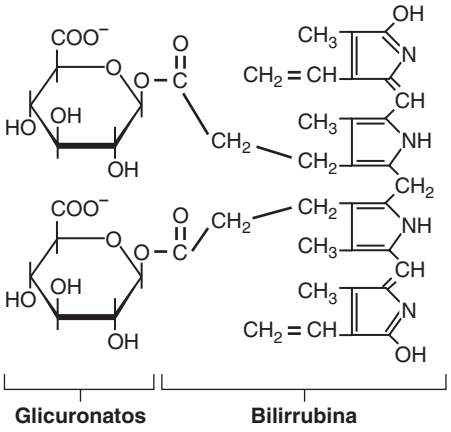


Figura 30.5 Formação de diglicuronídeos de bilirrubina. Uma ligação glicosídica é formada entre a hidroxila anomérica do glicuronato e os grupos carboxilatos da bilirrubina. A adição do grupo carboxilato hidrofílico, e o grupo carboxila carregado negativamente do glicuronato, aumenta a solubilidade em água da bilirrubina conjugada e permite que a bilirrubina, que de outra forma é insolúvel, seja excretada na urina ou na bile.

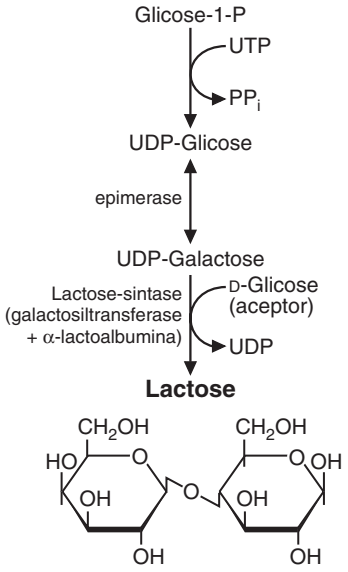


Figura 30.6 Síntese de lactose. A lactose é um dissacarídeo composto de galactose e glicose. A UDP-galactose para a síntese de lactose na glândula mamária em geral é formada a partir da epimerização de UDP-glicose. A lactose-sintase se liga ao carbono anomérico da galactose no grupo álcool C4 da glicose para formar uma ligação glicosídica. A lactose-sintase é composta de uma galactosiltransferase e α-lactoalbumina, a qual é uma subunidade regulatória.

Tabela 30.2 Alguns Nucleotídeos Transportadores de Monossacarídeos ou Derivados são Precursores para Reações de Transferase

UDP-glicose
UDP-galactose
UDP-ácido glicurônico
UDP-xilose
UDP-N-acetilglucosamina
UDP-N-acetilgalactosamina
CMP-ácido N-acetilneuramínico
GDP-fucose
GDP-manose

R: Embora a lactose nos produtos lácteos seja a maior fonte de galactose, a ingestão de lactose não é necessária para a lactação. A UDP-galactose na glândula mamária é derivada principalmente da epimerização de glicose. Os produtos lácteos são, contudo, uma fonte principal de Ca^{2+} da dieta; dessa forma, mães amamentando necessitam de mais Ca^{2+} de outra fonte.

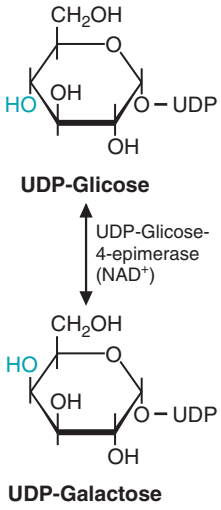


Figura 30.7 Epimerização de UDP-glicose a UDP-galactose. A epimerização de glicose a galactose ocorre em UDP-glicosilado. A epimerase utiliza NAD^+ para oxidar o álcool a cetona, e, então, reduz cetona novamente a um álcool. A reação é reversível; a glicose sendo convertida a galactose forma galactose para a síntese de lactose, e a galactose sendo convertida a glicose é parte da rota para o metabolismo da galactose da dieta.

E. Formação de Carboidratos para a Síntese de Glicolipídeo e Glicoproteína

As transferases que produzem as cadeias laterais de oligossacarídeos e polissacarídeos dos glicolipídeos e ligam resíduos de carboidratos a proteínas são específicas pela parte do carboidrato e pelo nucleotídeo doador (p. ex., UDP, CMP ou GDP). Alguns dos nucleotídeos ligados a carboidratos utilizados para glicoproteínas, proteoglicanos (ver Capítulo 49) e formação de glicolipídeo estão listados na Tabela 30.2. Eles incluem os derivados de glicose e galactose já discutidos, bem como amino monossacarídeos acetilados e derivados de manose. A razão para a grande variação de carboidratos ligados a proteínas e lipídeos é que eles têm funções relativamente específicas e diferentes, como marcar uma proteína para uma membrana, fornecendo sítios de reconhecimento na superfície celular para outras células, hormônios ou vírus, ou agir como lubrificantes ou filtros moleculares (ver Capítulo 42).

As rotas para a utilização e a formação de muitos desses carboidratos estão resumidas na Figura 30.8. Deve-se observar que muitas das etapas são reversíveis, de tal modo que glicose e outros monossacarídeos da dieta entram em um fundo comum a partir do qual os diversos carboidratos podem ser formados.

Os carboidratos aminados são todos derivados de glicosamina-6-fosfato. Para sintetizar glicosamina-6-fosfato, um grupo amino é transferido da amida da glutamina para a frutose-6-fosfato (Figura 30.9). O amino-monossacarídeo, como a glicosamina, pode, então, ser N-acetilado por uma acetiltransferase.

A manose é encontrada na dieta em pequenas quantidades. Como a galactose, ela é um epímero de glicose, e manose e glicose são interconvertidas por reações de epimerização. A interconversão ocorre ou no nível da frutose-6-fosfato a manose-6-fosfato ou no nível dos derivados de carboidratos (ver Figura 30.8).

As N-acetiltransferases estão presentes no retículo endoplasmático e no citosol e fornecem outro meio de modificar quimicamente açúcares, metabólitos, fármacos e compostos xenobióticos. Pessoas podem variar bastante na sua capacidade para reações de acetilação.

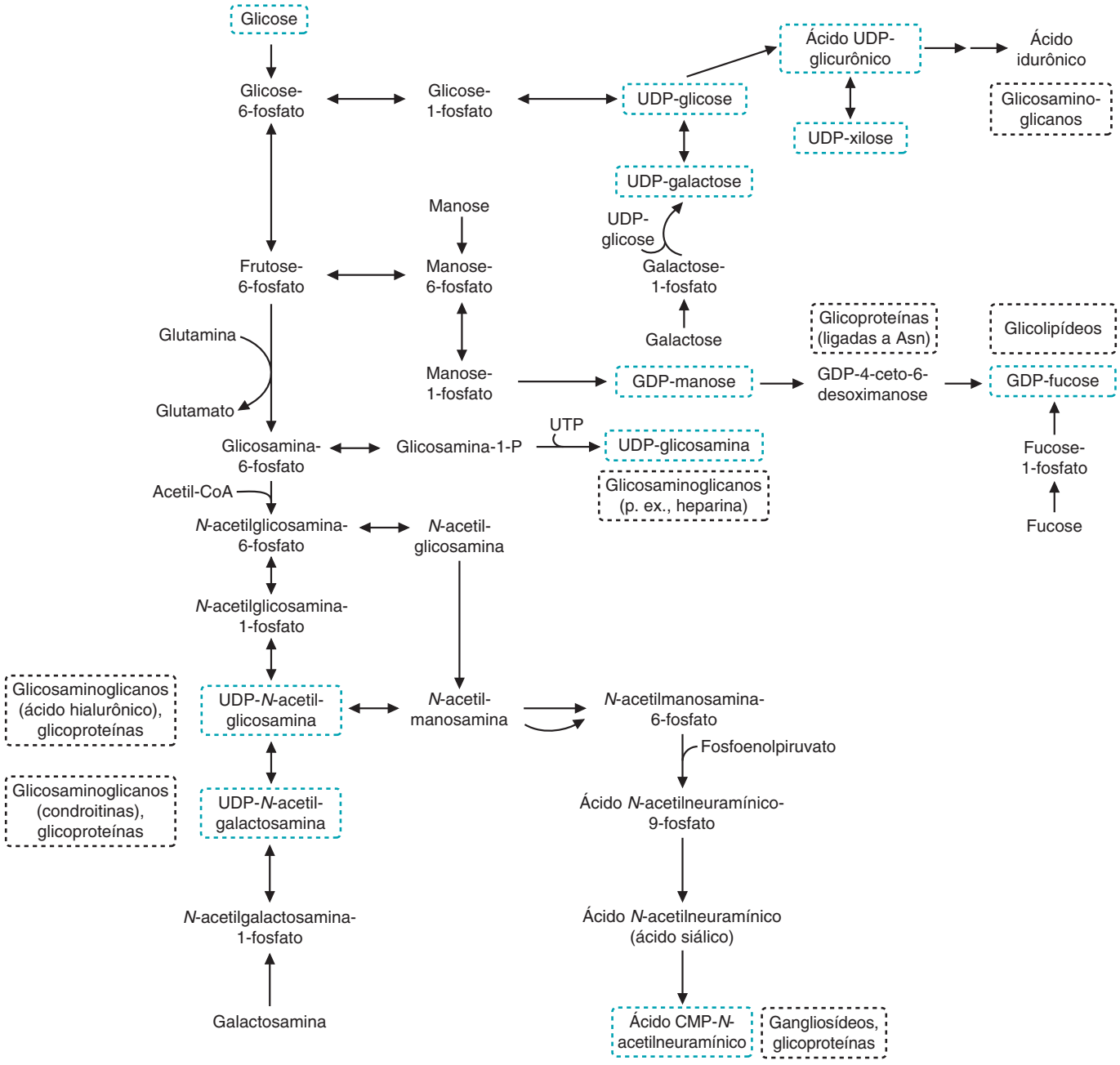


Figura 30.8 Rotas para a interconversão de monossacarídeos. Todos os diferentes monossacarídeos encontrados em glicosaminoglicanos, gangliosídeos e outros compostos no corpo podem ser sintetizados a partir de glicose. Glicose, frutose, galactose, manose e outros carboidratos da dieta entram em um fundo comum a partir do qual outros carboidratos são derivados. O monossacarídeo ativado é transferido a partir de um nucleotídeo ligado a carboidrato, mostrado em caixas azuis, para formar uma ligação glicosídica com outro resíduo de carboidrato ou aminoácido. A próxima caixa para cada nucleotídeo-carboidrato mostra alguns dos compostos que contêm o carboidrato. O ácido idurônico, no canto superior direito do diagrama, é formado apenas após o ácido glicurônico ser incorporado em um glicosaminoglicano (o qual é discutido em mais detalhes no Capítulo 49).

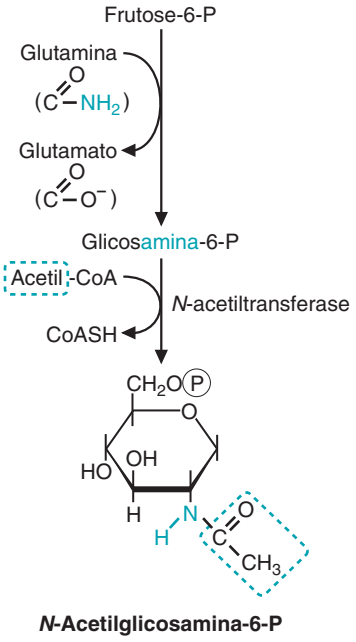


Figura 30.9 A formação de *N*-acetilglicosamina-6-fosfato. O carboidrato aminado é formado pela transferência do grupo amino a partir da amida da glutamina para um carbono do carboidrato. O grupo amino é acetilado pela transferência de um grupo acetila a partir de acetil-CoA.

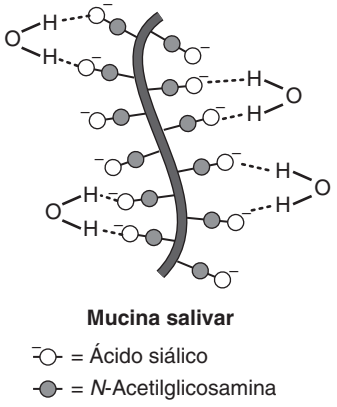


Figura 30.11 Estrutura da mucina salivar. Os carboidratos formam pontes de hidrogênio com a água. O ácido siálico fornece um grupo carboxilato carregado negativamente. A proteína é extremamente grande, e os ácidos siálicos carregados negativamente estendem as cadeias de carboidratos, de tal maneira que as moléculas ocupam um grande espaço. Todas as glicoproteínas salivares têm ligações O. NANA é um ácido siálico.

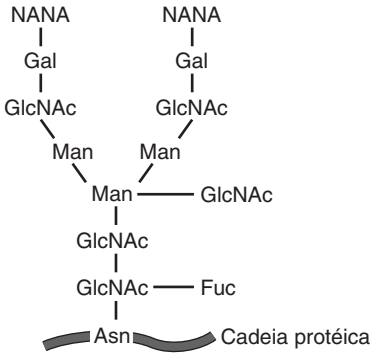


Figura 30.10 Um exemplo de glicoproteína ramificada. NANA = ácido N-acetilneuramínico; Gal = galactose; GlcNAc = N-acetilglicosamina; Man = manose; Fuc = fucose.

A N-acetilmanosamina é o precursor do ácido N-acetilneuramínico (NANA, um ácido siálico), e GDP-manose é o precursor da GDP-fucose (ver Figura 30.8). A carga negativa do NANA é obtida pela adição de 3 carbonos do fosfoenolpiruvato na porção carboxílica.

II. GLICOPROTEÍNAS

A. Estrutura e Função

As glicoproteínas contêm cadeias de carboidratos curtas ligadas de forma covalente a resíduos de serina/treonina ou asparagina na proteína. Essas cadeias de oligossacarídeos são com freqüência ramificadas e não contêm dissacarídeos repetidos (Figura 30.10). As proteínas no sangue em sua maioria são glicoproteínas. Elas servem como hormônios, anticorpos, enzimas (incluindo aquelas da cascata de coagulação sangüínea) e componentes estruturais da matriz extracelular. O colágeno contém unidades galactosil e dissacarídeos compostos de galactosil-glicose ligados a resíduos hidroxilisina (ver Capítulo 49). As secreções de células produtoras de muco, como a mucina salivar, são glicoproteínas (Figura 30.11).

Embora a maioria das glicoproteínas seja secretada a partir de células, algumas são secretadas em lisossomas, onde servem como enzimas lisossomais que degradam tipos de material celular e extracelular. Outras glicoproteínas são produzidas como proteínas secretoras, mas as regiões hidrofóbicas da proteína permanecem ligadas à membrana celular, e a porção carboidrato se estende para o espaço extracelular (Figura 30.12) (ver também Capítulo 15, Seção I). Essas glicoproteínas servem como receptores para compostos, como hormônios, como proteínas de transporte e como sítios de ligação celular e reconhecimento celular. Bactérias e vírus também se ligam a esses sítios.

B. Síntese

A porção protéica das glicoproteínas é sintetizada no retículo endoplasmático (RE). As cadeias de carboidratos são ligadas à proteína no lúmen do RE e do complexo de Golgi. Em alguns casos, o carboidrato inicial é adicionado a um resíduo de serina ou de treonina na proteína, e a cadeia de carboidrato se estende pela adição seqüencial de resíduos de carboidratos à extremidade não-redutora. Como visto previamente na Tabela 2, os UDP-carboidratos são precursores para a adição de quatro dos sete açúcares que em geral são encontrados nas glicoproteínas-glicose, galactose, N-acetilglicosamina e N-acetilgalactosamina. Os GDP-carboidratos são os precursores para a adição de manose e L-fucose, e CMP-NANA é o precursor para NANA.

O dolicol-fosfato (Figura 30.13) (o qual é sintetizado a partir de unidades isopreno, como discutido no Capítulo 34) está envolvido na transferência de cadeias

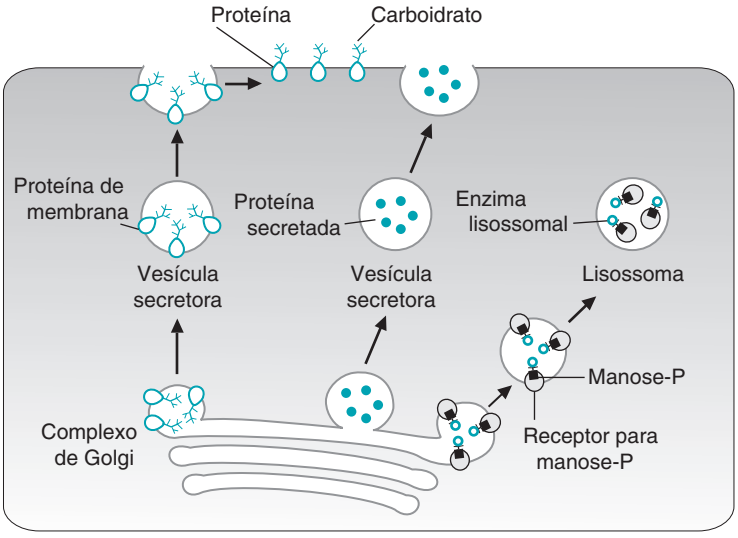


Figura 30.12 Rota a partir do complexo de Golgi ao destino final para as enzimas lissossômicas, proteínas da membrana celular e proteínas secretadas, as quais incluem glicoproteínas e proteoglicanos.

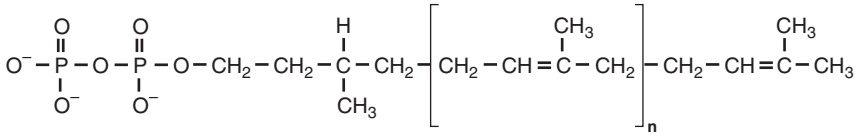


Figura 30.13 Estrutura do dolicol-fosfato. Em humanos, a unidade isopreno (em colchetes) é repetida aproximadamente 17 vezes (n = ~17).

de carboidratos ramificados para o nitrogênio amida dos resíduos de asparagina. Os carboidratos são removidos e adicionados à medida que a glicoproteína se move do RE para o complexo de Golgi (Figura 30.14). Como discutido no Capítulo 10, a cadeia de carboidratos é utilizada como marcador para o direcionamento das enzimas lisossomais.

A doença de células I (célula de inclusão) é uma condição rara na qual enzimas lisossomais são deficientes do marcador manose-fosfato que as direciona para os lisossomas. Conseqüentemente, as enzimas lisossomais são secretadas das células. Devido ao fato de os lisossomas não terem seu complemento normal de enzimas, as moléculas subdegradadas se acumulam dentro das membranas dentro das células, formando corpos de inclusão.

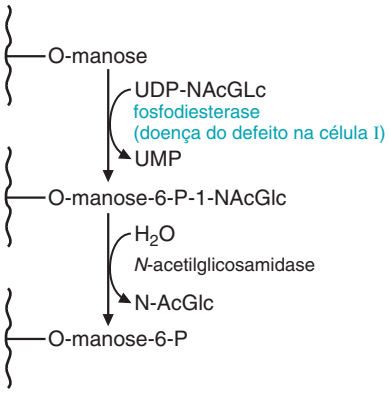
III. GLICOLIPÍDEOS

A. Estrutura e Função

Os glicolipídeos são derivados do lipídio esfingosina. Esses esfingolipídeos incluem os cerebrosídeos e os gangliosídeos (Figura 30.15; ver também Figura 5.22). Eles contêm ceramida, com partes carboidrato ligadas ao seu grupo hidroximetila.

Os glicolipídeos estão envolvidos na comunicação intercelular. Os oligossacarídeos de composição idêntica estão presentes nos glicolipídeos e nas glicoproteínas associadas com a membrana celular, onde servem como fatores de reconhecimento celular. Por exemplo, resíduos de carboidratos nesses oligossacarídeos são antígenos contidos no grupo sangüíneo ABO (Figura 30.16).

A enzima que está deficiente na doença de célula I é uma fosfotransferase localizada no aparelho de Golgi.



A fosfotransferase tem a habilidade única de reconhecer proteínas lisossomais devido à sua estrutura tridimensional, de tal modo que elas podem ser apropriadamente direcionadas para serem transportadas para os lisossomas.

Pela identificação da natureza dos determinantes antigênicos sobre a superfície das células sangüíneas vermelhas do doador, **Erna Nemdy** é capaz de classificar o sangue do doador como pertencendo a certos grupos sangüíneos específicos. Esses determinantes de antígenos estão localizados nos oligossacarídeos das glicoproteínas e nos glicolipídeos das membranas celulares. O grupo sangüíneo mais importante nos humanos é o grupo ABO, o qual inclui dois antígenos, A e B. Pessoas com o antígeno A em suas células pertencem ao grupo sangüíneo A. Aquelas com o B pertencem ao grupo B, e aquelas com ambos A e B pertencem ao grupo AB. A ausência de ambos os antígenos A e B resulta no tipo sangüíneo O (ver Figura 30.16).

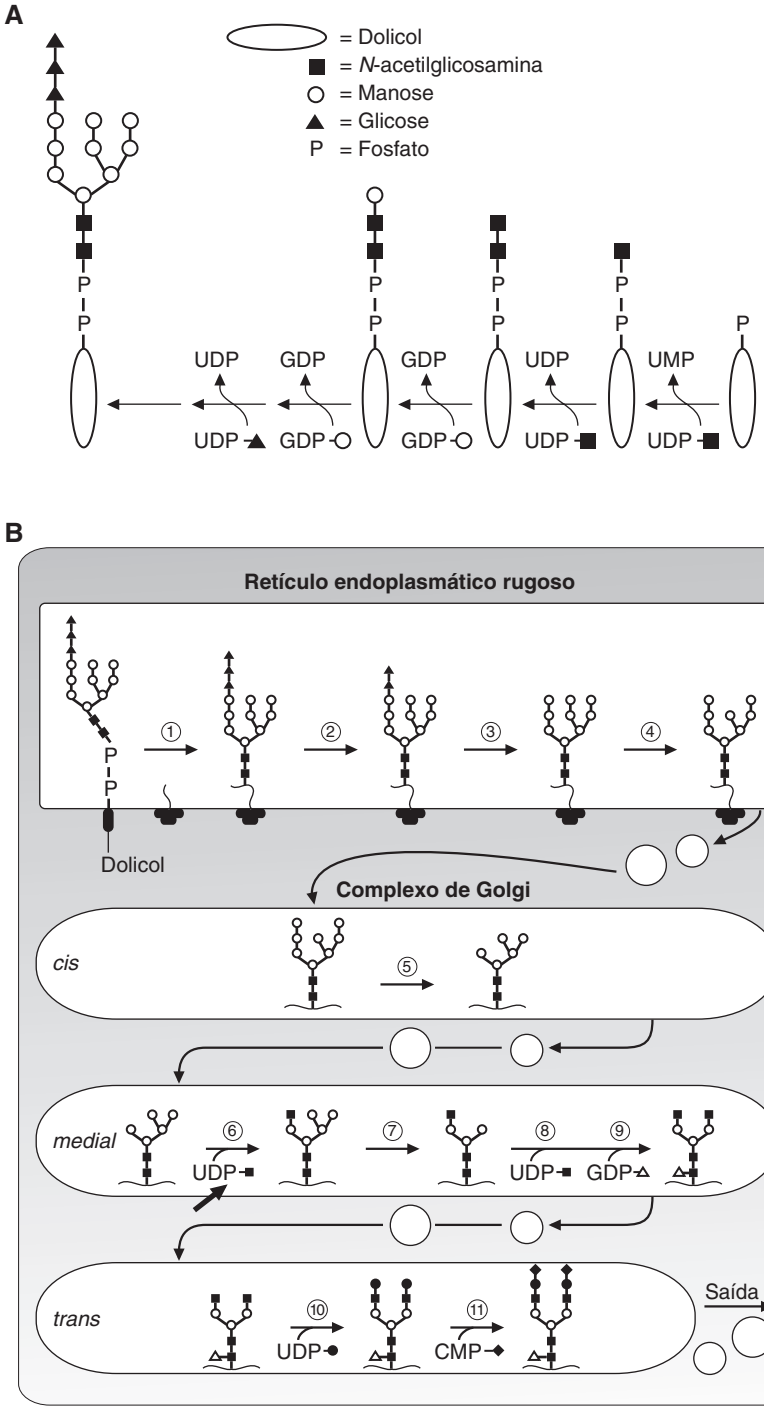


Figura 30.14 Ação do dolicol-fosfato na transferência de grupos carboidrato para proteínas (A) e no processamento desses carboidratos (B). A transferência do oligossacarídeo ramificado do dolicol-fosfato para uma proteína no lúmen do retículo endoplasmático rugoso (RER) (etapa 1) e o processamento do oligossacarídeo (etapas 2 a 11). As etapas 1 a 4 ocorrem no RER. A glicoproteína é transferida em vesículas para o complexo de Golgi, onde modificações posteriores ocorrem (etapas 5 a 11). B modificada com permissão de Kornfeld R, Kornfeld S. Annu Rev Biochem 1985;54:640. © 1985 by Annual Reviews, Inc. P = fosfato.

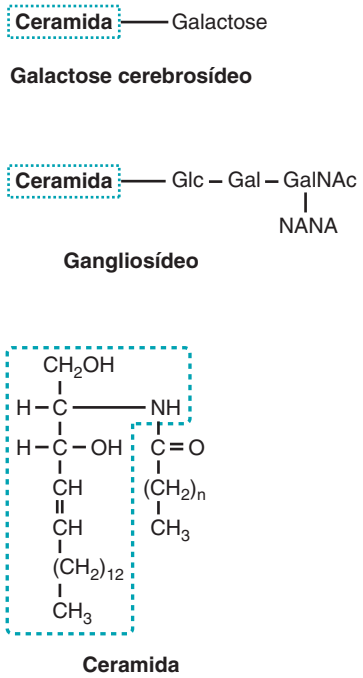


Figura 30.15 Estruturas de cerebrosídeos e gangliosídeos. Nesses glicolipídeos, carboidratos são ligados à ceramida (mostrado abaixo dos glicolipídeos). A porção da ceramida na caixa é esfingosina, a partir da qual o nome esfingolipídeos é derivado.

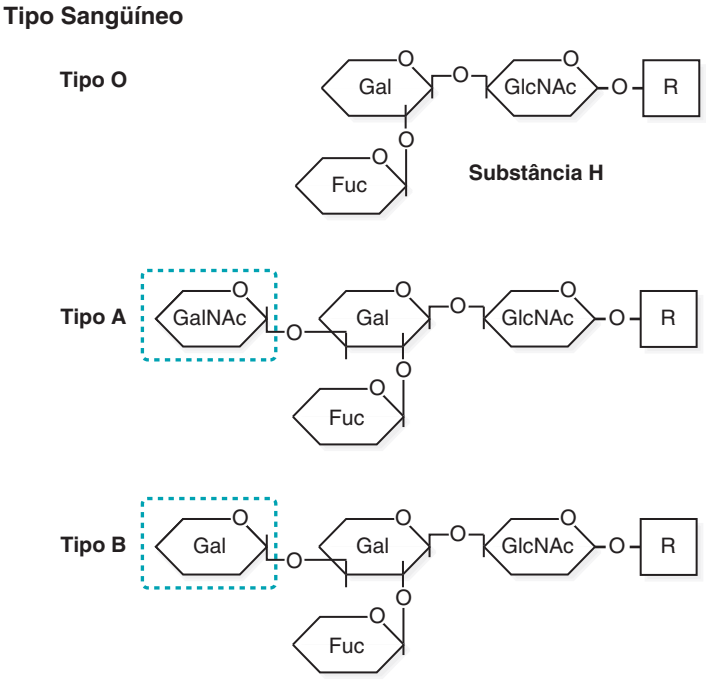


Figura 30.16 Estruturas dos componentes dos grupos sangüíneos. Observe que essas estruturas são as mesmas, exceto que na extremidade redutora o tipo A tem N-acetilgalactosamina (GalNAc), o tipo B tem galactose (Gal), e o tipo O não tem nenhuma. R é uma proteína ou lipídeo ceramida. Cada determinante antigênico está em uma caixa. Fuc = fucose; GlcNAc = N-acetilglicosamina; Gal = galactose.

Os constituintes dos grupos sangüíneos são oligossacarídeos componentes de glicolipídeos e glicoproteínas encontradas na maioria das membranas celulares. Aqueles localizados nas células sangüíneas vermelhas têm sido extensivamente estudados. Um único *locus* genético com dois alelos determina o tipo sangüíneo de uma pessoa. Esses genes codificam as glicosiltransferases envolvidas na síntese de oligossacarídeos dos constituintes dos grupos sangüíneos.

A maioria das pessoas pode sintetizar a substância H, um oligossacarídeo que contém uma fucose ligada a uma galactose na extremidade não-redutora da estrutura do grupo sangüíneo (ver Figura 30.16). Pessoas do tipo A produzem uma N-acetilgalactosamina-transferase (codificada por um gene A) que liga N-acetilgalactosamina ao resíduo de galactose da substância H. Pessoas do tipo B produzem uma galactosiltransferase (codificada pelo gene B) que liga galactose ao resíduo de galactose da substância H. Pessoas do tipo AB tem ambos os alelos e produzem ambas as transferases. Assim, alguns oligossacarídeos dos grupos sangüíneos contêm N-acetilgalactosamina e alguns contêm galactose. Pessoas do tipo O produzem uma transferase com defeito e, portanto, não ligam N-acetilgalactosamina ou galactose à substância H. Assim, pessoas de tipo sangüíneo O têm apenas a substância H.

B. Síntese

Os cerebrosídeos são sintetizados a partir de ceramida e UDP-glicose ou UDP-galactose. Eles contêm um carboidrato simples (um monossacarídeo). Os gangliosídeos contêm oligossacarídeos produzidos por UDP-carboidratos e CMP-NANA, o qual é o precursor para os resíduos de ácido N-acetilneuramínico que se ramificam a partir da cadeia linear. A síntese de esfingolipídeos é descrita em mais detalhes no Capítulo 33.

Os esfingolipídeos são produzidos no complexo de Golgi. Seu componente lipídico se torna parte da membrana da vesícula secretora que se projeta da face *trans* do Golgi. Após a membrana da vesícula se fundir com a membrana da célula, o componente lipídico do glicolipídeo permanece na camada externa da membrana celular, e o componente carboidrato se estende para o espaço extracelular.

A toxina do cólera se liga à porção carboidrato do gangliosídeo G_{M1} para permitir que sua subunidade catalítica entre na célula.

Q: **Erna Nemdy** determinou que o tipo de sangue de um paciente era AB. O novo residente de cirurgia estava ansioso para dar uma transfusão de sangue a esse paciente, e, devido ao fato de o sangue AB ser raro e uma quantidade adequada não estar disponível no banco de sangue, ele solicitou sangue tipo A. Erna deve dar ao residente o sangue tipo A para que ele dê a seu paciente?

Jay Sakz tem doença de Tay-Sachs, a qual pertence a um grupo de gangliosidoses que inclui as doenças de Fabry e Gaucher. Elas afetam principalmente o cérebro, a pele e o sistema reticuloendotelial (p. ex., fígado e baço). Nessas doenças, lipídeos complexos se acumulam. Cada um desses lipídeos contém uma ceramida como parte de sua estrutura (Tabela 30.3). A velocidade na qual o lipídeo é sintetizado está normal. Contudo, a enzima lisossomal necessária para sua degradação não está muito ativa, devido ao fato de ela ser formada em quantidades deficientes ou devido a uma mutação em um gene que especificamente codifica para a enzima ou, ainda, devido a uma proteína crucial necessária para ativar a enzima que está faltando. Devido ao fato de o lipídeo não poder ser degradado, ele se acumula e causa degeneração dos tecidos afetados com mau funcionamento progressivo, como a deficiência psicomotora que ocorre como resultado do envolvimento do sistema nervoso central visto na maioria dessas doenças de armazenamento.

Tabela 30.3 Enzimas Defeituosas na Gangliosidose

Doença	Deficiência de Enzima	Lipídeo Acumulado
Fucosidose	α-Fucosidase	Cer-Glc-Gal-GalNAc-Gal:Fuc H-isoantígeno
Gangliosidose generalizada	G_{M1}-β-galactosidade	Cer-Glc-Gal(NeuAc)-GalNAc:Gal G_{M1} gangliosídeo
Doença de Tay-Sachs	Hexoamidinase A	Cer-Glc-Gal(NeuAc);GalNAc G_{M2} gangliosídeo
Variante Tay-Sachs da doença de Sandhoff	Hexoamidinase A e B	Cer-Glc-Gal-Gal:GalNAc Globosídeo mais G_{M2} gangliosídeo
Doença de Fabry	α-Galactosidase	Cer-Glc-Gal:Gal Globotriaosilceramida
Ceramida-lactosídeo lipidose	Ceramida-lactosidase (β-galactosidase)	Cer-Glc:Gal Ceramida-lactosídeo
Leucodistrofia metacromática	Arilsulfatase A	Cer-Gal:OSO_3 3-Sulfogalactosilceramida
Doença de Krabbe	β-Galactosidase	Cer:Gal Galactosilceramida
Doença de Gaucher	β-Glicosidase	Cer:Glc Glicosilceramida
Doença de Niemann-Pick	Esfingomielinase	Cer: P-colina Esfingomielina
Doença de Farber	Ceramidase	Acil:esfingosina Ceramida

Neu AC = ácido N-acetilneuramínico; Cer = ceramida; Glic = glicose; Gal = galactose; Fuc = fucose: locais de reações enzimáticas deficientes.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Durante seu estágio no banco de dados do hospital, **Erna Nemdy** aprendeu que a importância do sistema de grupo sangüíneo ABO na terapia de transfusão é fundamentada em dois princípios (Tabela 30.4). (a) Os anticorpos para antígenos A e B ocorrem naturalmente no soro sangüíneo de pacientes cujas superfícies das células sangüíneas vermelhas não têm o antígeno correspondente (ou seja, pessoas com antígenos A em suas células sangüíneas vermelhas têm anticorpos B em seu soro e vice-versa). Esses anticorpos podem surgir como resultado de exposição prévia a antígenos de reação cruzada em bactérias e alimentos ou transfusão de sangue. (b) Os anticorpos para A e B em geral estão presentes em títulos elevados e são capazes de ativar todo o sistema de complemento. Como resultado, esses anticorpos podem causar destruição intravascular de um grande número de células sangüíneas vermelhas incompatíveis administradas durante uma transfusão de sangue. Pessoas com tipo AB têm ambos os antígenos A e B e não produzem anticorpos para os dois. Assim, são receptores "universais". Elas podem com segurança receber células sangüíneas vermelhas de pessoas de tipo sangüíneo A, B, AB, ou O (contudo, não podem receber com segurança soro dessas pessoas, pois ele contém anticorpos para os antígenos A ou B). Aqueles com tipo sangüíneo O não têm ambos os antígenos. Elas são doadores "universais", ou seja, suas células sangüíneas vermelhas podem ser infundidas com segurança nas pessoas com tipo A, B, O ou AB (contudo, seus soros contêm anticorpos para ambos os antígenos A e B e não podem ser utilizados com segurança).

R: O paciente poderia seguramente receber células sangüíneas do tipo A de outra pessoa, pois ele tem ambos os antígenos A e B em suas próprias células e não têm anticorpos em seu sangue para as células do tipo A ou B. Contudo, ele não deve receber soro do tipo A (ou sangue total do tipo A), pois o soro do tipo A contém anticorpo a antígenos do tipo B, os quais estão presentes em suas células.

Tabela 30.4 Caracteríticas dos Grupos Sangüíneos ABO

Tipo de célula sangüínea	O	A	B	AB
Genótipos possíveis	OO	AA ou AO	BB ou BO	AB
Anticorpos no soro	Anti-A e B	Anti-B	Anti-A	Nenhum
Freqüência (em brancos)	45%	40%	10%	5%
Pode aceitar tipos sangüíneos	O	A, O	B, O	A, B, AB, O

O segundo grupo de células sangüíneas vermelhas importante é o grupo Rh. Ele é importante porque um de seus antígenos determinantes, o antígeno D, é um imunogênio muito potente, estimulando a produção de um grande número de anticorpos.

A composição de carboidratos exclusiva das glicoproteínas que constituem os determinantes antigênicos nas células sangüíneas vermelhas contribui em parte para a imunogenicidade relativa aos grupos A, B e Rh (D) no sangue humano.

A doença de Tay-Sachs, o problema afetando **Jay Sakz**, é um distúrbio autossômico recessivo raro na população geral (1 em 300.000 nascimentos), mas sua prevalência em judeus de origem na Europa oriental (que constituem 90% da população de judeus dos Estados Unidos) é muito mais alta (1 em 3.600 nascimentos). Um em cada 28 judeus Ashkenazi são portadores desse gene defeituoso. Sua presença pode ser descoberta pela medição do nível da proteína produzida pelo gene (hexosaminidase A) ou por técnicas de DNA recombinante. Os fibroblastos da pele de casais preocupados, planejando uma família, com freqüência são utilizados para esses testes.

Os portadores do gene afetado têm um nível funcional reduzido dessa enzima que normalmente hidrolisa uma ligação específica entre uma N-acetil-D-galactosamina e um resíduo de D-galactose na cabeça polar do gangliosídeo.

Não existe terapia efetiva disponível. A reposição da enzima teve pouco sucesso devido às dificuldades da enzima de cruzar a barreira hematencefálica.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

A hexosaminidase A, a enzima defeituosa na doença de Tay-Sachs, é na verdade composta de duas subunidades, uma cadeia α e uma β. A estequiometria exata da enzima ativa é desconhecida, mas ela pode ser $\alpha_2\beta_2$. A subunidade α é codificada pelo gene HexA, enquanto a subunidade β é codificada pelo gene HexB. Na doença de Tay-Sachs, a subunidade α é defeituosa, e a atividade de hexosaminidase A está perdida. Contudo, a subunidade β pode formar tetrâmeros ativos na ausência da subunidade α, e essa atividade, chamada de hexosaminidase β, a qual quebra o glicolipídeo globosídeo, retém a atividade em crianças com doença de Tay-Sachs. Assim, crianças com doença de Tay-Sachs acumulam o gangliosídeo G_{M2}, mas não o globosídeo (Fig. 30.17).

A mutação do gene HexB, e a produção de uma subunidade β defeituosa, leva à inativação de ambas as atividades de hexosaminidase A e B. Tal mutação causa a doença de Sandhoff. Ambas as atividades são perdidas porque elas necessitam de uma

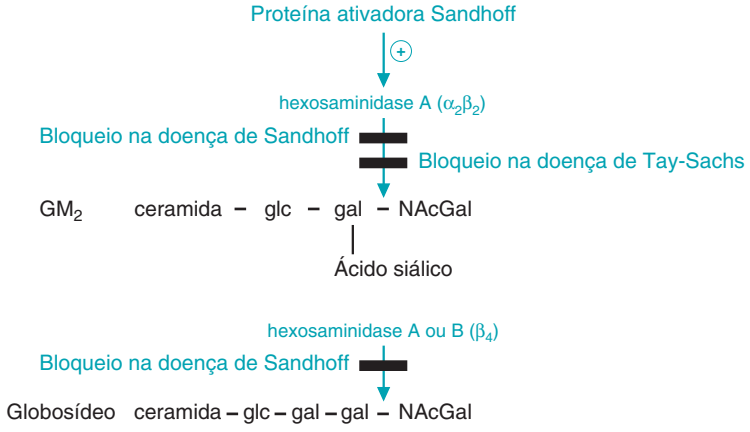


Figura 30.17 Especificidade de substratos da hexosaminidase A, B e da função da proteína ativadora. Glc = glicose; gal = galactose; NAcGal = N-acetilgalactosamina.

subunidade β funcional. O curso clínico da doença é similar ao da Tay-Sachs, mas com uma velocidade acelerada devido ao acúmulo inicial de G_{M2} e globosídeo nos lisossomas.

Um terceiro tipo de mutação também pode levar a sintomas de doença similares àqueles da doença de Tay-Sachs. Crianças foram identificadas com sintomas de Tay-Sachs, mas quando ambas as atividades de hexosaminidase A e B foram medidas em um tubo de ensaio, elas estavam normais. Essa doença, finalmente denominada de doença do ativador de Sandhoff, é causada por uma mutação em uma proteína necessária para ativar a atividade de hexosaminidase A. Na ausência do ativador, a atividade de hexosaminidase A é mínima, e G_{M2} inicialmente se acumula nos lisossomas. Essa mutação não tem efeito sobre a atividade de hexosaminidase B.

Quando um glicolipídeo não pode ser degradado devido a uma mutação enzimática, ele se acumula em corpos residuais (vacúolos que contêm material que enzimas lisossomais não podem digerir). As células normais contém um pequeno número de corpos residuais; contudo, em doenças de enzimas lisossomais, grandes números de corpos residuais se acumulam dentro da célula, eventualmente interferindo na função celular normal.

Em 70% dos casos de doença de Tay-Sachs em pessoas com antecedentes judeus Ashkenazi, o éxon 11 do gene para a cadeia α da hexosaminidase A contém uma mutação. A seqüência normal do gene codifica uma proteína com os aminoácidos arg-ile-ser-tyr-gly-pro-asp nessa região, como mostrado a seguir:

```
                    •         10        •         20
5' – CGTATATCCTATGGCCCTGAC
      arg – ile – ser – tyr – gly – pro – asp
```

A seqüência de DNA mutante para essa área é mostrada a seguir:

```
                    •         10        •         20
5' – CGTATATCTATCCTATGGCCCTGAC
      arg – ile – ser – ile – leu – leu – trp – pro –
```

Uma inserção de quatro bases (sublinhado) ocorre no gene mutado, que altera a estrutura de leitura (*reading frame*) da proteína e também introduz um códon de parada (*stop codon*) prematuro mais adiante na proteína, de tal modo que a subunidade α não pode ser produzida.

Leituras Sugeridas

Gravel RA, Kaback MM, Proia RL, Sandhoff K, et al. The G_{M2} gangliosidoses. In: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, Sly WS, et al eds. The Metabolic e Molecular Bases of Inherited Disease. 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:3827-3876.

Kornfeld S, Sly WS. I-cell disease e pseudohurler polydystrophy: disorders of lysosomal enzyme phosphorylation e localization. In: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, Sly WS, et al., eds. The Metabolic e Molecular Bases of Inherited Disease, 8th ed. New York: McGraw-Hill, 2001:3469-3482.

Lloyd KO. The chemistry e immunochemistry of blood group A, B, H e Lewis antigens: past, present e future. Glycoconjugate J 2000:531-541.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 30

1. Qual das seguintes alternativas melhor descreve uma mãe com galactosemia causada por uma deficiência de galactose-1-fosfato-uridililtransferase?

   (A) Ela pode converter galactose a UDP-galactose para a síntese de lactose durante a amamentação.
   (B) Ela pode formar galactose-1-fosfato a partir de galactose.
   (C) Ela pode utilizar galactose como um precursor da produção de glicose.
   (D) Ela pode utilizar galactose para produzir glicogênio.
   (E) Ela terá níveis séricos mais baixos do que o normal de galactose após beber leite.

2. Os precursores carboidratos imediatos para a síntese de glicolipídeo e glicoproteína são quais dos seguintes?

   (A) Açúcar-fosfatos
   (B) Açúcar-ácidos
   (C) Açúcar-alcoóis
   (D) Açúcar-nucleotídeos
   (E) Acil-açúcares

3. Um recém-nascido é diagnosticado com icterícia neonatal. Nesse paciente, a bilirrubina produzida não tem qual dos seguintes carboidratos?

   (A) Glicose
   (B) Gliconato
   (C) Glicuronato
   (D) Galactose
   (E) Galactitol

4. O doador de nitrogênio para a formação de aminos derivados de carboidratos é qual dos seguintes?

   (A) Amônia
   (B) Asparagina
   (C) Glutamina
   (D) Adenina
   (E) Dolicol

5. Qual dos seguintes glicolipídeos se acumularia em um paciente com doença de Sandhoff?

   (A) G_{M1}
   (B) Lactosil-ceramida
   (C) Globosídeo
   (D) Glicocerebrosídeo
   (E) G_{M3}

31 Gliconeogênese e Manutenção dos Níveis Sangüíneos de Glicose

Durante o jejum, muitas das reações da glicólise são revertidas no fígado para produzir glicose para manter os níveis sangüíneos de glicose. Esse processo de ***produção de glicose*** *é chamado de* ***gliconeogênese****.*

A gliconeogênese, a qual ocorre primariamente no fígado, é a rota de síntese de glicose a partir de outros compostos que não pertencem à classe dos carboidratos. Em humanos, os maiores precursores de glicose são ***lactato****,* ***glicerol*** *e* ***aminoácidos****, particularmente* ***alanina****. Exceto pelas três etapas-chave, as reações da gliconeogênese são o reverso das etapas da glicólise (Figura 31.1). As reações da gliconeogênese que não utilizam enzimas da glicólise envolvem as etapas irreversíveis, reguladas da glicólise. Essas três etapas são a conversão de (a) piruvato a fosfoenolpiruvato, (b) frutose-1,6-bisfosfato a frutose-6-fosfato e (c) glicose 6-fosfato a glicose.*

Alguns tecidos do corpo, como o cérebro e as células sangüíneas vermelhas, não podem sozinhos sintetizar glicose; contudo, dependem de glicose para energia. A longo prazo, a maioria dos tecidos requer glicose para outras funções, como a síntese da parte ribose dos nucleotídeos ou a porção carboidrato de glicoproteínas e glicolipídeos. Entretanto, para sobreviver, os humanos têm mecanismos para manter os níveis sangüíneos de glicose.

Após uma refeição contendo carboidratos, os níveis sangüíneos de glicose se elevam (Figura 31.2). Alguma glicose da dieta é armazenada no fígado como ***glicogênio****. Após 2 ou 3 horas de jejum, esse glicogênio começa a ser degradado pelo processo de* ***glicogenólise****, e a glicose é liberada para o sangue. À medida que as reservas de glicogênio diminuem, os* ***triacilgliceróis do tecido adiposo*** *são degradados, fornecendo* ***ácidos graxos*** *como um substrato energético alternativo e glicerol para a síntese de glicose por gliconeogênese. Os aminoácidos também são liberados do músculo e servem como precursores gliconeogênicos.*

Durante um jejum de uma noite, os níveis sangüíneos de glicose são mantidos tanto por glicogenólise como por gliconeogênese. Contudo, após cerca de 30 horas de jejum, a maioria das reservas hepáticas de glicogênio está depletada. Subseqüentemente, a gliconeogênese é a única fonte de glicose sangüínea.

As alterações no metabolismo da glicose que ocorrem durante a mudança do estado alimentado para o estado de jejum são reguladas pelos hormônios ***insulina*** *e* ***glucagon****. A insulina está aumentada durante o estado alimentado, e o glucagon está elevado durante o jejum. A insulina estimula o* ***transporte*** *de glicose para dentro de certas células, como músculo e tecido adiposo. A insulina também altera a atividade de enzimas-chave que regulam o metabolismo, estimulando o armazenamento de substratos energéticos. O glucagon tem efeitos contrários aos da insulina, estimulando a liberação de substratos energéticos armazenados e a conversão de lactato, aminoácidos e glicerol a glicose.*

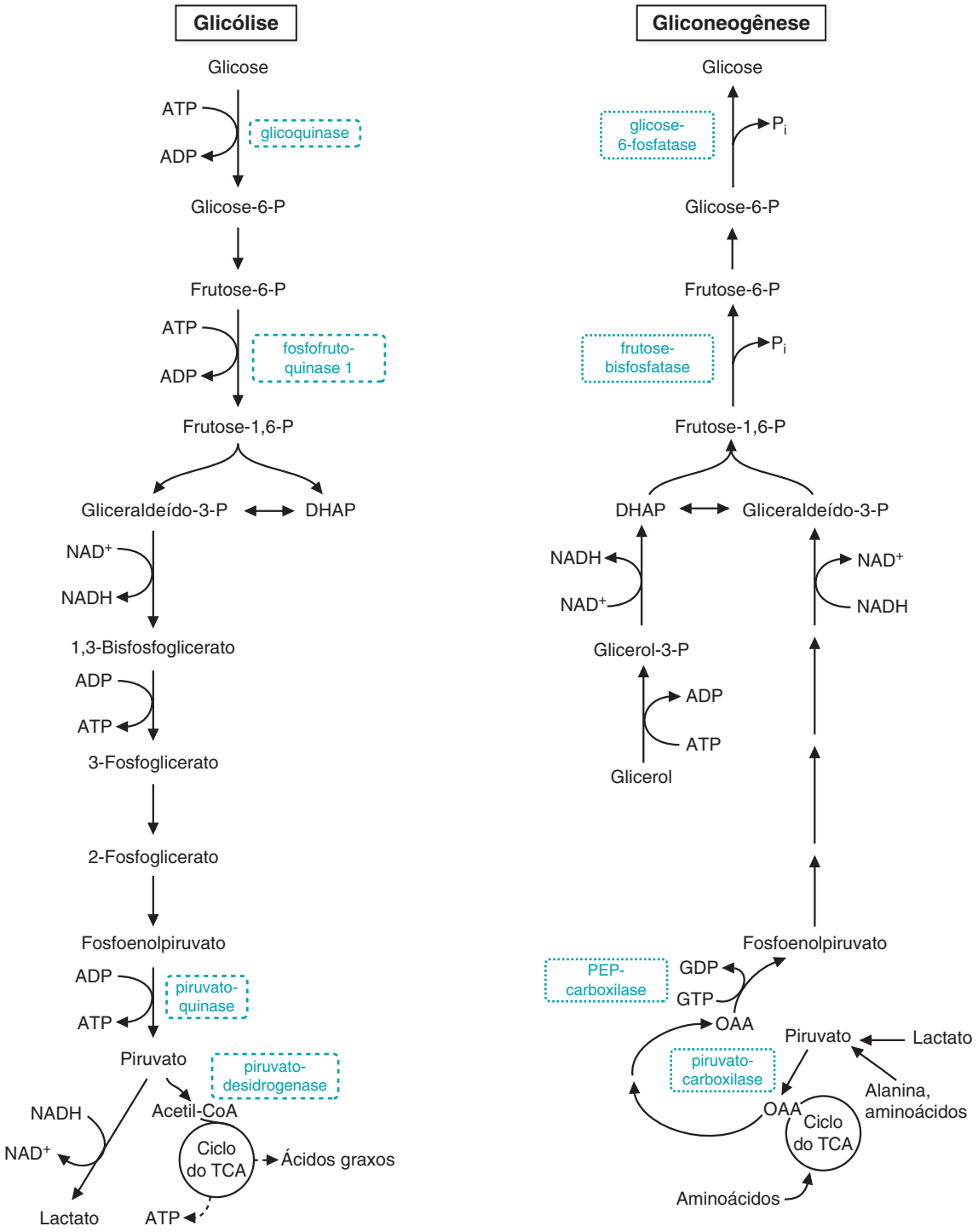


Figura 31.1 Glicólise e gliconeogênese no fígado. A rota da gliconeogênese é quase o reverso da rota glicolítica, exceto em três reações. Nessas etapas, as reações são catalisadas por enzimas diferentes. As necessidades de energia dessas reações diferem, e uma rota pode ser ativada enquanto a outra é inibida.

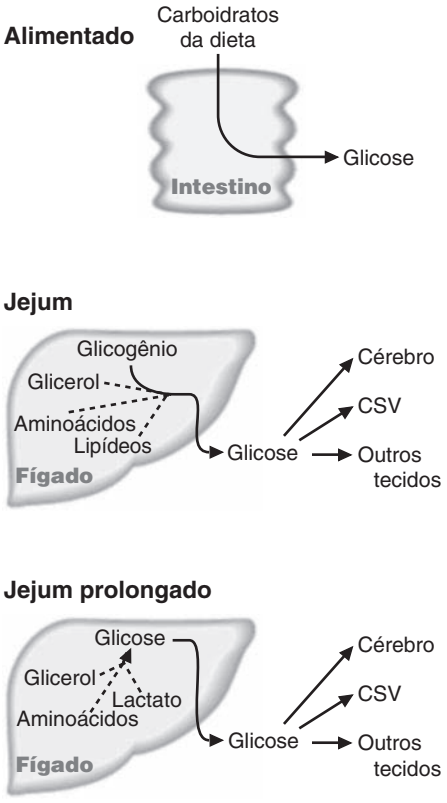


Figura 31.2 Fonte de glicose sangüínea nos estados alimentado, de jejum e de jejum prolongado. CSV = células sangüíneas vermelhas.

Q: Quais sinais e sintomas clínicos ajudam a distinguir um coma causado por um excesso de glicose e corpos cetônicos sangüíneos decorrente de uma deficiência de insulina (cetoacidose diabética [DKA, do inglês *diabetic ketoacidosis*]) de um coma causado por uma diminuição súbita da glicose sangüínea (coma hipoglicêmico) induzido por uma injeção inadvertida de insulina em excesso (o problema atual que **Di Abietes** está sofrendo)?

Os níveis sangüíneos de glicose são mantidos não apenas no jejum, mas também durante o exercício, quando as células do músculo captam a glicose do sangue e a oxidam para obter energia. Durante o exercício, o fígado fornece glicose para o sangue pelo processo de glicogenólise e gliconeogênese.

SALA DE ESPERA

Al Martini, um alcoólatra conhecido, foi trazido à emergência pela proprietária da pensão, que relatou que ele bebeu muito na última semana. Durante esse tempo seu apetite diminuiu gradualmente, e ele não tinha comido nos últimos três dias. Ele estava confuso, agressivo, trêmulo e suando profusamente. Sua fala era incompreensível. A freqüência cardíaca estava rápida (110 bpm). Quando a pressão sangüínea estava sendo determinada, ele teve uma convulsão do tipo grande mal. A glicose sangüínea, medida pouco antes do início da convulsão, era de 28 mg/dL ou 1,6 mM (valores de referência para glicose sangüínea após jejum de uma noite 80 a 100 mg/dL ou 4,4 a 5,6 mM). O etanol sangüíneo medido no mesmo tempo era de 295 mg/dL (nível de intoxicação, ou seja, estado "confuso", 150 a 300 mg/dL).

Emma Wheezer apareceu na emergência três dias após alta hospitalar depois de uma internação de 10 dias por asma brônquica refratária grave. Ela necessitou de alta dose intravenosa de dexametasona (um glicocorticóide sintético antiinflamatório) nos primeiros oito dias de sua estada. Após dois dias adicionais recebendo dexametasona oral, ela recebeu alta com doses farmacológicas elevadas desse esteróide e orientada a retornar ao consultório de seu médico em cinco dias. Ela apareceu com poliúria marcada (aumento da freqüência das micções), polidipsia (sede aumentada) e fraqueza muscular. A glicose sangüínea era de 275 mg/dL ou 15 mM (valores de referência = 80 a 100 mg/dL ou 4,4 a 5,6 mM).

Di Abietes não se lembrava se havia tomado a dose de insulina das 18:00 horas, quando, de fato, tinha tomado. Infelizmente, ela decidiu administrar a dose noturna (pela segunda vez). Quando ela não acordou às 6:00 horas com o despertador, sua companheira de quarto tentou acordá-la sem sucesso. Ela chamou uma ambulância, e Di foi levada para a emergência do hospital em coma. O pulso e a pressão sangüínea na admissão estavam normais. A pele estava avermelhada e levemente úmida. A respiração estava levemente lenta.

Ann O'Rexia continua a resistir aos esforços de seu psiquiatra e seu médico de família para convencê-la a aumentar sua ingesta calórica. Seu peso corporal varia entre 44,09 e 45 kg, muito abaixo do peso desejado para uma mulher que mede 1,70 m. Apesar da dieta grave, os níveis de glicose sangüínea variam de 55 a 70 mg/dL. Ela nega ter qualquer sintoma hipoglicêmico.

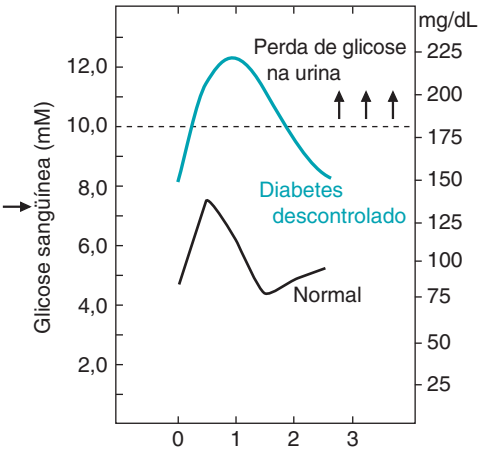
Otto Shape manteve sua dieta com restrição de calorias e seu programa de exercícios aeróbicos. Ele perdeu mais 3,18 kg e está se aproximando do objetivo de pesar 70 kg. Ele observa aumento de energia durante o dia, permanece alerta durante as aulas e assimila os conteúdos muito melhor do que antes de iniciar sua perda de peso e seu programa de exercício. Ele corre por 45 minutos cada manhã antes do café da manhã.

A suspeita de diagnóstico de diabetes melito (DM) deve ocorrer se um nível venoso de glicose sangüínea coletado independentemente de quando foi ingerido alimento pela última vez (uma amostra "aleatória" de glicose sangüínea) estiver "inequivocamente elevado" (ou seja, ≥ 200 mg/dL), em especial em um paciente que manifesta os sinais e sintomas clássicos de hiperglicemia crônica (polidipsia, poliúria, visão borrada, cefaléias, perda rápida de peso, algumas vezes acompanhados de náusea e vômitos). Para confirmar o diagnóstico, o paciente deve fazer jejum durante a noite (10 a 16 horas), e a glicose sangüínea deve ser repetida. Valores menores do que 110 mg/dL são considerados normais. Valores maiores do que 140 mg/dL são indicativos de DM. A hemoglobina glicosilada deve ser medida para determinar a extensão da hiperglicemia nas últimas 4 a 8 semanas. Valores de glicose sangüínea após jejum entre 111 e 140 mg/dL são chamados de tolerância à glicose diminuída em jejum (TGD), e testagens posteriores devem ser realizadas para determinar se essas pessoas eventualmente desenvolverão diabetes melito.

Embora o teste oral de tolerância à glicose (TTG) seja contra-indicado para pacientes que claramente têm diabetes melito, ele é utilizado para pacientes com glicose sangüínea na faixa de TGD (entre 115 e 140 mg/dL). No TTG, uma paciente não-grávida que fez jejum durante a noite recebe 75 g de glicose em uma solução aquosa. Amostras sangüíneas são retiradas antes da carga oral de glicose e 30, 60, 90 e 120 minutos após. Se qualquer das amostras 30, 60, 90 e 120 minutos após for maior do que 200 mg/dL, indica DM.

O diagnóstico de TGD e da forma mais grave de intolerância à glicose (DM) é fundamentado nos níveis sangüíneos de glicose, pois não existe característica mais específica para o distúrbio. A diferença entre TGD e DM é confusa, pois um nível de glicose sangüínea de um paciente pode variar de forma significativa com dosagens seriadas no tempo sob mesmas condições de dieta e atividade.

O transporte renal tubular máximo na pessoa saudável é tal que a glicose não aparecerá na urina até que o nível de glicose sangüínea ultrapasse 180 mg/dL. Como resultado, fitas reagentes (Tes-Tape ou Dextrostix) desenvolvidas para detectar a presença de glicose na urina não são sensíveis o suficiente para estabelecer um diagnóstico precoce de DM.



I. METABOLISMO DA GLICOSE NO FÍGADO

A glicose serve como substrato energético para a maioria dos tecidos do corpo. Ela é o principal substrato energético para certos tecidos, como o cérebro e as células sangüíneas vermelhas. Após uma refeição, o alimento é a fonte de glicose sangüínea. O fígado oxida glicose e armazena o excesso como glicogênio. O fígado também utiliza a via da glicólise para converter glicose a piruvato, o qual fornece carbono para a síntese de ácidos graxos. O glicerol-3-fosfato, produzido a partir de intermediários glicolíticos, combina-se com ácidos graxos para formar triacilgliceróis, os quais são secretados no sangue em lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL, do inglês *very-low-density lipoproteins*; explicado em detalhes no Capítulo 32). Durante o jejum, o fígado libera glicose para o sangue, de tal modo que os tecidos dependentes de glicose não sofrem de uma perda de energia. Dois mecanismos estão envolvidos nesse processo: glicogenólise e gliconeogênese. Os hormônios, particularmente insulina e glucagon, determinam se a glicose passa através da glicólise ou se as reações são revertidas e a glicose é produzida por gliconeogênese.

II. GLICONEOGÊNESE

A gliconeogênese, o processo pelo qual glicose é sintetizada a partir de precursores não-carboidratos, ocorre principalmente no fígado sob condições de jejum. Sob condições mais extremas de jejum prolongado, o córtex renal também pode produzir glicose. Na maior parte, a glicose produzida no córtex renal é utilizada na medula renal, mas uma parte pode entrar na corrente sangüínea.

Iniciando com piruvato, a maioria das etapas da gliconeogênese é simplesmente o reverso daquelas da glicólise (Figura 31.3). De fato, essas rotas diferem apenas em três

R: Pacientes comatosos por cetoacidose diabética têm odor de acetona (um derivado do corpo cetônico acetoacetato) em seu hálito. Além disso, pacientes com CAD têm respirações relativamente rápidas típicas de pacientes acidóticos (respiração de Kussmaul). Essa respiração resulta de uma estimulação induzida por acidose do centro respiratório no cérebro. Mais CO_2 é expirado em um tentativa de reduzir a quantidade de ácido no corpo: $H^+ + HCO_3^- \rightarrow H_2CO_3 \rightarrow H_2O + CO_2$ (expirado).

A hiperglicemia grave da CAD também causa uma diurese osmótica (ou seja, glicose entrando na urina carrega junto água), a qual, por sua vez, causa contração do volume sangüíneo. Depleção de volume pode ser agravada por vômitos, comuns em pacientes com CAD. A CAD pode causar desidratação (pele seca), uma pressão sangüínea baixa e uma freqüência cardíaca rápida. Essas alterações respiratórias e hemodinâmicas não são vistas em pacientes com coma hipoglicêmico. A pele vermelha e úmida do coma hipoglicêmico está em contraste com a pele seca observada na CAD.

Os glicocorticóides são hormônios esteróides que ocorrem naturalmente. Em humanos, o principal glicocorticóide é o cortisol. Os glicocorticóides são produzidos no córtex da supra-renal em resposta a vários tipos de estresse (ver Capítulo 43). Uma de suas ações é estimular a degradação de proteínas do músculo. Assim, quantidades aumentadas de aminoácidos se tornam disponíveis como substrato para a gliconeogênese. **Emma Wheezer** notou fraqueza muscular, um resultado da ação de degradação do glicocorticóide sintético dexametasona, o qual ela estava tomando por seus efeitos antiinflamatórios.

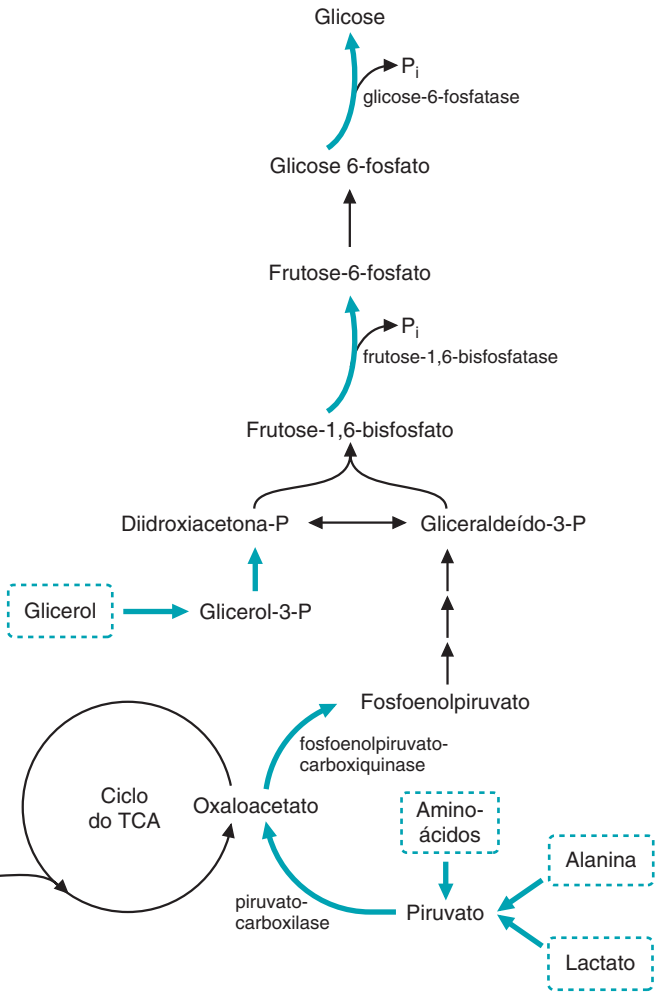


Figura 31.3 Reações-chave da gliconeogênese. Os precursores são aminoácidos (particularmente alanina), lactato e glicerol. As setas em negrito indicam etapas que diferem daquelas da glicólise.

Devido ao fato de o metabolismo do etanol originar apenas acetil-CoA, os carbonos do etanol não podem ser utilizados para gliconeogênese.

pontos. As enzimas envolvidas em catalisar essas etapas são reguladas de tal modo que glicólise ou gliconeogênese predomina, dependendo das condições fisiológicas.

A maioria das etapas da gliconeogênese utiliza as mesmas enzimas que catalisam o processo de glicólise. O fluxo de carbono, é claro, ocorre na direção inversa. Três seqüências de reações diferem das etapas correspondentes na glicólise. Elas envolvem a conversão de piruvato a fosfoenolpiruvato (PEP) e as reações que removem fosfato da frutose-1,6-bisfosfato para formar frutose-6-fosfato e da glicose-6-fosfato para formar glicose (ver Figura 31.3). A conversão de piruvato a PEP é catalisada durante a gliconeogênese por uma série de enzimas em vez de uma única enzima utilizada para a glicólise. Cada uma das reações que remove fostato da frutose-1,6-fosfato e da glicose-6-fosfato utiliza uma única enzima que difere das enzimas correspondentes da glicólise. Embora fosfato seja adicionado durante a glicólise por quinases, as quais utilizam trifosfato de adenosina (ATP), ele é removido durante a gliconeogênese por fosfatases que liberam P_i por reações de hidrólise.

A. Precursores para a Gliconeogênese

As três maiores fontes de carbonos para a gliconeogênese em humanos são lactato, glicerol e aminoácidos, particularmente alanina. O lactato é produzido por glicóli-

se anaeróbica nos tecidos como o músculo em exercício ou as células sangüíneas vermelhas, bem como nos adipócitos durante o estado alimentado. O glicerol é liberado das reservas adiposas de triacilgliceróis, e os aminoácidos se originam principalmente do fundo comum (*pools*) de aminoácidos no músculo, onde podem ser obtidos pela degradação de proteína do músculo. A alanina, o principal aminoácido gliconeogênico, é produzida no músculo a partir de outros aminoácidos e de glicose (ver Capítulo 38).

B. Formação de Intermediários Gliconeogênicos a partir de Fontes de Carbono

As fontes de carbono para a gliconeogênese formam piruvato, intermediários do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) ou intermediários comuns tanto à glicólise quanto à gliconeogênese.

1. LACTATO, AMINOÁCIDOS E GLICEROL

O piruvato é produzido no fígado a partir dos precursores glicogênicos lactato e alanina. A lactato-desidrogenase oxida lactato a piruvato, produzindo NADH (Figura 31.4A), e a alanina-aminotransferase converte alanina a piruvato (ver Figura 31.4B).

Embora a alanina seja o principal aminoácido glicogênico, outros aminoácidos, como a serina, servem como fontes de carbono para a síntese de glicose, pois também formam piruvato, o substrato para a etapa inicial do processo. Alguns aminoácidos formam intermediários do TCA (ver Capítulo 20), os quais podem entrar na rota gliconeogênica.

Os carbonos do glicerol são gliconeogênicos, formam diidroxiacetona-fosfato (DHAP), um intermediário glicolítico (ver Figura 31.4C).

2. PROPIONATO

Os ácidos graxos com um número ímpar de átomos de carbonos, os quais são obtidos principalmente a partir de vegetais na dieta, produzem propionil-CoA a partir dos três carbonos na extremidade ω da cadeia (ver Capítulo 23). Esses carbonos são precursores relativamente menores da glicose em humanos. A propionil-CoA é convertida a metamalonil-CoA, a qual sofre um rearranjo no esqueleto de carbono para formar succinil-CoA, um intermediário de 4 carbonos do ciclo do TCA que pode ser utilizado para a gliconeogênese. Os carbonos remanescentes de um ácido graxo de cadeia ímpar formam acetil-CoA, a partir da qual não ocorre síntese "líquida" de glicose.

A β-oxidação de ácidos graxos produz acetil-CoA. Devido ao fato de a reação da piruvato-desidrogenase ser termodinâmica e cineticamente irreversível, a acetil-CoA não forma piruvato para a gliconeogênese. Portanto, se a acetil-CoA é destinada a produzir glicose, ela deve entrar no ciclo do TCA e ser convertida a malato. Para cada dois carbonos da acetil-CoA que são convertidos a malato, dois carbonos são liberados como CO_2: um na reação catalisada pela isocitrato-desidrogenase e outro na reação catalisada pela α-cetoglutarato-desidrogenase. Portanto, não há síntese "líquida" de glicose a partir de acetil-CoA.



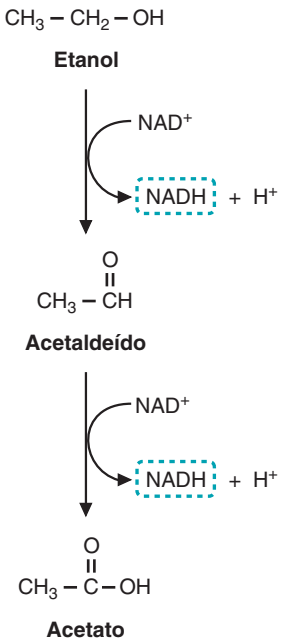
Em algumas espécies, o propionato é uma fonte principal de carbono para a gliconeogênese. Ruminantes podem produzir grandes quantidades de glicose a partir de propionato. Em vacas, a celulose é convertida a propionato por bactérias no rúmen. Esse substrato é, então, utilizado para produzir mais do que 2,27 kg de glicose a cada dia pelo processo de gliconeogênese.



Em um ácido graxo com 19 carbonos, quantos carbonos (e quais deles) formam glicose?



O metabolismo excessivo de etanol bloqueará a produção de precursores gliconeogênicos. As células têm quantidades limitadas de NAD, o qual existe como NAD^+ ou NADH. Quando os níveis de NADH se elevam, os de NAD^+ diminuem, e a razão das concentrações de NADH e NAD^+ ([NADH]/[NAD^+]) aumenta. Na presença de etanol, o qual é oxidado de forma muito rápida no fígado, a razão [NADH]/[NAD^+] é muito mais alta do que no fígado normal em jejum. Altos níveis de NADH levam a reação da lactato-desidrogenase em direção a lactato. Portanto, o lactato não pode entrar na rota gliconeogênica, e o piruvato que é produzido a partir de alanina é convertido a lactato. Devido ao fato de o glicerol ser oxidado por NAD^+ durante sua conversão a DHAP, a conversão de glicerol a glicose também é inibida quando os níveis de NADH estão elevados. Conseqüentemente, os maiores precursores de lactato, alanina e glicerol não são utilizados para a gliconeogênese sob condições nas quais o metabolismo do etanol está muito alto.



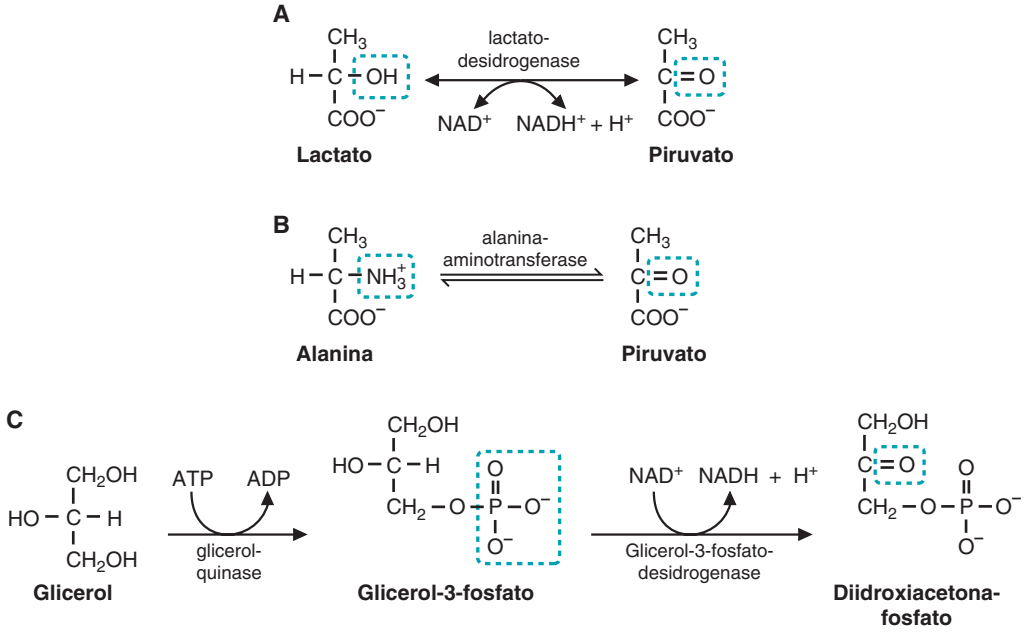


Figura 31.4 Metabolismo dos precursores gliconeogênicos. **A.** Conversão de lactato a piruvato. **B.** Conversão de alanina a piruvato. Nessa reação, a alanina-transferase transfere o grupo amino da alanina para a α-cetoglutarato para formar glutamato. A coenzima para essa reação, piridoxal-fosfato, capta e doa o grupo amino. **C.** Conversão de glicerol a diidroxiacetona-fosfato.

Os aminoácidos que formam intermediários do ciclo do TCA são convertidos a malato, o qual entra no citosol e é convertido a oxaloacetato, o qual avança pela gliconeogênese para formar glicose. Quando quantidades excessivas de etanol são ingeridas, os níveis elevados de NADH inibem a conversão de malato a oxaloacetato no citosol. Portanto, os carbonos de aminoácidos que formam os intermediários do ciclo do TCA não podem ser convertidos a glicose tão prontamente.

Apenas os três carbonos da extremidade ω de um ácido graxo de cadeia ímpar que formam propionil-CoA são convertidos a glicose. Os 16 carbonos remanescentes de um ácido graxo de 19 carbonos formam acetil-CoA, a qual não forma glicose.

C. Rota da Gliconeogênese

A gliconeogênese ocorre por uma rota que reverte muitas, mas não todas, as etapas da glicólise.

1. CONVERSÃO DE PIRUVATO A FOSFOENOLPIRUVATO

Na glicólise, o PEP é convertido a piruvato pela piruvato-quinase. Na gliconeogênese, uma série de etapas é necessária para conseguir o reverso dessa reação (Figura 31.5). O piruvato é carboxilado pela piruvato-carboxilase para formar oxaloacetato. Essa enzima, a qual necessita de biotina, é o catalisador de uma reação anaplerótica (de reforço) para o ciclo do TCA (ver Capítulo 20). Na gliconeogênese, essa reação repõe o oxaloacetato que é utilizado para a síntese de glicose (Figura 31.6).

O CO_2 que é adicionado ao piruvato para formar oxaloacetato é liberado na reação catalisada pela fosfoenolpiruvato-carboxiquinase (PEPCK), a qual produz PEP (Figura 31.7A). Para essa reação, o GTP fornece uma fonte de energia, bem como o grupo fosfato do PEP. A piruvato-carboxilase é encontrada na mitocôndria. Em várias espécies, a PEPCK está localizada no citosol ou na mitocôndria, ou está distribuída entre esses dois compartimentos. Em humanos, a enzima está distribuída quase igualmente em cada compartimento.

O oxaloacetato, produzido a partir de piruvato pela piruvato-carboxilase ou a partir de aminoácidos que formam intermediários do ciclo do TCA, não cruza prontamente a membrana mitocondrial. Ele é descarboxilado para formar PEP pela PEPCK mitocondrial ou é convertido a malato ou aspartato (ver Figuras. 31.7B e 31.7C). A conversão de oxaloacetato a malato necessita de NADH. PEP, malato e aspartato podem ser transportados para o citosol.

Após malato ou aspartato atravessarem a membrana mitocondrial (agindo como carreadores de oxaloacetato) e entrarem no citosol, eles são reconvertidos a oxaloacetato pelo reverso das reações mostradas anteriormente (ver Figuras. 31.7B e 31.7C). A conversão de malato a oxaloacetato produz NADH. Se o oxaloacetato é transportado através da membrana da mitocôndria como malato ou aspartato depende da necessida-

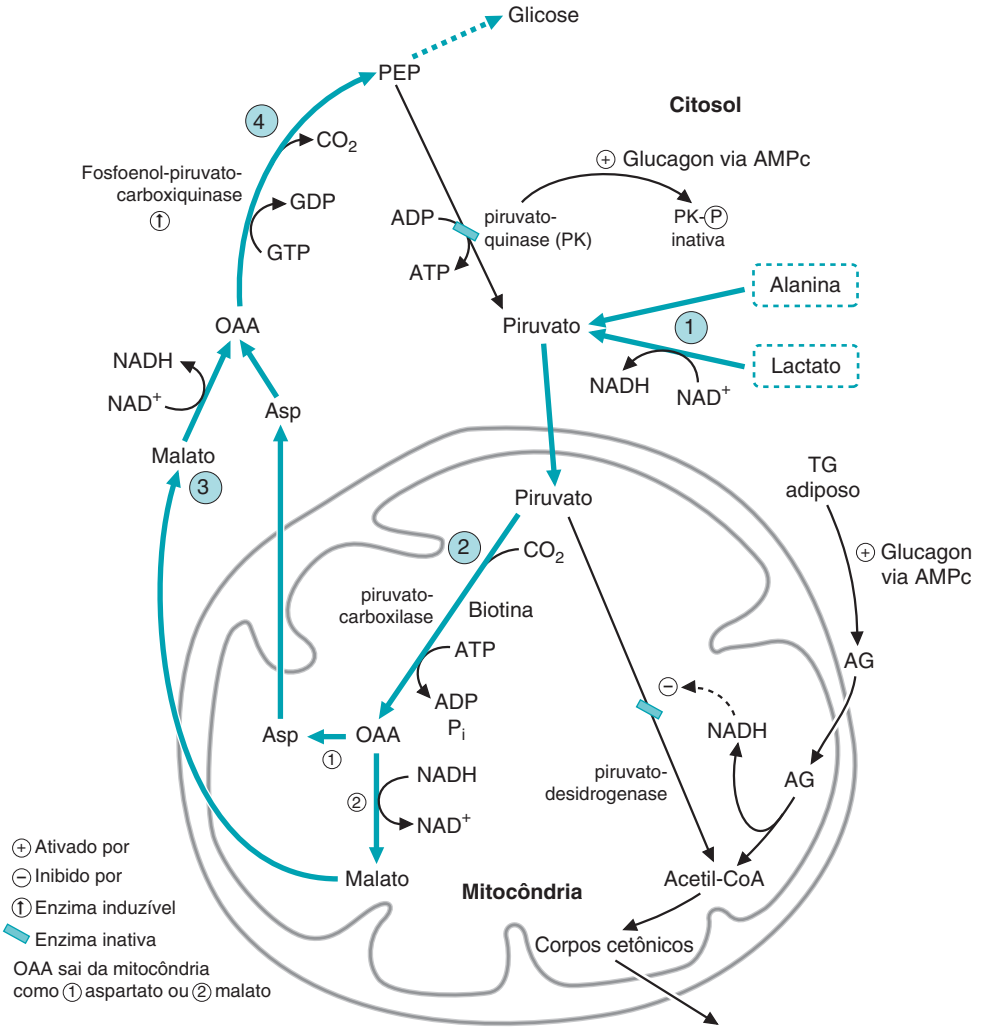


Figura 31.5 Conversão de piruvato a fosfoenolpiruvato (PEP). Siga os números em círculos sombreados no diagrama, iniciando com os precursores alanina e lactato. A primeira etapa é a conversão de alanina e lactato a piruvato. O piruvato, então, entra na mitocôndria e é convertido a OAA (círculo 2) pela piruvato-carboxilase. A piruvato-desidrogenase é inativada tanto pelo NADH como pela acetil-CoA produzida a partir da oxidação de ácido graxo, o que permite a produção de oxaloacetato para a gliconeogênese. O oxaloacetato formado na mitocôndria é convertido a malato ou a aspartato para entrar no citoplasma pelo transportador de malato/aspartato. Uma vez no citoplasma, o malato ou o aspartato é convertido novamente a oxaloacetato (círculo 3), e a fosfoenolpiruvato-carboxiquinase irá convertê-lo a PEP (círculo 4). Os números em círculos brancos são rotas alternativas para a saída de carbono da mitocôndria utilizando o transportador de malato/aspartato. OAA = oxaloacetato; AG = ácido graxo; TG = triacilglicerol.

de de equivalentes de redução no citosol. O NADH é necessário para reduzir 1,3-bisfosfoglicerato a gliceraldeído-3-fosfato durante a gliconeogênese.

O oxaloacetato, produzido a partir de malato ou aspartato no citosol, é convertido a PEP pela PEPCK citosólica (ver Figura 31.7A).

2. CONVERSÃO DE FOSFOENOLPIRUVATO A FRUTOSE-1,6 BISFOSFATO

As etapas remanescentes da gliconeogênese ocorrem no citosol (Figura 31.8). Iniciando com o PEP como substrato, as etapas da glicólise são revertidas para formar gliceraldeído-3-fosfato. Para cada duas moléculas de gliceraldeído-3-fosfato que são formadas, uma é convertida a diidroxiacetona-fosfato (DHAP). Essas duas triose-fosfatos,

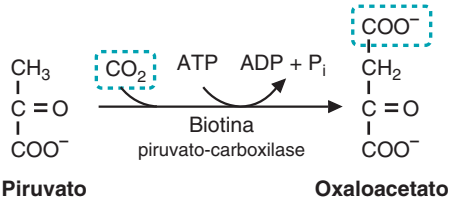


Figura 31.6 Conversão de piruvato a oxaloacetato.

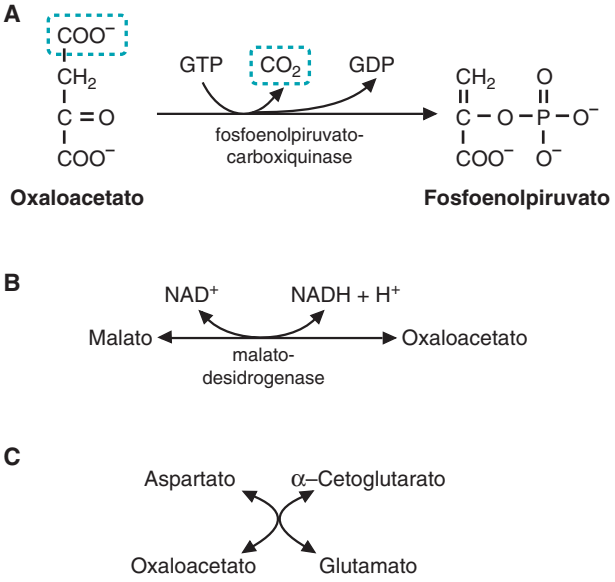


Figura 31.7 A produção de PEP a partir de precursores gliconeogênicos. **A.** Conversão de oxaloacetato a fosfoenolpiruvato, utilizando PEP-carboxiquinase. **B.** Interconversão de oxaloacetato e malato. **C.** Transaminação de aspartato para formar oxaloacetato. Observe que a reação citosólica é o reverso da reação mitocondrial mostrada na Figura 31.5.

DHAP e gliceraldeído-3-fosfato, condensam-se para formar frutose-1,6-bisfosfato por uma reversão da reação da aldolase.

Como o glicerol forma DHAP, ele entra na rota gliconeogênica nesse nível.

3. CONVERSÃO DE FRUTOSE-1,6-BISFOSFATO A FRUTOSE

A enzima frutose-1,6-bisfosfatase libera fosfato inorgânico a partir de frutose-1,6-bisfosfato para formar frutose-6-fosfato. Essa não é uma reversão da reação da PFK-1; o ATP não é produzido quando o fosfato é removido da posição 1 da frutose-1,6-bisfosfato, pois ela é uma ligação de fosfato de baixa energia. O fosfato inorgânico é liberado nessa reação de hidrólise. Na próxima reação da gliconeogênese, a frutose-6-fosfato é convertida a glicose-6-fosfato pela mesma isomerase utilizada na glicólise (fosfoglicoisomerase).

4. CONVERSÃO DE GLICOSE-6-FOSFATO A GLICOSE

A glicose-6-fosfatase hidrolisa P_i da glicose-6-fosfato, e glicose livre é liberada no sangue. Como com a frutose-1,6-bisfosfatase, essa não é uma reação reversa da glicoquinase, pois a ligação na glicose-6-fosfato é uma ligação de baixa energia, e o ATP não é produzido nessa etapa.

A glicose-6-fosfatase está localizada na membrana do retículo endoplasmático. Ela não é utilizada apenas na gliconeogênese, mas também para produzir glicose sangüínea a partir da quebra de glicogênio hepático.

D. Regulação da Gliconeogênese

Embora a gliconeogênese ocorra durante o jejum, ela também é estimulada durante exercício prolongado, por uma dieta rica em proteína e sob condições de estresse. Os fatores que promovem o fluxo geral de carbonos de piruvato a glicose incluem a disponibilidade de substrato e as alterações na atividade ou na quantidade de certas enzimas-chave da glicólise e da gliconeogênese.



Al Martini não se alimentou por três dias, de tal modo que não tinha fonte dietética de glicose, e suas reservas de glicogênio hepático foram essencialmente depletadas. Ele estava dependente unicamente da gliconeogênese para manter seus níveis de glicose sangüínea. Uma das conseqüências da ingestão de etanol e da elevação subseqüente nos níveis de NADH é que as principais fontes de carbono para a gliconeogênese não podem ser prontamente convertidas a glicose. Após o uso abusivo de álcool, o Sr. Martini ficou hipoglicêmico. Sua glicose sangüínea era de 28 mg/dL.

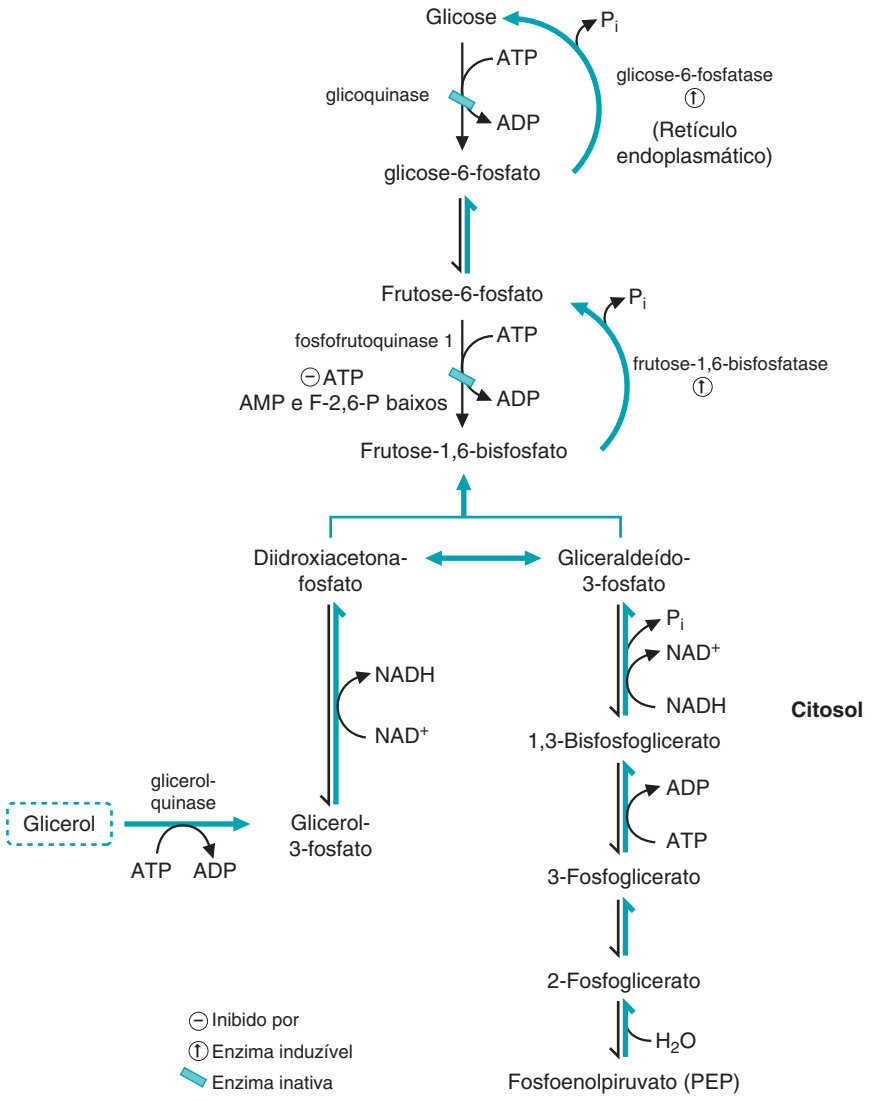


Figura 31.8 Conversão de fosfoenolpiruvato e glicerol a glicose.

1. DISPONIBILIDADE DE SUBSTRATO

A gliconeogênese é estimulada pelo fluxo de seus substratos principais dos tecidos periféricos para o fígado. O glicerol é liberado do tecido adiposo quando os níveis de insulina estão baixos e os níveis de glucagon ou dos hormônios de "estresse", adrenalina e cortisol (um glicocorticóide), estão elevados no sangue (ver Capítulo 26). O lactato é produzido pelo músculo durante exercício e por células sangüíneas vermelhas. Os aminoácidos são liberados do músculo quando a insulina está baixa ou quando o cortisol está elevado. Os aminoácidos também estão disponíveis para a gliconeogênese quando a ingesta de proteínas na dieta está alta e a captação de carboidratos está baixa.

2. ATIVIDADE OU QUANTIDADE DE ENZIMAS-CHAVE

Três seqüências na rota da gliconeogênese são reguladas:

1. piruvato → fosfoenolpiruvato
2. frutose-1,6-bisfosfato → frutose-6-fosfato
3. glicose-6-fosfato → glicose

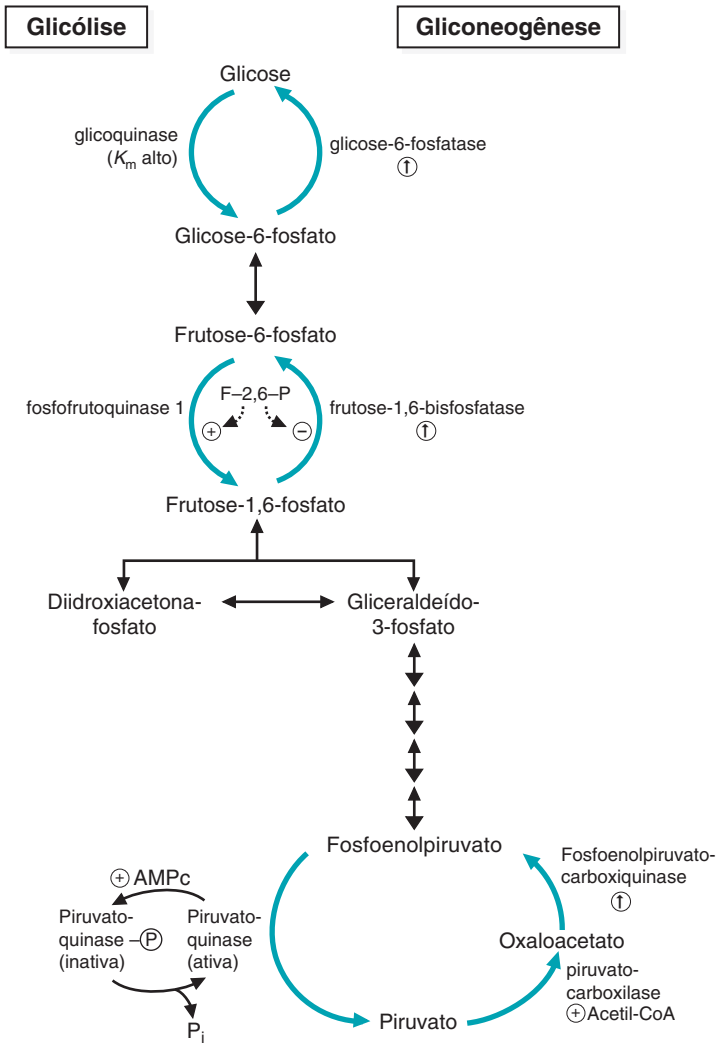


Figura 31.9 Enzimas envolvidas na regulação dos ciclos de substratos da glicólise e da gliconeogênese. As setas em negrito indicam os três ciclos de substratos. F-2,6-P = frutose-2,6-bisfosfato; + = ativado por; – = inibido por; ↑ em um círculo = enzima induzível.



A PEPCK é um exemplo de uma enzima induzível. O gene para a forma citosólica da enzima contém seqüências regulatórias em sua região 5′. O AMPc, o qual é produzido como resultado da ligação de hormônios como o glucagon ou a adrenalina a receptores de membrana na superfície celular, causa ativação de uma dessas seqüências. Os glicocorticóides afetam uma seqüência regulatória diferente. AMPc ou glicocorticóides independentemente causam transcrição aumentada do gene da PEPCK. O mRNA produzido durante a transcrição passa para o citosol, combina-se com os ribossomos e é traduzido, produzindo quantidades aumentadas da enzima PEPCK.

Essas etapas correspondem àquelas na glicólise que são catalisadas por enzimas regulatórias. As enzimas envolvidas nessas etapas da gliconeogênese diferem daquelas que catalisam as reações reversas na glicólise. O fluxo total de carbonos, de glicose para piruvato (glicólise) ou de piruvato para glicose (gliconeogênese), depende da atividade relativa ou da quantidade dessas enzimas glicolíticas ou gliconeogênicas (Figura 31.9 e Tabela 31.1).

3. CONVERSÃO DE PIRUVATO A FOSFOENOLPIRUVATO

O piruvato, um substrato-chave, é derivado de lactose e aminoácidos, particularmente alanina. O piruvato não é convertido a acetil-CoA sob condições favorecendo gliconeogênese, pois a piruvato-desidrogenase é relativamente inativa. Nessa condição, o piruvato é convertido a oxaloacetato pela piruvato-carboxilase. Subseqüentemente, o oxaloacetato é convertido a PEP pela PEPCK. Devido ao estado de atividade das enzimas discutidas nas seções subseqüentes, o PEP reverte as etapas da glicólise, finalmente formando glicose.

Tabela 31.1 Regulação de Enzimas da Glicólise e da Gliconeogênese no Fígado

A. Enzimas Glicolíticas	Mecanismo
Piruvato-quinase	Ativada por F-1,6-P
	Inibida por ATP, alanina
	Inibida por fosforilação (glucagon e adrenalina levam a níveis elevados de AMPc, os quais ativam a proteína-quinase A)
Fosfofrutoquinase-1	Ativada por F-2,6-P, AMP
	Inibida por ATP, citrato
Glicoquinase	K_m alto para glicose
	Induzida por insulina
B. Enzimas Gliconeogênicas	**Mecanismo**
Piruvato-carboxilase	Ativada por acetil-CoA
Fosfoenolpiruvato-carboxilase	Induzida por glucagon, adrenalina, glicocorticóides
	Reprimida por insulina
Frutose-1,6-bisfosfatase	Inibida por F-2,6-P, AMP
	Induzida durante jejum
Glicose-6-fosfatase	Induzida durante jejum

A **piruvato-desidrogenase é inativa**. Sob condições de jejum, os níveis de insulina estão baixos, e os níveis de glucagon estão elevados. Conseqüentemente, ácidos graxos e glicerol são liberados a partir das reservas de triacilglicerol do tecido adiposo. Os ácidos graxos passam para o fígado, onde sofrem β-oxidação, produzindo acetil-CoA, NADH e ATP. Como conseqüência, a concentração de ADP diminui. Essas alterações resutam na fosforilação de piruvato-desidrogenase para a forma inativa. Portanto, o piruvato não é convertido a acetil-CoA.

A **piruvato-carboxilase é ativa**. A acetil-CoA, a qual é produzida por oxidação de ácidos graxos, ativa a piruvato-carboxilase. Portanto, o piruvato derivado de lactato ou alanina é convertido a oxaloacetato.

A **fosfoenolpiruvato-carboxiquinase é induzida**. O oxaloacetato produz PEP em uma reação catalisada por PEPCK. A PEPCK citosólica é uma enzima induzível, o que significa que a quantidade da enzima na célula aumenta devido à transcrição aumentada de seu gene e à tradução aumentada de seu mRNA. O principal indutor é o monofosfato de adenosina cíclico (AMPc), o qual está aumentado por hormônios que ativam a adenil-ciclase. A adenil-ciclase produz AMPc a partir de ATP. O glucagon é o hormônio que causa aumento do AMPc durante o jejum, enquanto a adrenalina age durante exercício ou estresse. O AMPc ativa a proteína-quinase, a qual fosforila um grupo de fatores de transcrição específico (CREB) que estimulam a transcrição do gene da PEPCK (ver Capítulo 16 e Figura 16.18). A síntese aumentada de mRNA para a PEPCK resulta em síntese aumentada da enzima. O cortisol, o principal glicocorticóide humano, também induz a PEPCK.

A **piruvato-quinase é inativa**. Quando o glucagon está elevado, a piruvato-quinase é fosforilada e inativada por um mecanismo envolvendo AMPc e proteína-quinase A. Portanto, o PEP não é reconvertido a piruvato. Nesse caso, ele continua ao longo da rota da gliconeogênese. Se o PEP fosse reconvertido a piruvato, esses substratos simplesmente entrariam em círculo, causando perda líquida de energia sem geração de produtos úteis. A inativação da piruvato-quinase impede esse ciclo fútil e promove a síntese de glicose.



O mecanismo de ação de hormônios esteróides sobre a homeostase da glicose difere daquele do glucagon ou da adrenalina (ver Capítulos 16 e 26). Os glicorticóides são hormônios esteróides que estimulam a gliconeogênese, em parte porque eles induzem a síntese de PEPCK. **Emma Wheezer** tem níveis elevados de glicose sangüínea, pois tem sido tratada com grandes doses farmacológicas de dexametasona, um potente glicocorticóide sintético.

4. CONVERSÃO DE FRUTOSE-1,6-BISFOSFATO A FRUTOSE

Os carbonos do PEP seguem as etapas reversas da glicólise, a frutose-1,6-bisfosfato. A frutose-1,6-bisfosfatase age sobre esse bisfosfato para liberar fosfato inorgânico e produzir frutose-6-fosfato. Um ciclo fútil de substrato é impedido por essa etapa, pois sob condições que favorecem a gliconeogênese, as concentrações de compostos que

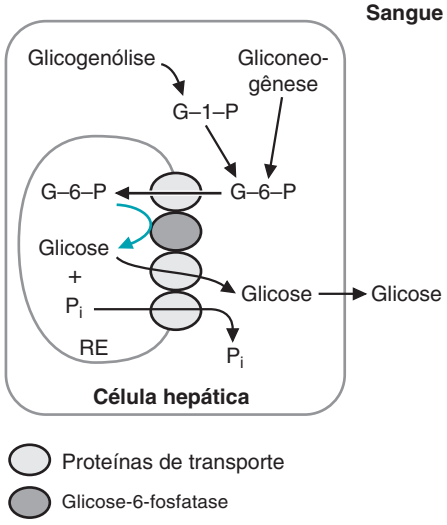


Figura 31.10 Localização e função da glicose-6-fosfatase. A glicose-6-fosfato é transportada em um transportador (oval sombreado) para o retículo endoplasmático (RE), onde é hidrolisada pela glicose-6-fosfatase (oval preto) a glicose e P_i. Esses produtos passam novamente para o citosol através de transportadores (oval sobreado).



A glicose-6-fosfatase é utilizada tanto na glicogenólise quanto na gliconeogênese.

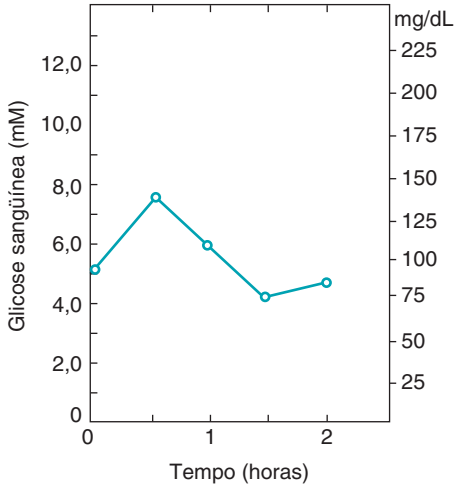


Figura 31.11 Concentrações de glicose sangüínea em vários momentos após uma refeição.

ativam a enzima glicolítica PFK-1 estão baixas. Esses mesmos compostos, frutose-2,6-bisfosfato (cujos níveis são regulados por insulina e glucagon) e AMP, são inibidores alostéricos de frutose-1,6-bisfosfatase. Quando as concentrações desses efetores alostéricos estão baixas, a PFK-1 é menos ativa, a frutose-1,6-bisfosfatase é mais ativa, e o fluxo total é em direção à frutose-6-fosfato e, assim, em direção à glicose. A síntese de 1,6-bisfosfatase também é induzida durante o jejum.

5. CONVERSÃO DE GLICOSE-6-FOSFATO A GLICOSE

A glicose-6-fosfatase catalisa a conversão de glicose-6-fosfato a glicose, a qual é liberada da célula hepática (Figura 31.10). A enzima glicolítica, a qual catalisa a reação reversa, está relativamente inativa durante a gliconeogênese. A glicoquinase, a qual tem um $S_{0,5}$ (K_m) alto para glicose (ver Figura 9.3), não está muito ativa durante o jejum, pois o nível de glicose sangüínea está mais baixo (aproximadamente 5 mM) do que o $S_{0,5}$ da enzima.

A glicoquinase também é uma enzima induzível. A concentração da enzima aumenta no estado alimentado, quando os níveis de glicose sangüínea e de insulina estão elevados, e diminui no estado de jejum, quando a glicose e a insulina estão baixas.

E. Energia É Necessária para a Síntese de Glicose

Durante as reações gliconeogênicas, 6 moles de ligações de fosfato ricas em energia são quebrados. Dois moles de piruvato são necessários para a síntese de 1 mol de glicose. Quando 2 moles de piruvato são carboxilados pela piruvato-carboxilase, 2 moles de ATP são hidrolisados. A PEPCK necessita de 2 moles de GTP (o equivalente a 2 moles de ATP) para converter 2 moles de oxaloacetato a 2 moles de PEP. Dois moles adicionais de ATP são utilizados quando 2 moles de 3-fosfoglicerato são fosforilados, formando 2 moles de 1,3-bisfosfoglicerato. Energia na forma de equivalentes de redução (NADH) também é necessária para a conversão de 1,3-bisfosfoglicerato a gliceraldeído-3-fosfato. Sob condições de jejum, a energia necessária para a gliconeogênese é obtida a partir da β-oxidação de ácidos graxos.

III. ALTERAÇÕES NOS NÍVEIS DE GLICOSE SANGÜÍNEA APÓS UMA REFEIÇÃO

As transições metabólicas que ocorrem quando uma pessoa faz uma refeição e que progridem pelos vários estágios de jejum foram descritas em detalhes nos capítulos prévios. Esse capítulo revisa os conceitos apresentados nos capítulos anteriores. Devido ao fato de a compreensão minuciosa desses conceitos ser importante para a medicina, uma revisão não apenas está indicada, mas é essencial.

Após uma refeição rica em carboidratos, a glicose sangüínea se eleva de um nível de jejum de aproximadamente 80 a 100 mg/dL (~5 mM) para um nível de cerca de 120 a 140 mg/dL (8 mM) dentro de um período de 30 minutos a 1 hora (Figura 31.11). A concentração de glicose no sangue, então, começa a diminuir, retornando à faixa do jejum aproximadamente duas horas após a refeição (ver também Capítulo 26).

Os níveis de glicose sangüínea aumentam quando a glicose da dieta é digerida e absorvida. Os valores não sobem mais do que aproximadamente 140 mg/dL em uma pessoa saudável normal, pois os tecidos captam a glicose do sangue, armazenando-a para uso subseqüente e oxidando-a para produzir energia. Após a refeição ser digerida e absorvida, os níveis de glicose sangüínea declinam, pois as células continuam a metabolizar a glicose.

Se os níveis de glicose sangüínea continuam a subir após uma refeição, a alta concentração de glicose causará a liberação de água dos tecidos como resultado do efeito osmótico da glicose. Os tecidos irão se tornar desidratados, e sua função será afetada. Um coma hiperosmolar pode ocorrer por desidratação do cérebro.

Inversamente, se os níveis de glicose sangüínea continuam a diminuir após uma refeição, os tecidos que dependem de glicose sofrem de uma perda de energia. Se os níveis de glicose sangüínea diminuem abruptamente, o cérebro não será capaz de produ-

zir uma quantidade adequada de ATP. Isso resultará em tontura, seguida de sonolência e, finalmente, coma. As células sangüíneas vermelhas não serão capazes de produzir ATP o suficiente para manter a integridade de suas membranas. A hemólise dessas células diminuirá o transporte de oxigênio para os tecidos do corpo. Eventualmente, todos esses tecidos que dependem de oxigênio para a produção de energia falharão em realizar suas funções normais. Se o problema for grave o suficiente, morte poderá ocorrer.

Conseqüências devastadoras de excesso ou insuficiência de glicose normalmente são evitadas, pois o corpo é capaz de regular seus níveis de glicose sangüínea. À medida que a concentração de glicose sangüínea se aproxima da faixa normal de 80 a 100 mg/dL aproximadamente duas horas após uma refeição, o processo de glicogenólise é ativado no fígado. O glicogênio hepático é a fonte primária de glicose sangüínea durante as primeiras horas de jejum. Subseqüentemente, a gliconeogênese começa a ter um papel como fonte adicional de glicose sangüínea. O carbono para a gliconeogênese, um processo que ocorre no fígado, é fornecido por outros tecidos. O músculo em exercício e as células sangüíneas vermelhas fornecem lactato por meio da glicólise; o músculo também fornece aminoácidos pela degradação de proteínas, e o glicerol é liberado do tecido adiposo à medida que as reservas de triacilgliceróis são mobilizadas.

Mesmo durante um jejum prolongado, os níveis de glicose sangüínea não diminuem muito. Após 5 a 6 semanas de jejum, os níveis de glicose sangüínea diminuem para apenas 65 mg/dL (Tabela 31.2).

Tabela 31.2 Níveis de Glicose Sangüínea em Vários Estágios de Jejum

Glicose (mg/dL)	
Glicose, 700 g/dia IV	100
Jejum, 12 horas	80
Jejum, 3 dias	70
Jejum, 5 a 6 semanas	65

Fonte da informação: Ruderman NB, Aoki TT, Cahill GF Jr. Gluconeogenesis and its disorders in man. In: Hanson RW, Mehlman MA, eds. Gluconeogenesis: Its Regulation in Mammalian Species. New York, John Wiley. 1976:517.

A. Níveis de Glicose Sangüínea no Estado Alimentado

O principal fator envolvido na regulação dos níveis de glicose sangüínea é a própria concentração de glicose sangüínea e de hormônios, particularmente insulina e glucagon.

À medida que os níveis de glicose sangüínea se elevam após uma refeição, a concentração aumentada de glicose estimula as células β do pâncreas para liberar insulina (Figura 31.12). Certos aminoácidos, particularmente arginina e leucina, também estimulam a liberação de insulina pelo pâncreas.

Os níveis sangüíneos de glucagon, o qual é secretado pelas células α do pâncreas, podem aumentar ou diminuir, dependendo do conteúdo da refeição. Os níveis de glucagon diminuem em resposta a uma refeição rica em carboidratos, mas podem aumentar em resposta a uma refeição rica em proteínas. Após uma refeição típica mista contendo carboidrato, proteína e gordura, os níveis de glucagon permanecem relativamente constantes enquanto os níveis de insulina aumentam (Figura. 31.13).



Quando **Di Abietes** inadvertidamente injetou uma quantidade excessiva de insulina, ela causou uma redução aguda em seus níveis de glicose sangüínea 4 a 5 horas mais tarde, quando estava dormindo. Se ela estivesse acordada, teria primeiro sentido os sintomas causados por uma hiperatividade do sistema nervoso simpático induzida por hipoglicemia (p. ex., sudorese, tremores e palpitações). Eventualmente, à medida que sua hipoglicemia se tornou mais profunda, ela sentiu sintomas de "neuroglicopenia" (suprimento inadequado de glicose para o cérebro), tal como confusão, distúrbio da fala, instabilidade emocional, possível atividade de convulsão e, finalmente, coma. Enquanto dormia, ela atingiu esse estágio neuroglicêmico de hipoglicemia e não pôde ser acordada às 6:00 horas.

Ann O'Rexia, cuja ingesta de glicose e precursores de glicose tinha sido gravemente restringida, não desenvolveu qualquer dessas manifestações. Sua falta de sintomas hipoglicêmicos pode ser explicada por uma redução muito gradual de seus níveis de glicose sangüínea como uma conseqüência de sua quase inanição (ou desnutrição) e sua habilidade em manter os níveis de glicose sangüínea dentro de uma faixa de jejum aceitável por meio de gliconeogênese hepática. Além disso, a lipólise de triacilgliceróis do tecido adiposo produz ácidos graxos, os quais são utilizados como substratos energéticos e convertidos a corpos cetônicos pelo fígado. A oxidação de ácidos graxos e corpos cetônicos pelo cérebro e músculo reduz a necessidade de glicose sangüínea.

No caso de **Di Abietes**, a dose excessiva de insulina inibiu a lipólise e a síntese de corpos cetônicos, de tal modo que esses substratos energéticos alternativos não estavam disponíveis para poupar glicose sangüínea. A rapidez com a qual a hipoglicemia foi induzida não podia ser compensada rápido o suficiente pela gliconeogênese hepática, a qual foi inibida pela insulina, e se desenvolveu hipoglicemia.

Um hemoglicoteste (*stat finger stick*) revelou que os níveis de glicose sangüínea capilar de Di estavam menores do que 20 mg/dL. Uma infusão intravenosa de uma solução de glicose 50% foi iniciada, e seu nível de glicose sangüínea foi determinado com freqüência. Quando Di recuperou a consciência, a solução intravenosa finalmente foi trocada para glicose 10%. Após seis horas, seus níveis de glicose sangüínea permaneceram na faixa normal superior, e ela foi capaz de tolerar alimentação oral. Ela foi transferida para a unidade clínica para monitoração durante a noite. Na manhã seguinte, seu regime de tratamento prévio para diabetes foi restabelecido. As razões pelas quais ela desenvolveu coma hipoglicêmico foram explicadas para Di, e ela recebeu alta aos cuidados de seu médico de família.

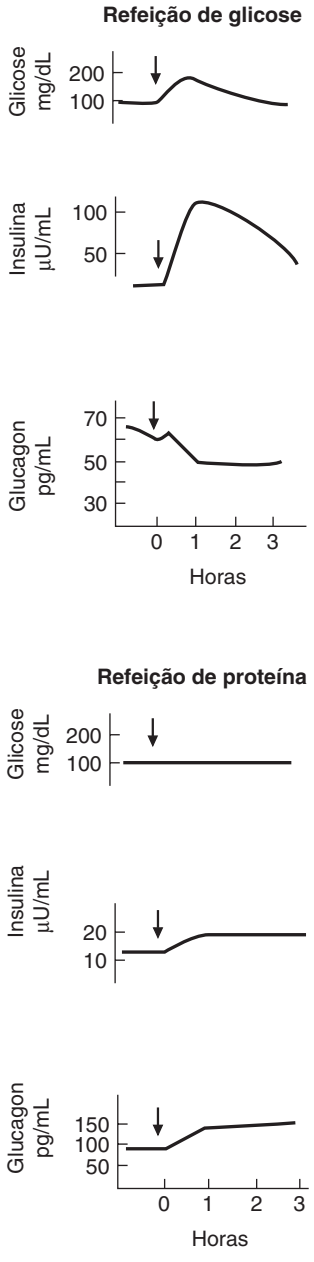


Figura 31.12 Níveis de glicose sangüínea, insulina e glucagon após uma refeição rica em carboidratos e uma rica em proteínas.

1. DESTINO DA GLICOSE DA DIETA NO FÍGADO

Após uma refeição, o fígado oxida glicose para preencher suas necessidades imediatas de energia. Qualquer excesso de glicose é convertido para armazenar substratos energéticos. O glicogênio é sintetizado e armazenado no fígado, e a glicose é convertida em ácidos graxos e na porção glicerol que reage com os ácidos graxos para produzir triacilgliceróis. Esses triacilgliceróis são agrupados em lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL, do inglês *very-low-density lipoproteins*) e transportados para o tecido adiposo, onde os ácidos graxos são armazenados nos triacilgliceróis adiposos.

Os mecanismos regulatórios controlam a conversão de glicose em substratos energéticos armazenados. Quando a concentração de glicose se eleva na veia porta, a concentração de glicose no fígado pode aumentar do nível de jejum de 80 a 100 mg/dL (~5 mM) para uma concentração de 180 a 360 mg/dL (10 a 20 mM). Conseqüentemente, a velocidade da reação da glicoquinase aumenta devido ao fato de essa enzima ter um $S_{0,5}$ (K_m) para a glicose (Figura 31.14). A glicoquinase também é induzida por uma dieta rica em carboidratos; a quantidade da enzima aumenta em resposta a níveis elevados de insulina.

A insulina promove o armazenamento de glicose como glicogênio por se contrapor aos efeitos da fosforilação estimulada pelo glucagon. A resposta à insulina ativa as fosfatases que desfosforilam a glicogênio-sintase (o que leva à ativação da glicogênio-sintase) e a glicogênio-fosforilase (o que leva à inibição da enzima) (Figura 31.15A). A insulina também promove a síntese dos triacilgliceróis que são liberados do fígado para o sangue como VLDL. Os mecanismos regulatórios para esse processo são descritos no Capítulo 33.

2. DESTINO DA GLICOSE DA DIETA NOS TECIDOS PERIFÉRICOS

Quase toda célula no corpo oxida glicose para energia. Certos tecidos cruciais, particularmente cérebro, outros tecidos nervosos e células sangüíneas vermelhas, dependem em especial de glicose para seu suprimento de energia. O cérebro necessita de aproximadamente 150 g de glicose por dia. Além disso, cerca de 40 g/dia de glicose são necessários por outros tecidos dependentes de glicose. Adicionalmente, todos os tecidos

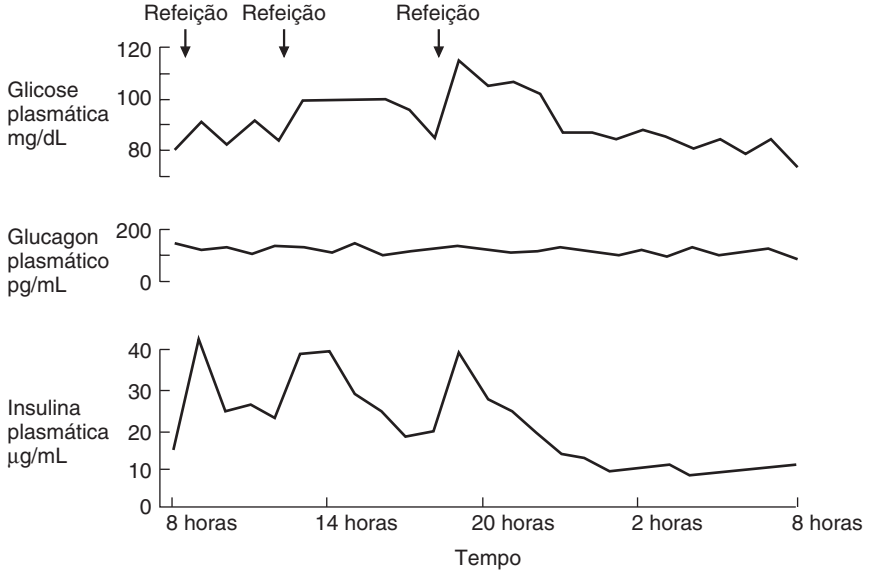


Figura 31.13 Níveis de glicose sangüínea, insulina e glucagon em uma pessoa normal comendo refeições mistas. Reproduzida com permissão de Tasaka Y, Sekine M, Wakatsuki M, et at. Horm Metab Res 1975;7:206. Copyright © Thieme Medical Publishers, Inc.

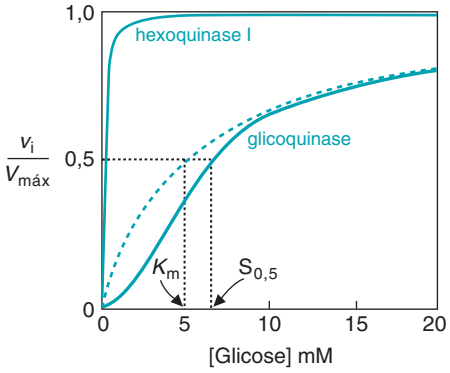


Figura 31.14 Velocidade da reação da glicoquinase.

necessitam de glicose para a rota da pentose-fosfato, e muitos tecidos utilizam a glicose para a síntese de glicoproteínas e de outros compostos que contêm carboidratos.

A insulina estimula o transporte de glicose para as células adiposas e musculares pela promoção da liberação de transportadores de glicose para a membrana celular (ver Figura 31.15C). Outros tecidos, como o fígado, o cérebro e as células sangüíneas vermelhas, têm um tipo diferente de transportador de glicose que não é afetado de forma tão significativa por insulina.

No músculo, o glicogênio é sintetizado após uma refeição por um mecanismo similar àquele do fígado (ver Figura 31.15B). Diferenças metabólicas existem entre esses tecidos (ver Capítulo 28), mas, em essência, a insulina estimula a síntese de glicogênio no músculo em repouso assim como o fígado. Uma diferença-chave entre músculo e fígado é que a insulina estimula bastante o transporte de glicose nas células musculares, mas apenas levemente seu transporte nas células hepáticas.

3. RETORNO DA GLICOSE SANGÜÍNEA PARA OS NÍVEIS DE JEJUM

Após uma refeição ter sido digerida e absorvida, os níveis de glicose sangüínea atingem um nível e, então, começam a declinar. A captação da glicose da dieta pelas células, particularmente aquelas no fígado, no músculo e no tecido adiposo, diminui os níveis de glicose sangüínea. Duas horas após uma refeição, os níveis de glicose retornam para o nível de jejum de menos de 140 mg/dL.

B. Níveis de Glicose Sangüínea no Estado em Jejum

1. ALTERAÇÕES NOS NÍVEIS DE INSULINA E GLUCAGON

Durante o jejum, quando os níveis de glicose sangüínea diminuem, os níveis de insulina diminuem, e os níveis de glucagon aumentam. Essas alterações hormonais levam o fígado a degradar glicogênio pelo processo de glicogenólise e a produzir glicose pelo processo de gliconeogênese, de tal modo que os níveis de glicose sangüínea são mantidos.

2. ESTIMULAÇÃO DA GLICOGENÓLISE

Dentro de poucas horas após uma refeição rica em carboidrato, os níveis de glucagon começam a se elevar. O glucagon se liga a receptores da superfície celular e ativa adenil-ciclase, causando aumento dos níveis de AMPc nas células hepáticas (Figura 31.16). O AMPc ativa a proteína-quinase A, a qual fosforila e inativa a glicogênio-sintase. Portanto, a síntese de glicogênio diminui.

Ao mesmo tempo, a proteína-quinase A estimula a degradação de glicogênio por um mecanismo de duas etapas. A proteína-quinase A fosforila e ativa a fosforilase-quinase. Essa enzima, por sua vez, fosforila e ativa a glicogênio-fosforilase.

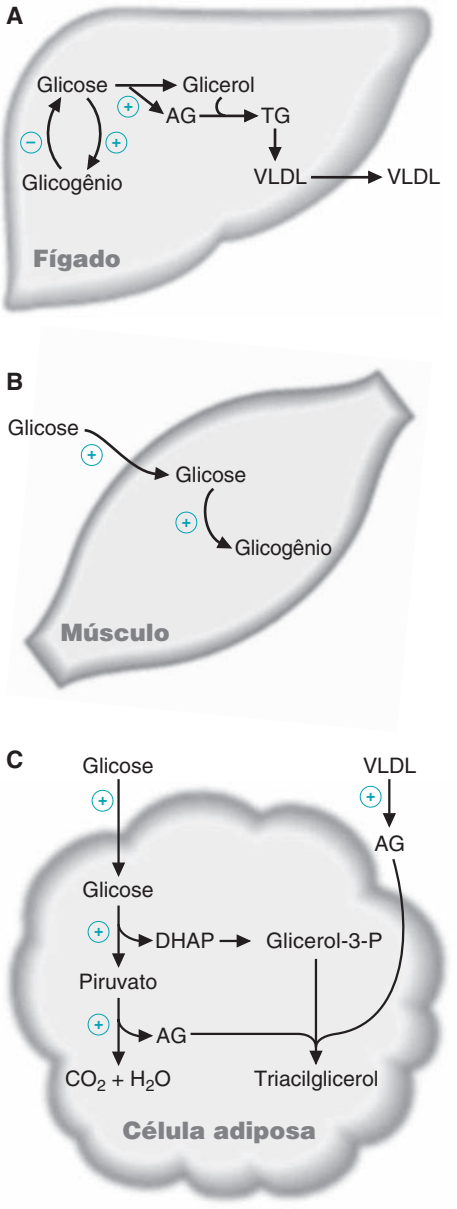


Figura 31.15 Metabolismo da glicose em vários tecidos. **A.** Efeito da insulina sobre a síntese e a degradação de glicogênio e sobre a síntese de VLDL no fígado. **B.** Metabolismo da glicose no músculo em repouso e no estado alimentado. O transporte de glicose para as células e a síntese de glicogênio são estimulados por insulina. **C.** Metabolismo de glicose no tecido adiposo no estado alimentado. AG = ácidos graxos; DHAP = diidroxiacetona-fosfato; TG = triacilgliceróis; + = estimulado por insulina; – = inibido por insulina.

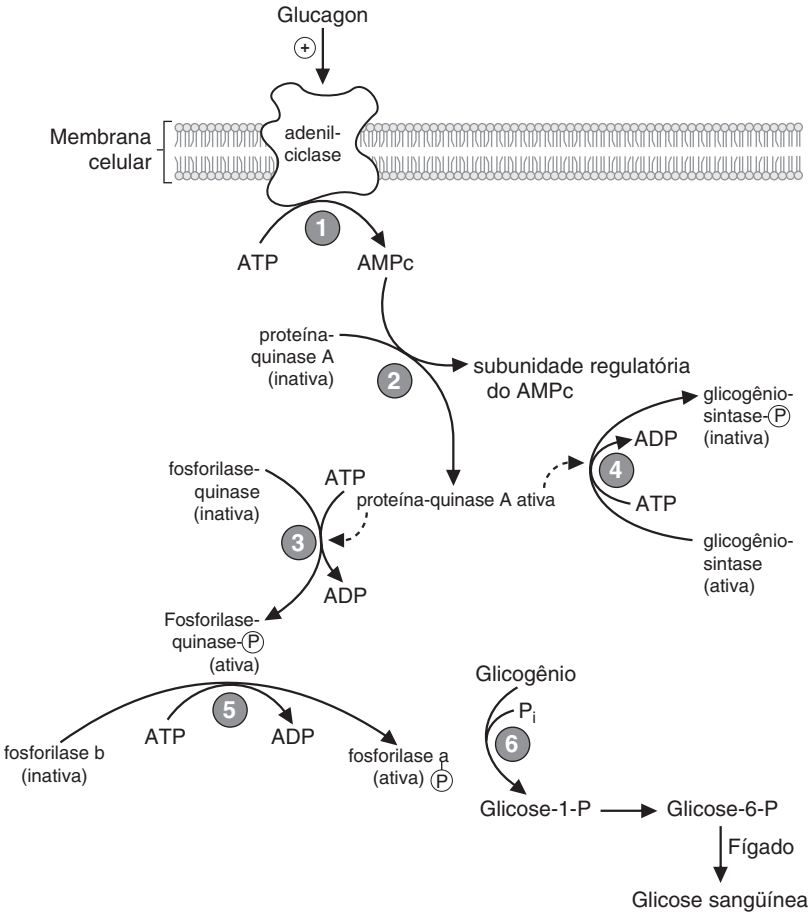


Figura 31.16 Regulação da glicogenólise no fígado pelo glucagon. 1. O glucagon se liga ao seu receptor e causa a ativação da adenil-ciclase, a qual leva a um aumento nos níveis de AMPc. 2. O AMPc se liga a subunidades regulatórias da proteína-quinase A, ativando, assim, a subunidade catalítica. 3. A proteína-quinase A ativa fosforila e ativa a fosforilase-quinase, enquanto simultaneamente inativa a glicogênio-sintase (4). 5. A fosforilase-quinase ativa converte a glicogênio-fosforilase b em glicogênio-fosforilase a. 6. A fosforilase a degrada glicogênio, produzindo glicose-1-fosfato, a qual é convertida em glicose-6-fosfato, e, então, glicose para ser exportada para o sangue.



A patofisiologia que leva a uma elevação da glicose sangüínea após uma refeição difere entre os pacientes com diabetes melito tipo I e aqueles com diabetes melito tipo 2. **Di Abietes**, que tem a doença do tipo 1, não pode secretar insulina de forma adequada em resposta a uma refeição devido a um defeito nas células β do pâncreas.

Ann Sulin, contudo, tem a doença do tipo 2. Nessa forma do distúrbio, a causa da intolerância à glicose é mais complexa, envolvendo pelo menos um atraso na liberação de quantidades relativamente apropriadas de insulina após uma refeição combinado com um grau de resistência às ações da insulina no músculo esquelético e nos adipócitos. A gliconeogênese hepática excessiva ocorre mesmo se os níveis de glicose sangüínea estiverem elevados.

A glicogênio-fosforilase catalisa a fosforólise do glicogênio, produzindo glicose-1-fosfato, a qual é convertida a glicose-6-fosfato. A desfosforilação de glicose-6-fosfato por glicose-6-fosfatase produz glicose livre, a qual, então, entra no sangue.

3. ESTÍMULO DA GLICONEOGÊNESE

Quatro horas após uma refeição, o fígado está fornecendo glicose para o sangue não apenas pelo processo de glicogenólise, mas também pelo processo de gliconeogênese. As alterações hormonais levam os tecidos periféricos a liberarem precursores que fornecem carbono para a gliconeogênese, especificamente lactato, aminoácidos e glicerol.

Os mecanismos regulatórios promovem a conversão de precursores gliconeogênicos em glicose (Figura 31.17). Esses mecanismos impedem a ocorrência de potenciais ciclos fúteis, os quais continuamente converteriam substratos a produtos enquanto consumiriam energia sem produzir resultado útil.

Esses mecanismos regulatórios inativam as enzimas glicolíticas piruvato-quinase, fosfofrutoquinase-1 (PFK- 1) e glicoquinase durante o jejum e promovem o fluxo de carbono para a glicose pela gliconeogênese. Esses mecanismos operam em três etapas, nas quais a glicólise e a gliconeogênese diferem:

1. O piruvato (derivado de lactato e alanina) é convertido pela rota gliconeogênica a fosfoenolpiruvato (PEP). O PEP não é reconvertido a piruvato (um ciclo fútil potencial), pois a fosforilação estimulada pelo glucagon inativa a piruvato-quinase. Portanto, o PEP reverte as etapas da glicólise e forma frutose-1,6-bisfosfato.
2. A frutose-1,6-bisfosfato é convertida a frutose-6-fosfato por uma bisfosfatase. Uma vez que a enzima glicolítica PFK-1 é relativamente inativa, principalmente como um resultado de níveis baixos de frutose-2,6-bisfosfato, a frutose-6-fosfato não é novamente convertida a frutose-1,6-bisfosfato, e um segundo ciclo fútil é evitado. Os níveis baixos de frutose-2,6-fosfato são atribuíveis em parte à fosforilação da fosfofrutoquinase-2 pela proteína-quinase A, a qual foi ativada em resposta ao glucagon. A frutose-6-fosfato é convertida a glicose-6-fosfato.
3. A glicose-6-fosfato é desfosforilada pela glicose-6-fosfatase, formando glicose livre. Devido ao fato de a glicoquinase ter um $S_{0,5}$ (K_m) para a glicose e as concentrações de glicose serem relativamente baixas nas células hepáticas durante o jejum, a glicose é liberada para o sangue. Portanto, o terceiro ciclo fútil não ocorre.

As enzimas que participam da gliconeogênese, mas não da glicólise, são ativas sob condições de jejum. A piruvato-carboxilase é ativada por acetil-CoA, derivada da oxidação de ácidos graxos. A fosfoenolpiruvato-carboxiquinase, a frutose-1,6-bisfosfatase e a glicose-6-fosfatase são induzidas, isto é, a quantidade das enzimas aumenta. A frutose-1,6-bisfosfatase também é ativa devido ao fato de os níveis de frutose-2,6-bisfosfato, um inibidor da enzima, serem baixos.

4. ESTIMULAÇÃO DA LIPÓLISE

As alterações hormonais que ocorrem durante o jejum estimulam a quebra de triacilgliceróis do tecido adiposo (ver Capítulos 3, 33 e 43). Conseqüentemente, ácidos graxos e glicerol são liberados para o sangue (Figura 31.18). O glicerol serve como fonte de carbono para a gliconeogênese. Os ácidos graxos se tornam a principal fonte de substrato energético para o corpo e são oxidados a CO_2 e H_2O por vários tecidos, os quais permitem a esses tecidos diminuir sua utilização de glicose. Os ácidos graxos também são oxidados a acetil-CoA no fígado para fornecer energia para a gliconeogênese. Em um estado de jejum prolongado, a acetil-CoA é convertida a corpos cetônicos, os quais entram no sangue e servem como fonte adicional de substrato energético para o músculo e o cérebro.

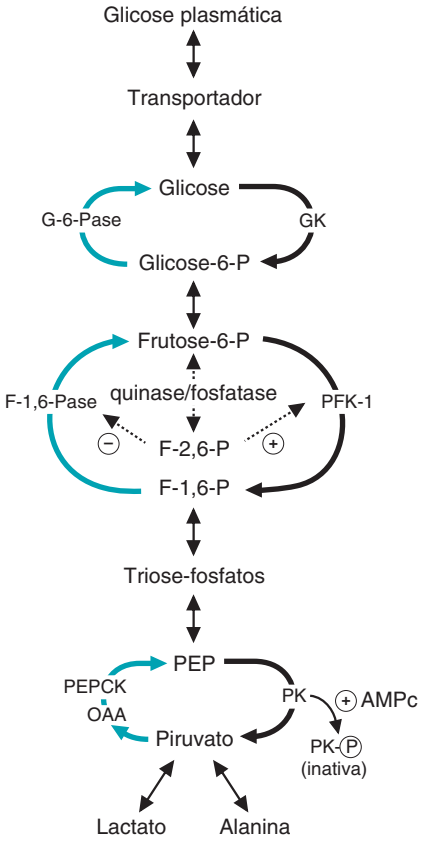


Figura 31.17 Regulação da gliconeogênese no fígado. GK = glicoquinase; G-6-Pase = glicose-6-fosfatase; PK = piruvato-quinase; OAA = oxaloacetato; PEPCK = fosfoenolpiruvato-carboxiquinase; F-1,6-Pase = frutose-1,6-bisfosfatase; F-2,6-P = frutose-2,6-bisfosfato; PFK- 1 = fosfofrutoquinase-1.

C. Níveis de Glicose Sangüínea Durante Jejum Prolongado (Desnutrição ou Inanição)

Durante jejum prolongado, diversas alterações na utilização de substratos energéticos ocorrem. Essas alterações levam os tecidos a utilizar menos glicose do que utilizam durante períodos breves de jejum e a utilizar predominantemente substratos energéticos derivados dos triacilgliceróis adiposos (ou seja, ácidos graxos e seus derivados, os corpos cetônicos). Portanto, os níveis de glicose sangüínea não diminuem drasticamente. De fato, após 5 a 6 semanas de jejum, os níveis de glicose sangüínea ainda estão na faixa de 65 mg/dL (Figura 31.19, ver Tabela 31.2).

A principal alteração que ocorre no jejum prolongado é uma elevação dramática nos níveis de corpos cetônicos após 3 a 5 dias de jejum (ver Figura 31.19). Nesses níveis, o cérebro e outros tecidos nervosos começam a utilizar corpos cetônicos e, como conseqüência, oxidam menos glicose, precisando de cerca de um terço da glicose (aproximadamente 40 g/dia) necessária sob condições normais de dieta. Como resultado da utilização reduzida de glicose, a velocidade da gliconeogênese no fígado diminui, como ocorre com a produção de uréia (ver Figura 31.19). Uma vez que nesse estágio de jejum prolongado os aminoácidos, obtidos da degradação das proteínas existentes, são os principais precursores gliconeogênicos, as necessidades reduzidas de glicose nos tecidos diminuem a velocidade de degradação de proteínas e, assim, a velocidade de formação de uréia. A proteína do músculo e de outros tecidos é, portanto, poupada, pois há menor necessidade de aminoácido para a gliconeogênese.

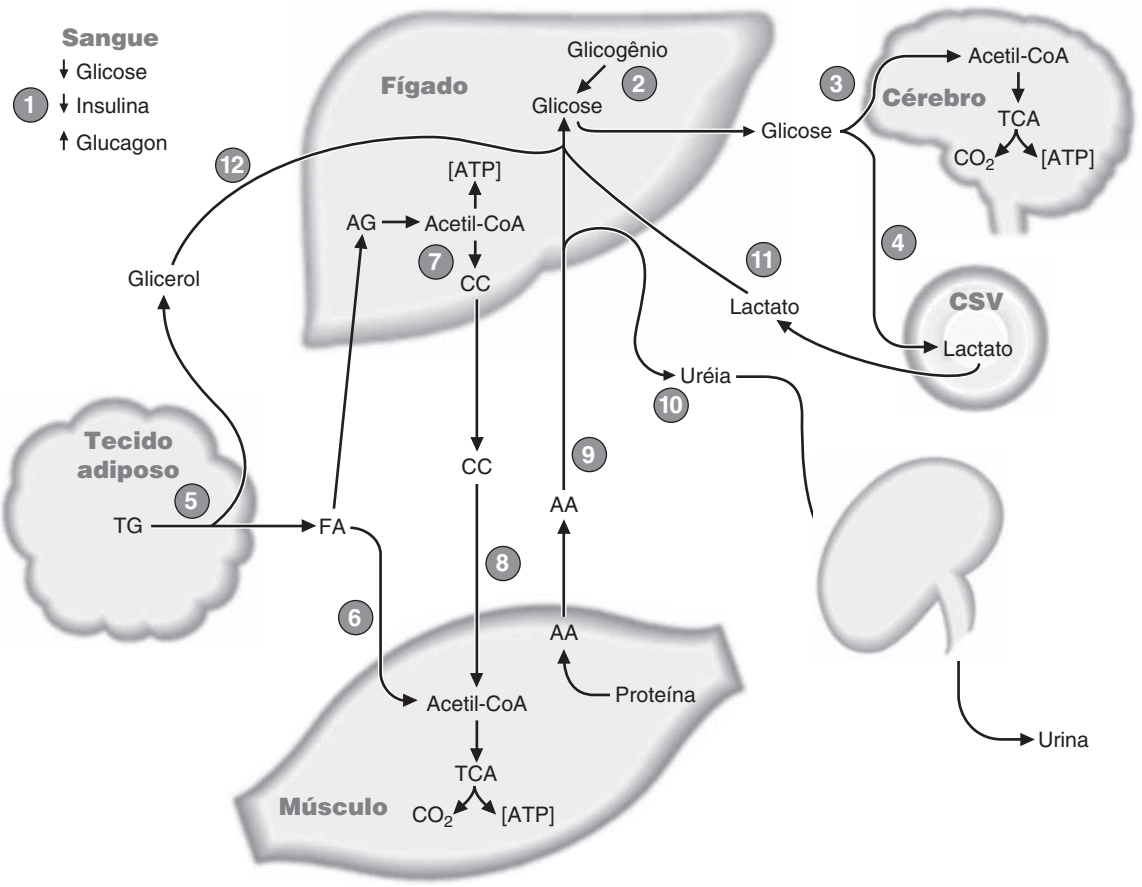


Figura 31.18 Inter-relações entre tecidos durante o jejum. 1. Os níveis de glicose sangüínea diminuem, diminuindo, assim, os níveis de insulina e elevando os níveis de glucagon no sangue. 2. A glicogenólise é induzida no fígado para elevar os níveis de glicose sangüínea. 3. O cérebro utiliza a glicose liberada pelo fígado, como fazem as células sangüíneas vermelhas (4). 5. Os tecidos adiposos são induzidos a liberar ácidos graxos e glicerol a partir de triacilgliceróis armazenados. 6. O músculo e o fígado utilizam os ácidos graxos para energia. 7. O fígado converte a acetil-CoA derivada de ácidos a corpos cetônicos para a exportação, os quais os músculos (8) e o cérebro utilizam para energia. 9. A renovação (*turnover*) de proteínas é induzida no músculo, e os aminoácidos deixam o músculo e movem-se para o fígado para serem utilizados como precursores gliconeogênicos. 10. A alta velocidade do metabolismo de aminoácidos no fígado produz uréia, a qual vai para os rins para a excreção. 11. As células sangüíneas vermelhas produzem lactato, o qual retorna para o fígado como substrato para a gliconeogênese. 12. O glicerol liberado a partir de tecido adiposo é utilizado pelo fígado na gliconeogênese. CC = corpos cetônicos; AG = ácidos graxos; AA = aminoácido; TG = triacilgliceróis.

A proteína corporal, particularmente a proteína do músculo, não é primariamente uma forma de armazenamento de substrato energético no mesmo sentido que o glicogênio ou o triacilglicerol; as proteínas têm muitas funções além de armazenamento de substrato energético. Por exemplo, as proteínas funcionam como enzimas, como proteínas estruturais e na contração muscular. Se as proteínas teciduais são degradadas em uma extensão muito grande, a função corporal pode ser gravemente comprometida. Se o jejum continua e não ocorrem outros problemas, como infecções, pessoas em jejum em geral morrem devido a uma perda grave de proteína que causa má função de órgãos principais, como o coração. Portanto, o aumento nos níveis de corpos cetônicos que resulta em poupança da proteínas corporais permite que as pessoas sobrevivam por longos períodos sem ingerir alimentos.

D. Resumo das Fontes de Glicose Sangüínea

Imediatamente após uma refeição, os carboidratos da dieta servem como fonte principal de glicose sangüínea (Figura 31.20). Quando os níveis de glicose sangüínea retornam à faixa de jejum dentro de duas horas após uma refeição, a glicogenólise é

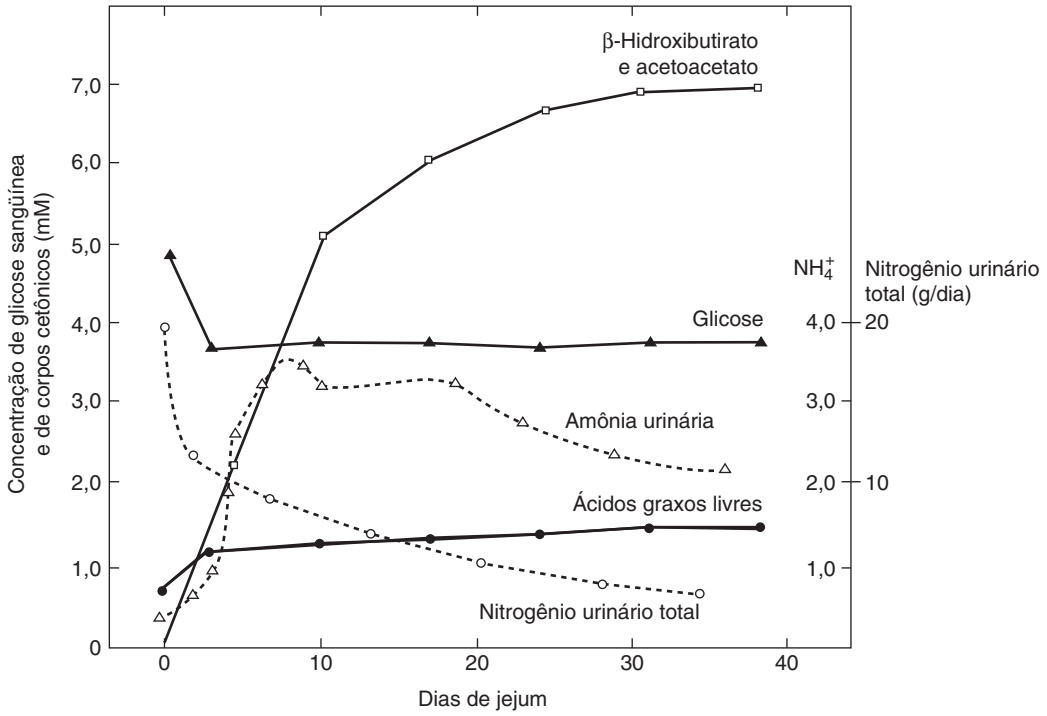


Figura 31.19 Alterações nos substratos energéticos sangüíneos durante o jejum. A unidade para ácidos graxos, glicose e corpos cetônicos é milimolar (à esquerda) e para nitrogênio e amônia urinários é grama/dia (à direita). Modificada de Linder MC. Nutritional Biochemistry and Metabolism, 2nd Ed. Stamford, CT: Appleton & Lange, 1991:103. © 1991 Appleton & Lange.

estimulada e começa a fornecer glicose para o sangue. Subseqüentemente, a glicose também é produzida por gliconeogênese.

Durante um jejum de 12 horas, a glicogenólise é a principal fonte de glicose sangüínea. Assim, ela é a maior rota pela qual a glicose é produzida no estado basal (após um jejum de 12 horas). Contudo, em cerca de 16 horas de jejum, glicogenólise e gliconeogênese contribuem igualmente para a manutenção da glicose sangüínea.

Em 30 horas após uma refeição, as reservas de glicogênio hepático estão bastante depletadas. Subseqüentemente, a gliconeogênese é a principal fonte de glicose sangüínea.

Os mecanismos que levam gorduras a serem utilizadas como fonte principal de substratos energéticos e que permitem que os níveis de glicose sangüínea sejam mantidos durante períodos de privação alimentar resultam em conservação das proteínas do corpo, permitindo, assim, a sobrevivência durante jejum prolongado por períodos freqüentemente excedendo a um ou mais meses.

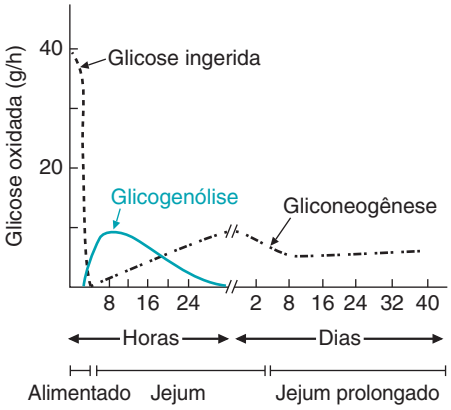


Figura 31.20 Fontes de glicose sangüínea nos estados alimentado, de jejum e de jejum prolongado. Observe que a escala se altera de horas para dias. De Ruderman NB, et al. In: Hanson RW, Mehlman MA, eds. Gluconeogenesis: Its Regulation in Mammalian Species. 1976:518. © 1976 John Wiley & Sons.

E. Níveis de Glicose Sangüínea Durante Exercício

Durante exercício, mecanismos muito similares àqueles que são utilizados durante o jejum operam para manter os níveis de glicose sangüínea. O fígado mantém os níveis de glicose sangüínea por glicogenólise e gliconeogênese induzida tanto pelo glucagon como pela adrenalina. A utilização de substratos energéticos pelo músculo durante o exercício, incluindo a captação e a utilização de glicose sangüínea, é discutida no Capítulo 47.

Otto Shape é capaz de correr 45 minutos antes de tomar café da manhã sem desenvolver sintomas de hipoglicemia, apesar da utilização aumentada de glicose pelo músculo esquelético durante o exercício. Ele mantém seu nível de glicose sangüínea em uma faixa adequada por glicogenólise e gliconeogênese hepáticas.

Lembre que o glicogênio do músculo não é utilizado para manter os níveis de glicose sangüínea; as células musculares não têm glicose-6-fosfatase; dessa forma, glicose para exportação não pode ser produzida a partir de glicose-6-fosfato.

Estudos epidemiológicos têm correlacionado os resultados de TTG com o desenvolvimento atual e subseqüente de complicações microvasculares do DM no olho (retinopatia diabética) e nos rins (nefropatia diabética). Seu desenvolvimento em geral é limitado naqueles pacientes cujos níveis de glicose sangüínea excedem 140 mg/dL (7,8 mM) ou cujos níveis de glicose sangüínea duas horas pós-prandial excede 200 mg/dL (11,1 mM).

Como conseqüência, o sucesso da terapia com apenas dieta ou dieta mais agentes hipoglicemiantes orais com freqüência é determinado pela medida de níveis de glicose sangüínea durante o jejum, antes do café da manhã e duas horas após uma refeição. Para pacientes recebendo uma insulina de ação intermediária, a glicose sangüínea também deve ser medida em outros momentos, como quando se espera o pico após sua injeção (p. ex., cerca de 17 horas, quando a insulina foi administrada às 7 horas do mesmo dia).

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

A ingestão crônica excessiva de etanol junto com a redução da ingesta de nutrientes levou o nível de glicose sangüínea de **Al Martini** a diminuir para 28 mg/dL. Esse grau de hipoglicemia levou à liberação de diversos hormônios "contra-regulatórios" para o sangue, incluindo glucagon, hormônio do crescimento, cortisol e epinefrina (adrenalina).

Alguns dos sinais e sintomas dos pacientes são primariamente o resultado de um aumento na atividade do sistema nervoso adrenérgico após uma rápida diminuição da glicose sangüínea. O aumento subseqüente nos níveis de adrenalina no sangue leva a tremores, sudorese excessiva e freqüência cardíaca rápida. Outras manifestações ocorrem quando o cérebro tem glicose insuficiente, por isso o termo "sintomas neuroglicopênicos". O Sr. Martini estava confuso, brigão, tinha fala arrastada e finalmente teve uma convulsão do tipo grande mal. Se não tivesse sido tratado rapidamente com administração intravenosa de glicose, o Sr. Martini teria evoluído para um coma. Déficits neurológicos permanentes e mesmo morte podem resultar se hipoglicemia grave não for corrigida em 6 a 10 horas.

A elevação da glicose sangüínea que ocorreu no caso de **Emma Wheezer** foi principalmente uma conseqüência das grandes doses farmacológicas de um glicocorticóide que ela recebeu em um esforço para reduzir a reação inflamatória intrabrônquica característica do broncoespasmo asmático. Embora o desenvolvimento de hiperglicemia nesse caso possa ser classificado como uma forma "secundária" de diabetes melito, a maioria dos pacientes tratados com glicocorticóides não desenvolve intolerância à glicose. A Srta. Wheezer, contudo, pode ter uma predisposição para o eventual desenvolvimento de diabetes melito "primário".

Na hiperglicemia, quantidades aumentadas de glicose passam para a urina, causando excreção de grandes quantidades de água. Essa "diurese osmótica" é responsável pelo volume aumentado de urina (poliúria) observado pela paciente. Devido à perda aumentada de água na urina, o volume de sangue circulante efetivo está reduzido. Portanto, menos sangue chega aos receptores sensíveis de volume no sistema nervoso central, o que dispara a sensação de sede, causando o aumento da sede (polidipsia).

Uma dieta diabética e a redução da dose de seu esteróide por um período de várias semanas gradualmente retornaram os níveis de glicose sangüínea da Srta. Wheezer para a faixa normal.

Níveis cronicamente elevados de glicose no sangue podem contribuir para o desenvolvimento de complicações microvasculares do diabetes melito, como lesão diabética da retina, lesão renal e lesão nervosa, bem como complicações macrovasculares, como insuficiência cerebrovascular, vascular periférica e cardiovascular. O mecanismo preciso pelo qual a hiperglicemia induz essas alterações vasculares por períodos prolongados não é completamente compreendido.

Um mecanismo postulado propõe que a glicação (glicosilação) não-enzimática de proteínas nos tecidos vasculares altera a estrutura e as funções dessas proteínas. Uma proteína exposta cronicamente a níveis aumentados de glicose ligará de forma covalente a glicose, um processo chamado de glicação ou glicosilação. Esse processo não é regulado por enzimas (ver Capítulo 9). Essas proteínas glicadas de maneira não-enzimática lentamente formam reações cruzadas com (*adducts*) adutos protéicos (com freqüência chamados de produtos avançados da glicosilação) dentro da microvasculatura e da macrovasculatura.

Pelas reações cruzadas entre proteínas da matriz vascular e proteínas plasmáticas, hiperglicemia crônica pode causar estreitamento do diâmetro luminal dos microvasos na retina (causando retinopatia diabética), dos glomérulos renais (causando nefropatia diabética) e dos microvasos suprindo as fibras nervosas periféricas e autonômicas (causando neuropatia diabética). Foi postulado que o mesmo processo acelera as alterações ateroscleróticas da macrovasculatura, particularmente no cérebro (causando acidente vascular cerebral), das artérias coronárias (causando infarto do miocárdio) e das artérias periféricas (causando insuficiência arterial periférica e gangrena). O

metabolismo de lipídeos anormal associado a diabetes melito mal controlado também contribui para a aterosclerose acelerada associada a esse distúrbio metabólico (ver Capítulos 33 e 34).

Até recentemente, era argumentado que o controle meticuloso dos níveis de glicose sangüínea em um paciente diabético não seria necessário para prevenir ou mesmo lentificar essas complicações da hiperglicemia crônica. Contudo, a publicação do estudo "Diabetes Control and Complications Trial" sugere que a manutenção de euglicemia a longo prazo (níveis normais de glicose sangüínea) em pacientes diabéticos torna lento o progresso da glicação desregulada de proteínas, bem como corrige sua dislipidemia. Desse modo, o controle cuidadoso pode afetar favoravelmente o curso das complicações microvascular e macrovascular do diabetes melito em pacientes como **Di Abietes** e **Ann Sulin**.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

As plantas são a fonte vital do suprimento de glicose na Terra. Elas produzem glicose a partir do CO_2 atmosférico pelo processo de fotossíntese (Figura 31.21A). Em contraste com as plantas, os humanos não podem sintetizar glicose pela fixação de CO_2. Embora tenha um processo chamado de gliconeogênese, o termo pode na verdade ser errado. Uma glicose diferente não é produzida pela gliconeogênese; os compostos produzidos a partir de glicose são simplesmente reciclados em glicose. O corpo humano obtém glicose a partir das plantas, incluindo bactérias, que são ingeridas e, em alguma extensão, a partir de animais na alimentação. O ser humano utiliza essa glicose como substrato energético e como fonte de carbono para a síntese de ácidos graxos, aminoácidos e outros carboidratos (ver Figura 31.21B). A glicose é armazenada como glicogênio, o qual, junto com a gliconeogênese, fornece glicose quando há necessidade de energia (ver Figura 3l.21C).

O lactato, uma das fontes de carbono para a gliconeogênese, é na verdade produzido a partir de glicose pelos tecidos que obtêm energia oxidando glicose a piruvato pela glicólise. O piruvato é, então, reduzido a lactato, liberado na corrente sangüínea e reconvertido a glicose pelo processo de gliconeogênese no fígado. Esse processo é conhecido como ciclo de Cori (Figura 31.21D).

Os carbonos da alanina, outra fonte de carbono para a gliconeogênese, podem ser produzidos a partir de glicose. No músculo, a glicose é convertida pela glicólise a piruvato e é transaminada a alanina. A alanina do músculo é reciclada a glicose no fígado. Esse processo é conhecido como ciclo da glicose-alanina (Figura 31.21E). A glicose também pode ser utilizada para produzir aminoácidos não-essencias além da alanina, os quais são subseqüentemente reconvertidos a glicose no fígado por gliconeogênese. Mesmo os aminoácidos essenciais que são obtidos das proteínas da dieta pelo corpo humano são sintetizados nas plantas e nas bactérias utilizando glicose como fonte principal de carbono. Portanto, todos os aminoácidos que são convertidos a glicose em humanos, incluindo os aminoácidos essenciais, foram antes sintetizados a partir de glicose.

A produção de glicose a partir de glicerol, a terceira maior fonte de carbono para a gliconeogênese, também é um processo de reciclagem. O glicerol é derivado de glicose pelo intermediário da glicólise, a diidroxiacetona-fosfato. Os ácidos graxos são, então, esterificados a glicerol e armazenados como triacilgliceróis. Quando esses ácidos graxos são liberados a partir do triacilglicerol, a porção glicerol pode passar para o fígado e ser reconvertida a glicose (ver Figura 31.21F).

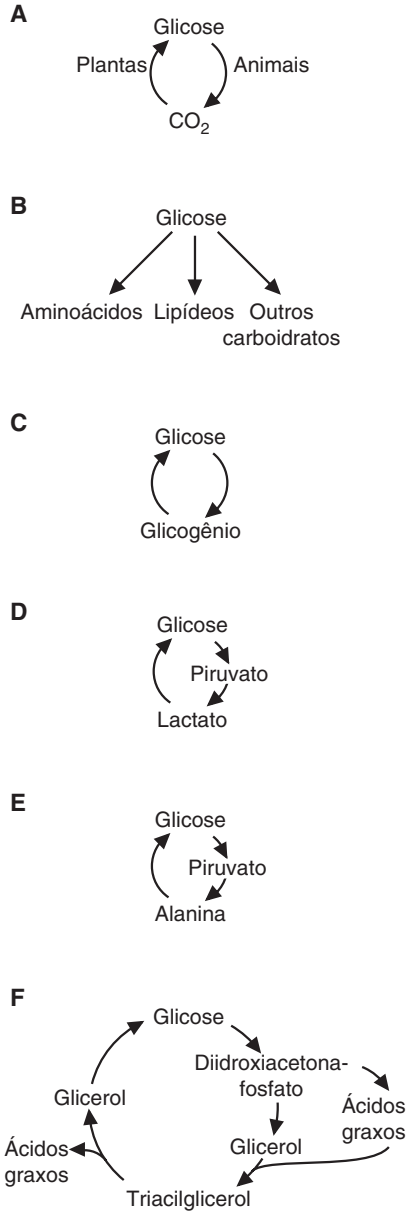


Figura 31.21 Reciclagem de glicose.

Leituras Sugeridas

Dimitriadis GD, Raptis SA, Newsholme EA. Integration of some biochemical and physiologic effects of insulin that may play a role in the control of blood glucose concentration. In LeRoith D, Taylor SI,

Olefsky JM, eds. Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text. 2nd Ed. New York: Lippincott, Williams and Wilkins, 2000:161-176.

Granner D, Pilkis S. The genes of hepatic glucose metabolism. J Biol Chem 1990;265:10173-10176.

Gurney AL, Park EA. Liu J, et al. Metabolic regulation of gene transcription. J Nutr 1994;124:15335-15395.

Pilkis S, Granner D. Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. Annu Rev Physiol 1992;54:885-909.

The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med 1993;329:977-986.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 31

1. Qual dos seguintes é um intermediário comum em uma conversão de glicerol e lactato a glicose?

   (A) Piruvato
   (B) Oxaloacetato
   (C) Malato
   (D) Glicose-6-fosfato
   (E) Fosfoenolpiruvato

2. Uma paciente se apresentou com uma infecção bacteriana que produziu uma endotoxina que inibe a fosfoenolpiruvato-carboxiquinase. Nessa paciente, então, sob essas condições, a produção de glicose a partir de qual desses precursores seria inibida?

   (A) Alanina
   (B) Glicerol
   (C) Ácidos graxos de cadeia par
   (D) Fosfoenolpiruvato
   (E) Galactose

3. Qual das seguintes afirmações descreve melhor o glucagon?

   (A) Ele age como hormônio anabólico.
   (B) Ele age sobre o músculo esquelético, o fígado e o tecido adiposo.
   (C) Ele age principalmente sobre o fígado e o tecido adiposo.
   (D) Sua concentração no sangue aumenta após uma refeição rica em carboidratos.
   (E) Sua concentração aumenta no sangue quando os níveis de insulina aumentam.

4. Qual das seguintes alternativas descreve o que é mais provável que ocorre em uma pessoa normal após a ingestão de uma refeição rica em carboidratos?

   (A) Apenas os níveis de insulina diminuem.
   (B) Apenas os níveis de insulina aumentam.
   (C) Apenas os níveis de glucagon aumentam.
   (D) Ambos os níveis de insulina e glucagon diminuem.
   (E) Ambos os níveis de insulina e glucagon aumentam.

5. Uma paciente chega ao hospital em uma ambulância. Ela está em coma nesse momento. Antes de evoluir para coma, seus sintomas incluíam vômitos, desidratação, pressão sangüínea baixa e freqüência cardíaca rápida. Ela também tem respiração relativamente rápida, resultando em maior expiração de dióxido de carbono. Esses sintomas são consistentes com qual das seguintes condições?

   (A) A paciente não tem pâncreas.
   (B) Cetoalcalose
   (C) Coma hipoglicêmico
   (D) Cetoacidose diabética
   (E) Choque insulínico em uma paciente diabética

Metabolismo de Lipídeos

A maioria dos lipídeos encontrados no corpo insere-se nas categorias de ácidos graxos e triacilgliceróis; glicerofosfolipídeos e esfingolipídeos; eicosanóides; colesterol, sais biliares, e hormônios esteróides, e vitaminas lipossolúveis. Esses lipídeos têm diversas estruturas químicas e funções, entretanto apresentam uma propriedade em comum: sua relativa insolubilidade em água.

Os ácidos graxos, os quais são armazenados como triacilgliceróis, servem como substratos energéticos que suprem o corpo com sua principal fonte de energia (Figura1). Os glicerofosfolipídeos e os esfingolipídeos, os quais contêm ácidos graxos esterificados, são encontrados nas membranas e nas lipoproteínas plasmáticas na interface entre os componentes lipídicos dessas estruturas e a água circundante. Essas membranas lipídicas formam barreiras hidrofóbicas entre os compartimentos subcelulares e entre os constituintes celulares e o meio extracelular. Os ácidos graxos poliinsaturados que contêm 20 carbonos formam os eicosanóides, os quais regulam muitos processos celulares (Figura 2).

O colesterol proporciona estabilidade à bicamada de fosfolipídeos das membranas. Ele serve como o precursor dos sais biliares, compostos semelhantes aos detergentes que agem no processo de digestão e absorção de lipídeos (Figura 3), e dos hormônios esteróides, os quais têm muitas ações, incluindo a regulação do metabolismo, do crescimento e da reprodução.

As vitaminas lipossolúveis são lipídeos que estão envolvidos em uma variedade de funções, como visão, crescimento e diferenciação (vitamina A), coagulação sangüínea (vitamina K), prevenção do dano oxidativo celular (vitamina E) e metabolismo do cálcio (vitamina D).

Os triacilgliceróis, os principais lipídeos da dieta, são digeridos no lúmen do intestino (Figura 4). Os produtos digestivos iniciais, ácidos graxos livres e 2-monoacilglicerol, são reconvertidos em triacilgliceróis nas células epiteliais intestinais, empacotados em lipoproteínas conhecidas como quilomícrons (assim eles podem entrar de forma segura na circulação) e secretados na linfa. Enfim, os quilomícrons entram no sangue, servindo como uma das suas principais lipoproteínas.

A lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) é produzida no fígado, principalmente a partir dos carboidratos da dieta. A lipogênese é um processo estimulado pela insulina por meio do qual a glicose é convertida em ácidos graxos, os quais são subseqüentemente esterificados com glicerol para formar os triacilgliceróis que são empacotados em VLDL e secretados pelo fígado. Portanto, os quilomícrons primariamente transportam os lipídeos da dieta e a VLDL os lipídeos sintetizados endogenamente.

Os triacilgliceróis de quilomícrons e VLDL são digeridos pela lipoproteína lipase (LPL), uma enzima encontrada ligada às células endoteliais dos capilares (ver Figura 4). Os ácidos graxos que são liberados são captados pelo músculo e por muitos outros tecidos e oxidados a CO_2 e água para produzir energia (ver Capítulo 23). Após uma refeição, esses ácidos graxos são captados pelo tecido adiposo e armazenados como triacilgliceróis.

A LPL converte os quilomícrons em quilomícrons remanescentes e a VLDL em lipoproteína de densidade intermediária (IDL). Esses produtos, os quais têm um conteúdo relativamente baixo de triacilglicerol, são captados pelo fígado por meio do processo de endocitose e degradados pela ação lisossomal. A IDL pode ser convertida em lipoproteína de baixa densidade (LDL) pela digestão adicional dos triacilgliceróis. A endocitose da LDL ocorre nos tecidos periféricos, bem como no fígado (Tabela 1) e é a principal forma de transporte e entrega de colesterol para os tecidos periféricos.

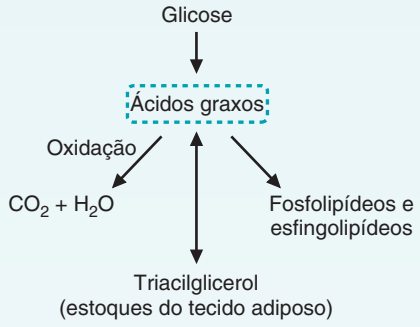


Figura 1 Resumo do metabolismo de ácido graxo.

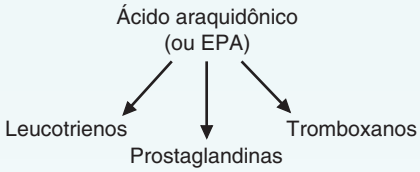


Figura 2 Resumo da síntese de eicosanóide. EPA = ácido eicosapentenóico.

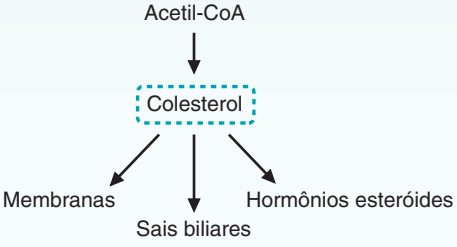


Figura 3 Resumo do metabolismo de colesterol.

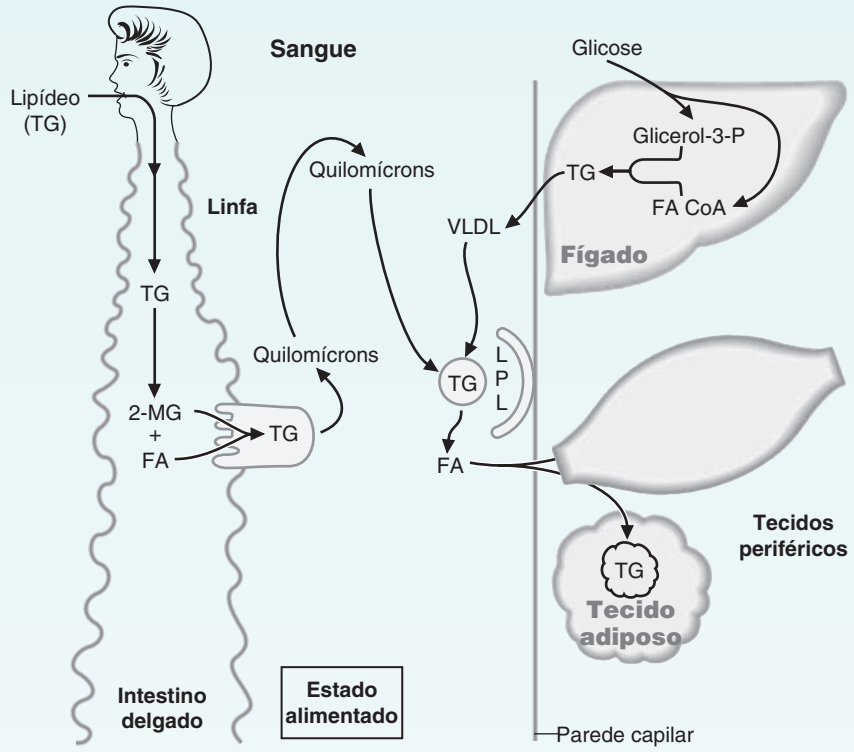


Figura 4 Visão geral do metabolismo de triacilgliceróis no estado alimentado. TG = triacilglicerol; 2-MG = 2-monoacilglicerol; FA = ácido graxo; TG circundado = triacilgliceróis de VLDL e quilomícrons; LPL = lipoproteína-lipase.

A principal função da lipoproteína de alta densidade (HDL) é transportar o excesso de colesterol obtido dos tecidos periféricos para o fígado e trocar proteínas e lipídeos com quilomícrons e VLDL. A troca protéica converte partículas "nascentes" em partículas maduras.

Durante o jejum, os ácidos graxos e o glicerol são liberados do triacilglicerol armazenado no tecido adiposo (Figura VI.5). O glicerol vai para o fígado e é usado para a gliconeogênese. Somente o fígado contém glicerol-quinase, a qual é necessária para

Tabela 1 Lipoproteínas Plasmáticas

Quilomícrons
- produzidos nas células epiteliais intestinais a partir das gorduras da dieta
- transportam triacilgliceróis no sangue

VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade)
- produzida no fígado, principalmente a partir dos carboidratos da dieta
- transporta triacilgliceróis no sangue

IDL (lipoproteína de densidade intermediária)
- produzida no sangue (remanescente da VLDL após digestão dos triacilgliceróis)
- endocitada pelo fígado ou convertida em LDL

LDL (lipoproteína de baixa densidade)
- produzida no sangue (remanescente da IDL após digestão dos triacilgliceróis; produto final da VLDL)
- contém altas concentrações de colesterol e ésteres de colesterol
- endocitada pelo fígado e pelos tecidos periféricos

HDL (lipoproteína de alta densidade)
- produzida no fígado e no intestino
- troca proteínas e lipídeos com outras lipoproteínas
- atua no retorno do colesterol dos tecidos periféricos para o fígado

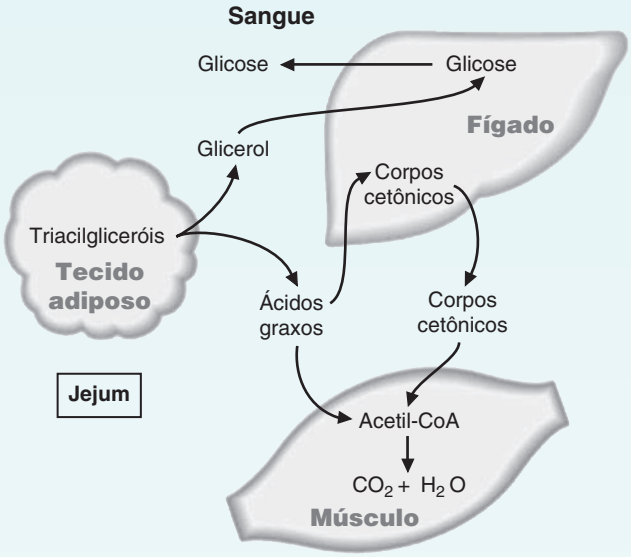


Figura 5 Visão geral do metabolismo de triacilgliceróis durante o jejum.

o metabolismo do glicerol. Os ácidos graxos formam complexos com a albumina no sangue e são captados pelo músculo, pelo rim e por outros tecidos, nos quais são oxidados a CO_2 e água para formar ATP. O fígado também converte alguns dos carbonos dos ácidos graxos em corpos cetônicos, que são liberados no sangue. Os corpos cetônicos são oxidados para produzir energia no músculo, no rim e em outros tecidos durante o jejum e no cérebro durante o jejum prolongado (ver Capítulo 23).

Esta página foi deixada em branco intencionalmente,

32 Digestão e Transporte dos Lipídeos da Dieta

*Os **triacilgliceróis** são as principais gorduras da dieta humana. Eles consistem em três **ácidos graxos** esterificados em um esqueleto de **glicerol**. Devido à baixa solubilidade dos substratos, ocorre digestão limitada desses lipídeos na língua (**lipase lingual**) e no estômago (**lipase gástrica**). No intestino, entretanto, os ácidos graxos são emulsificados pelos **sais biliares** que são liberados a partir da vesícula biliar. Isso aumenta a área de superfície disponível dos lipídeos para a **lipase pancreática** e a **colipase** se ligarem e digerirem os triacilgliceróis. Os produtos de degradação são os **ácidos graxos livres** e o **2-monoacilglicerol**. Quando digerido parcialmente, o alimento entra no intestino, que secreta hormônio **colecistocinina**, o qual sinaliza para que a vesícula biliar se contraia e libere sais biliares e o pâncreas libere enzimas digestivas.*

*Além de triacilgliceróis, fosfolipídeos, colesterol e ésteres de colesterol (colesterol esterificado com ácidos graxos) estão presentes nos alimentos que são ingeridos. Os fosfolipídeos são hidrolisados no lúmen intestinal pela **fosfolipase A2**, e os ésteres de colesterol são hidrolisados pela **colesterol-esterase**. Essas enzimas são secretadas pelo pâncreas.*

*Os produtos da digestão enzimática (ácidos graxos livres, glicerol, lisofosfolipídeos e colesterol) formam **micelas** com os ácidos biliares no lúmen intestinal. As micelas interagem com a membrana do enterócito e permitem a difusão dos componentes solúveis dos lipídeos através dessa membrana para dentro da célula. Os ácidos biliares, entretanto, não entram nos enterócitos nesse momento. Eles permanecem no intestino, movendo-se para a parte mais baixa deste e são, então, reabsorvidos e levados de volta ao fígado pela **circulação êntero-hepática**. Isso permite que os sais biliares sejam utilizados múltiplas vezes na digestão das gorduras.*

*As células do epitélio intestinal sintetizam novamente os triacilgliceróis a partir dos ácidos graxos e do 2-monoacilglicerol e os empacotam com uma proteína, a **apoproteína B-48**, fosfolipídeos e ésteres de colesterol em uma partícula de lipoproteína solúvel conhecida como **quilomícron**. Os quilomícrons são secretados dentro da **linfa** e conseqüentemente acabam na circulação, na qual podem distribuir os lipídeos da dieta para todos os tecidos do corpo.*

*Uma vez na circulação, os quilomícrons ("nascentes") recém-liberados interagem com uma outra partícula de lipoproteína, a **HDL** (lipoproteína de alta densidade), e dela adquirem duas **apoproteínas**, a apoproteína **C_{II}** e a apoproteína **E**. Esse processo converte o quilomícron nascente em quilomícron "maduro". A apoC_{II} do quilomícron maduro ativa a enzima **lipoproteína-lipase** (**LPL**), a qual está localizada na superfície interna das células endoteliais dos capilares do músculo e do tecido adiposo. A LPL digere o triglicerídeo no quilomícron, produzindo ácidos graxos e glicerol. Os ácidos graxos entram nos órgãos adjacentes para a produção de energia (músculo) ou para armazenamento de gorduras (adipócito). O glicerol liberado é metabolizado no fígado.*

*Como os quilomícrons perdem os triglicerídeos, sua densidade aumenta, e eles se tornam **quilomícrons remanescentes**, os quais são captados pelo fígado por receptores que reconhecem a apoproteína E. No fígado, o quilomícron remanescente é degradado em seus componentes, e esses ficam novamente a disposição para o fígado.*



O sistema linfático é uma rede de vasos que circunda as cavidades intersticiais do corpo. As células secretam vários compostos para dentro da linfa, os quais são transportados pelos vasos linfáticos para fora dos espaços intersticiais nos tecidos corporais e para dentro da corrente sangüínea. No caso do sistema linfático intestinal, a linfa entra na corrente sangüínea através do ducto torácico. Esses vasos são projetados de maneira que, sob condições normais, o conteúdo do sangue não pode entrar no sistema linfático. O fluido linfático tem uma composição similar àquela do sangue, mas faltam a esse fluido as células encontradas no sangue.

SALA DE ESPERA

Will Sichel teve vários episódios de dor leve nas costas e nas extremidades inferiores durante o último ano, provavelmente causada por crises falciformes pequenas. Ele, então, desenvolveu dor forte na porção superior direita do abdômen irradiando para a porção baixa do tórax e do flanco direitos 36 horas antes da admissão na emergência. Segundo seu relato, a dor não é como a das crises que costuma ter. Vômitos intratáveis iniciaram 12 horas após o aparecimento desses novos sintomas. O paciente relata que sua urina é da cor de chá preto, e suas fezes estão agora com uma cor de argila clara.

Ao exame físico, sua temperatura corporal está levemente elevada, e sua freqüência cardíaca está rápida. O branco de seus olhos (esclera) está visivelmente ictérico (uma coloração amarelada causada pelo acúmulo do pigmento bilirrubina). Ele apresenta estranha sensibilidade à pressão no abdômen superior direito.

O médico da emergência suspeita que Will não está em uma crise falciforme, mas que ele tem uma colecistite aguda (inflamação da vesícula biliar) ou um cálculo biliar alojado no seu ducto biliar comum, causando colestase (incapacidade de a bile chegar ao seu intestino delgado a partir do fígado). O nível de hemoglobina do paciente estava baixo, em 7,6 mg/dL (valores de referência = 12 a 16), mas inalterado em relação ao seu basal de 3 meses atrás. O nível de bilirrubina total sérica era 3,2 mg/dL (valores de referência = 0,2 a 1,0), e o de bilirrubina direta (conjugada) era 0,9 mg/dL (valores de referência = 0 a 0,2).

Foi iniciada a administração de líquidos intravenosos, e não foi permitido ao paciente receber nada via oral. Um tubo nasogástrico foi introduzido e colocado em sucção constante, e foi iniciada terapia sintomática para dor e náusea. Quando sua condição se estabilizou, Will foi enviado para um exame de ultra-sonografia de seu abdômen superior.

Al Martini continuou a abusar de álcool e a se alimentar mal. Após uma ingestão particularmente alta de vodka, uma dor forte iniciou em seu abdômen médio-superior, a qual se irradiou para o quadrante esquerdo superior e, posteriormente, para o meio de suas costas. Ele começou a vomitar material não-sanguinolento e foi levado à emergência do hospital com febre, freqüência cardíaca acelerada e uma redução leve na pressão sangüínea. Ao exame físico, o paciente apresentava desidratação e sensibilidade à pressão sobre o abdômen superior. O vômito e as fezes foram negativos para sangue oculto.

Amostras de sangue foram enviadas para o laboratório para uma série de testes hematológicos e químicos, incluindo medida de amilase e lipase séricas e de enzimas digestivas normalmente secretadas pelo pâncreas exócrino através dos ductos pancreáticos para dentro do lúmen do intestino delgado.

I. DIGESTÃO DOS TRIACILGLICERÓIS

Os triacilgliceróis são as principais gorduras da dieta humana devido ao fato de serem os principais lipídeos de armazenamento em plantas e animais que constituem o suprimento alimentar. Os triacilgliceróis contêm um esqueleto de glicerol esterificado com três ácidos graxos (Figura 32.1). A principal via para a digestão dos triacilgliceróis envolve a sua hidrólise a ácidos graxos e 2-monoacilglicerol no lúmen do intestino. Entretanto, a via depende do comprimento da cadeia do ácido graxo. As lipases salivar e gástrica são produzidas pelas células localizadas abaixo da língua e no estômago, respectivamente. Essas lipases hidrolisam preferencialmente ácidos graxos de cadeia curta e média (contendo 12 ou menos átomos carbono) provenientes da dieta de triacilgliceróis. Entretanto, elas são mais ativas em crianças de poucos meses de vida e em crianças jovens, ou seja, em crianças que consomem grande quantidade de leite de vaca, o qual contêm triacilgliceróis com alta porcentagem de ácidos graxos de cadeia curta e média.

Atualmente, 38% das calorias (kcal) na dieta americana típica vêm de gordura. O conteúdo de gordura na dieta aumentou entre os anos 1900 e 1960, e diminuiu quando foi informado que uma dieta rica em gordura não era saudável. De acordo com as recomendações atuais, as gorduras deveriam fornecer não mais do que 30% do total de calorias de uma dieta saudável.

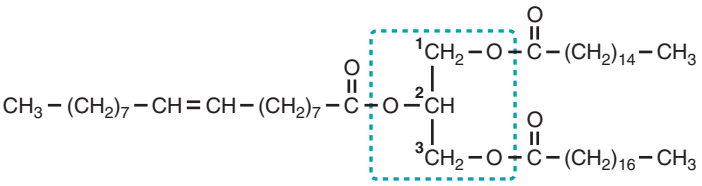


Figura 32.1 Estrutura de um triacilglicerol. A porção glicerol está realçada, e seus carbonos estão numerados.

A. Ação dos Sais Biliares

A gordura da dieta sai do estômago e entra no intestino delgado, onde é emulsificada (suspendida em partículas pequenas no meio aquoso) pelos sais biliares (Figura 32.2). Os sais biliares são compostos anfipáticos (que contêm tanto componentes hidrofílicos quanto hidrofóbicos) sintetizados no fígado (ver Capítulo 34 para a rota) e secretados via vesícula biliar para dentro do lúmen intestinal. A contração da vesícula biliar e a secreção das enzimas pancreáticas são estimuladas pelo hormônio intestinal colecistocinina, o qual é secretado pelas células intestinais quando o conteúdo do estômago entra no intestino. Os sais biliares agem como detergentes, ligando-se aos glóbulos de gorduras da dieta conforme eles são quebrados pela ação peristáltica do músculo intestinal. Essa gordura emulsificada, que possui superfície de área maior do que a gordura não-emulsificada, sofre a ação das enzimas digestivas provenientes do pâncreas (Figura 32.3).

B. Ação da Lipase Pancreática

A principal enzima que digere os triacilgliceróis da dieta é uma lipase produzida no pâncreas. A lipase pancreática é secretada concomitantemente com uma outra proteína, a colipase, e com bicarbonato, o qual neutraliza o ácido que entra no intestino com os alimentos parcialmente digeridos provenientes do estômago. O bicarbonato aumenta o pH do conteúdo do lúmen intestinal para uma faixa (pH~6) que corresponde ao pH ótimo para a ação de todas as enzimas digestivas do intestino. A secreção de bicarbonato proveniente do pâncreas é estimulada pelo hormônio secretina, o qual é liberado pelo intestino quando o ácido entra no duodeno.

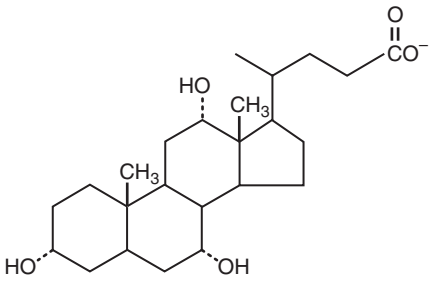
A colipase se liga tanto à gordura da dieta quanto à lipase, o que aumenta a atividade dessa. A lipase pancreática hidrolisa ácidos graxos de todos os comprimentos de cadeia nas posições 1 e 3 da porção de glicerol do triacilglicerol, produzindo ácidos

Em pacientes como **Will Sichel,** que apresentam episódios severos de aumento de destruição de células vermelhas do sangue (anemia hemolítica) recorrentes, devem ser processadas pelo fígado e pelo baço maiores quantidades de pigmentos heme das células vermelhas do que o normal. Nesses órgãos, o grupo heme (derivado da hemoglobina) é degradado a bilirrubina, a qual é excretada na bile pelo fígado.

Se grandes quantidades de bilirrubina são apresentadas ao fígado como uma conseqüência de hemólise aguda, a capacidade dele em conjugá-las, ou seja, convertê-las em bilirrubina diglucuronídeo hidrossolúvel, pode ser ultrapassada. Como resultado, uma maior porcentagem de bilirrubina que entra nos ductos biliares dos pacientes com hemólise apresenta as formas de bilirrubina menos solúveis em água. Na vesícula biliar, essas partículas relativamente insolúveis tendem a precipitar como cálculo biliar rico em bilirrubinato de cálcio. Em alguns pacientes, uma ou mais pedras podem sair da vesícula através do ducto cístico e entrar no ducto biliar comum. A maioria passa para o intestino delgado sem causar problemas e, após, é excretada nas fezes. As pedras maiores, entretanto, podem ficar presas no lúmen do ducto biliar comum, no qual causam um grau variável de obstrução do fluxo biliar (colestase) com espasmo ductal associado, produzindo dor. Se quantidades adequadas de sais biliares não entram no lúmen intestinal, dietas gordurosas não podem ser prontamente emulsificadas e digeridas.

A glândula mamária produz leite, o qual é a principal fonte de nutrientes para a amamentação de crianças nos primeiros meses de vida. A composição de ácidos graxos do leite humano varia dependendo da dieta da mãe. Entretanto, os ácidos graxos de cadeia longa predominam, particularmente os ácidos palmítico, oléico e linoléico. Embora a quantidade de gordura contida no leite humano e no de vaca seja similar, o leite de vaca contém mais ácidos graxos de cadeias curta e média e não contêm ácidos graxos de cadeia longa, os ácidos graxos poliinsaturados encontrados no leite humano que são importantes no desenvolvimento cerebral.

Embora as concentrações de lipase pancreática e de sais biliares sejam baixas no lúmen intestinal dos recém-nascidos, a gordura do leite humano é prontamente absorvida, devido à produção das lipases salivares e gástricas que compensam parcialmente os baixos níveis de lipase pancreática. A glândula mamária humana também produz lipases que entram no leite. Uma dessas lipases, a qual requer menores concentrações de sais biliares do que a lipase pancreática, não é inativada pelo ácido gástrico e age no intestino por muitas horas.



Colato

Figura 32.2 Estrutura de um sal biliar. Os sais biliares são derivados do colesterol e conservam o anel do colesterol em sua estrutura, no entanto, diferem desse na medida em que o anel dos sais biliares contém mais grupos hidroxila e uma cadeia lateral polar, além de não possuir a ligação dupla nos carbonos 5-6.

Os níveis séricos de amilase pancreática (a qual digere o amido da dieta) e lipase pancreática de **Al Martini** estavam elevados, um achado consistente com o diagnóstico de pancreatite aguda e possivelmente crônica. Os níveis elevados dessas enzimas no sangue resultam do seu extravasamento das células exócrinas inflamadas do pâncreas para as veias pancreáticas circundantes. A causa desse processo inflamatório no pâncreas, nesse caso, foi relacionada ao efeito tóxico da ingestão aguda e crônica excessiva de álcool.

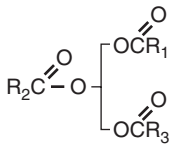


Figura 32.4 Ação da lipase pancreática. Os ácidos graxos (FA) são clivados nas posições 1 e 3 do triacilglicerol, e é produzido um monoacilglicerol com um ácido graxo na posição 2.

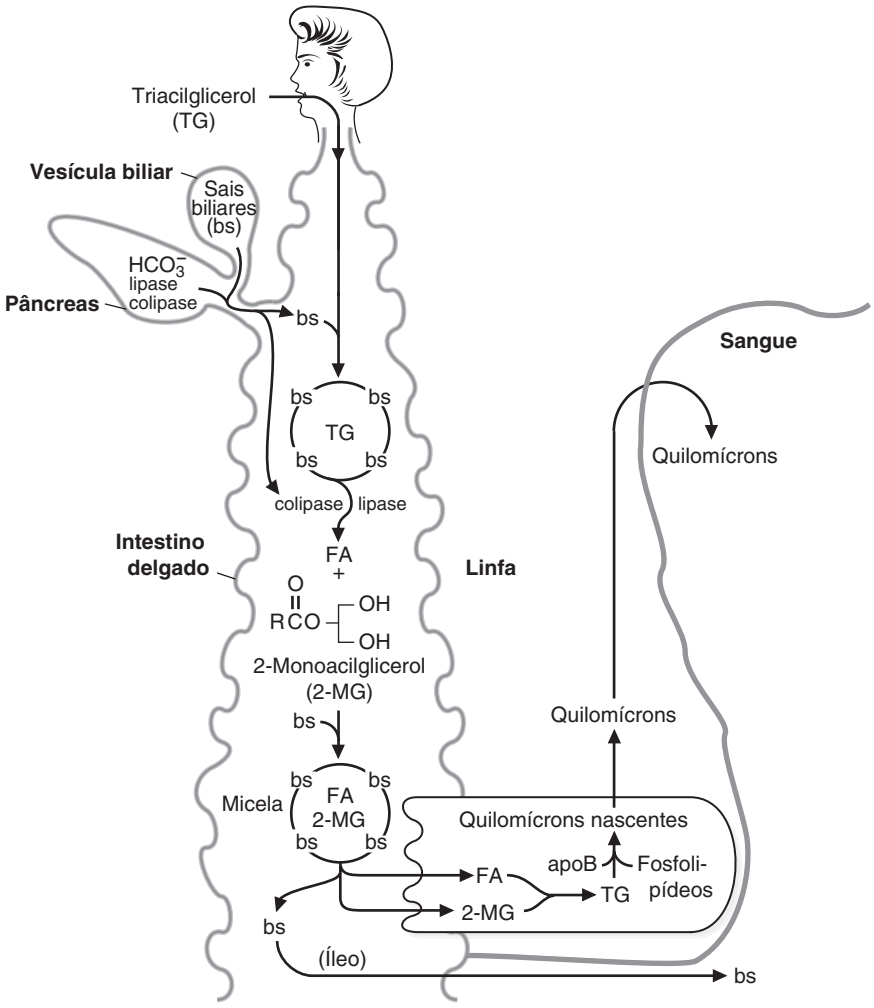


Figura 32.3 Digestão de triacilgliceróis no lúmen intestinal. TG = triacilglicerol; bs = sais biliares; FA = ácidos graxos; 2-MG = 2-monoacilglicerol.

Os sais biliares inibem a atividade da lipase pancreática por revestirem o substrato e não permitirem que a enzima tenha acesso ao mesmo. A colipase atenua a inibição dos sais biliares sobre a lipase, permitindo que os triglicerídeos entrem no sítio ativo da lipase.

O pâncreas exócrino secreta a fosfolipase A2 na forma de um zimogênio inativo, a pró-fosfolipase A2. A enzima é ativada no lúmen intestinal por meio da clivagem proteolítica pela tripsina. A lipase pancreática, entretanto, é secretada na sua forma ativa e somente necessita se ligar à colipase e ao substrato para tornar-se ativa.

Q: Quando **Al Martini** finalmente foi capaz de tolerar uma dieta completa, suas fezes tornaram-se volumosas, brilhosas, marrom-amareladas com cheiro pútrido e flutuavam na superfície da água do vaso sanitário. O que causou esse problema?

graxos livres e 2-monoacilglicerol, isto é, glicerol esterificado com um ácido graxo na posição 2 (Figura 32.4). O pâncreas também produz esterases que removem os ácidos graxos provenientes de outros compostos (tais como ésteres de colesterol) e fosfolipase A2 que digere os fosfolipídeos, formando ácido graxo livre e um lisofosfolipídeo (Figura 32.5).

II. ABSORÇÃO DE LIPÍDEOS DA DIETA

Os ácidos graxos e os 2-monoacilgliceróis produzidos pela digestão são empacotados dentro de micelas, microgotículas minúsculas emulsificadas pelos sais biliares (ver Figura 32.3). Outros lipídeos da dieta, como colesterol, lisofosfolipídeos e vitaminas lipossolúveis também são empacotados nessas micelas. As micelas vão, através de uma camada de água (a camada de água estacionária), para as microvilosidades na superfície das células epiteliais intestinais, onde ácidos graxos, 2-monoacilglicerol e outros lipídeos da dieta são absorvidos, mas os sais biliares são deixados no lúmen do intestino.

Os sais biliares são amplamente reabsorvidos quando chegam ao íleo. Mais do que 95% deles são reciclados e vão pela circulação êntero-hepática para o fígado, o qual os secreta na bile para armazenamento na vesícula biliar e ejeção para o lúmen intestinal durante um outro ciclo digestivo (Figura 32.6).

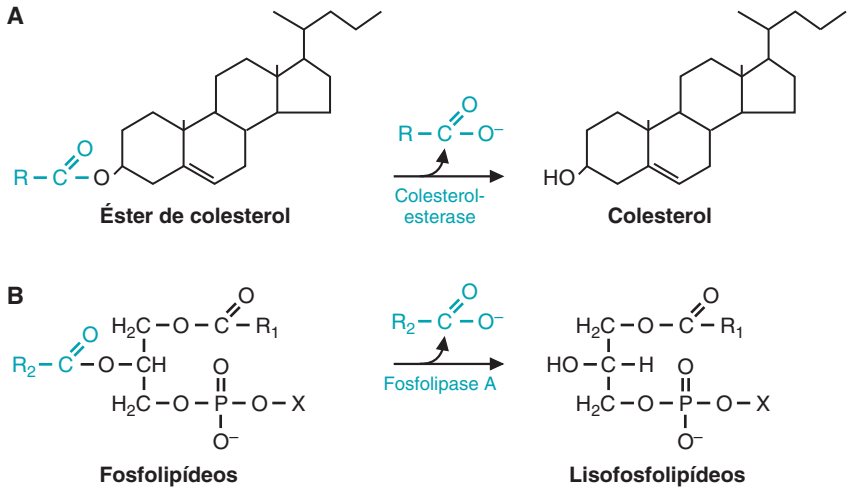


Figura 32.5 Ação das esterases pancreáticas (A) e da fosfolipase A2 (B).

Os ácidos graxos de cadeias curta e média (C4 a C12) não requerem sais biliares para a sua absorção, pois são absorvidos diretamente para dentro das células epiteliais. Por esse motivo, não necessitam do empacotamento para aumentar a sua solubilidade. Eles entram no sangue da veia porta (em vez da linfa) e são transportados para o fígado ligados à albumina sérica.

III. SÍNTESE DE QUILOMÍCRONS

Dentro das células epiteliais intestinais, os ácidos graxos e os 2-monoacilgliceróis são condensados pelas reações enzimáticas no retículo endoplasmático liso para formar triacilgliceróis. Os ácidos graxos são ativados a acil-CoA pelos mesmos processos utiliza-

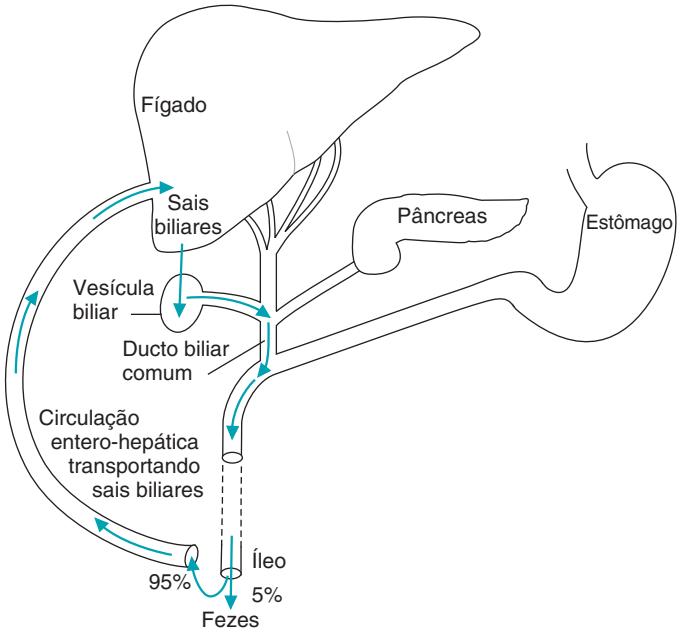


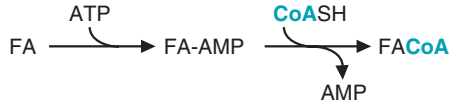
Figura 32.6 Reciclagem dos sais biliares. Os sais biliares são sintetizados no fígado, armazenados na vesícula biliar, secretados para dentro do intestino delgado, reabsorvidos no íleo e devolvidos para o fígado via circulação entero-hepática. Cinco por cento ou menos dos ácidos biliares do lúmen são excretados nas fezes sob condições normais.

R: As mudanças nas fezes de **Al Martini** são características de esteatorréia (fezes carregadas de gordura em conseqüência da má absorção dos lipídeos da dieta), nesse caso causada pela falta de secreções pancreáticas, particularmente de lipase pancreática, a qual normalmente digere as gorduras da dieta.

A esteatorréia também pode ser causada pela produção ou pela secreção insuficiente de sais biliares. Portanto, **Will Sichel** também pode desenvolver essa condição.

Para as micelas de sais biliares se formarem, a concentração de sais biliares no conteúdo do lúmen intestinal deve alcançar 5 a 15 μmol/mL. Essa concentração crítica de sais biliares é, portanto, requerida para a absorção ótima de lipídeos.

Ativação de ácidos graxos



Síntese de triacilglicerol

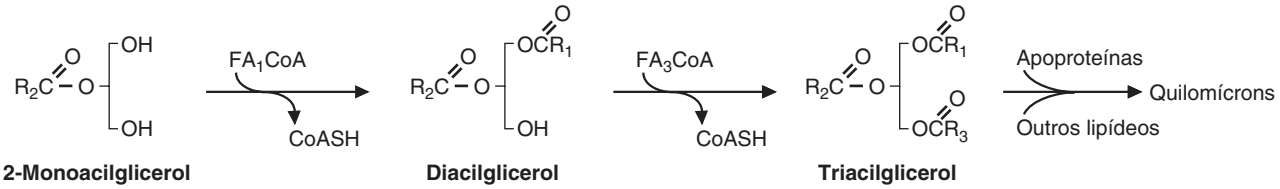
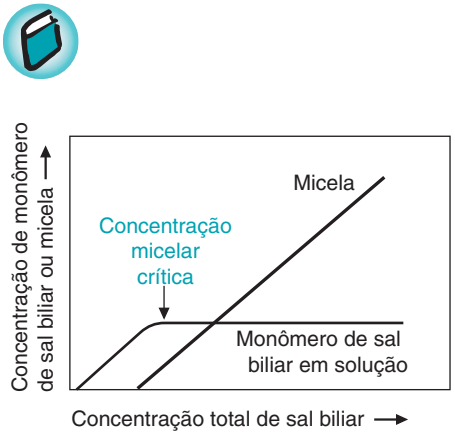


Figura 32.7 Síntese de triacilgliceróis nas células epiteliais do intestino. Os ácidos graxos (FA), produzidos pela digestão, são ativados nas células epiteliais intestinais e, então, esterificados com o 2-monoacilglicerol produzido pela digestão. Os triacilgliceróis são empacotados nos quilomícrons e secretados para dentro da linfa.



Como as vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) são absorvidas das micelas juntamente com ácidos graxos e 2-monoacilgliceróis de cadeias longas, a obstrução prolongada dos ductos que transportam as secreções exócrinas do pâncreas e da vesícula biliar para dentro do intestino (pelo ducto comum) poderia levar a uma deficiência dessas substâncias metabolicamente importantes. Se a obstrução do ducto comum de **Will Sichel** prolongar-se, ele conseqüentemente apresentará deficiência das vitaminas lipossolúveis. (Figura de Devlin T. Textbook of Biochemistry, 3rd Ed. 1992:1084. Copyright © John Wiley & Sons, Inc.).

dos na ativação de ácidos graxos antes da β-oxidação (ver Capítulo 23). Um acil-CoA reage com um 2-monoacilglicerol para formar um diacilglicerol, o qual reage com um outro acil-CoA para formar um triacilglicerol (Figura 32.7). As reações para a síntese de triacilgliceróis nas células intestinais diferem daquelas das células hepáticas e adiposas. O 2-monoacilglicerol é um intermediário na síntese de triacilglicerol nas células intestinais, enquanto o ácido fosfatídico é um intermediário necessário em outros tecidos.

Os triacilgliceróis são transportados em partículas lipoprotéicas, pois são insolúveis na água. Se eles entrassem diretamente no sangue, poderiam coalescer e impedir o fluxo sangüíneo. As células intestinais empacotam os triacilgliceróis junto com proteínas e fosfolipídeos em quilomícrons, os quais são partículas de lipoproteínas que não coalescem prontamente em solução aquosa (Figura 32.8 e 32.9). Os quilomícrons também contêm colesterol e vitaminas lipossolúveis. As proteínas constituintes das lipoproteínas são conhecidas como apoproteínas.

A principal apoproteína associada aos quilomícrons quando eles saem das células intestinais é a B-48 (Figura 32.10). A apoproteína B-48 é estrutural e geneticamente relacionada à apoproteína B-100, a qual é sintetizada no fígado e serve como a

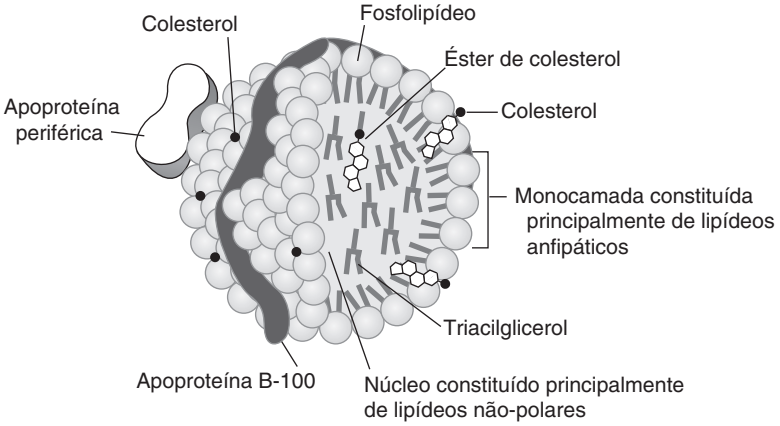


Figura 32.8 Exemplo da estrutura de uma lipoproteína sangüínea. A VLDL está representada. As lipoproteínas contêm fosfolipídeos e proteínas na sua superfície, com suas regiões hidrofílicas interagindo com a água. As moléculas hidrofóbicas estão no interior das lipoproteínas. O grupo hidroxila do colesterol está próximo da superfície. Nos ésteres de colesterol, o grupo hidroxila está esterificado com um ácido graxo. Os ésteres de colesterol são encontrados no interior das lipoproteínas e são sintetizados pela reação do colesterol com um ácido graxo ativado (ver Capítulo 33).

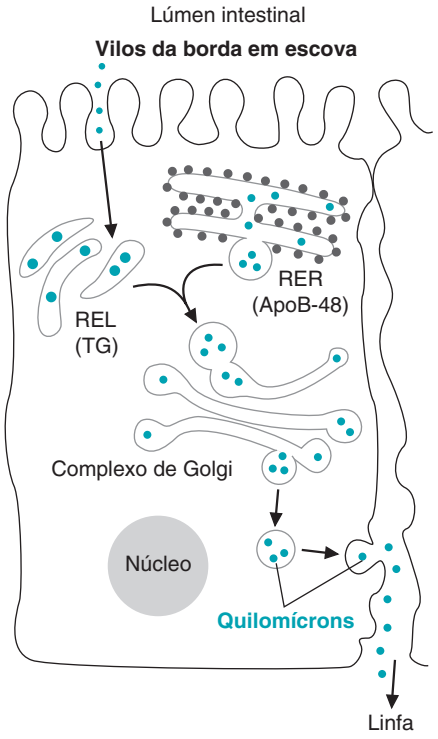


Figura 32.10 Formação e secreção de quilomícrons. O triacilglicerol é produzido no retículo endoplasmático liso (REL) das células epiteliais intestinais a partir dos produtos digeridos, os ácidos graxos e os 2-monoacilgliceróis. A proteína é sintetizada no retículo endoplasmático rugoso (RER). A principal apoproteína dos quilomícrons é a B-48. A montagem das lipoproteínas ocorre no RE e no complexo de Golgi.

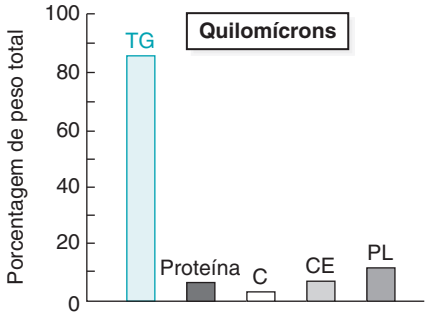


Figura 32.9 Composição de um quilomícron típico. Embora a composição varie um pouco, o principal componente é o triacilglicerol (TG). C = colesterol; CE = éster de colesterol; PL = fosfolipídeo.

principal proteína de outro transportador de lipídeos, a lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL). Essas duas apoproteínas são codificadas pelo mesmo gene. No intestino, a transcrição primária desse gene sofre edição do RNA (ver Figura 32.11 e Capítulo 15). É gerado um códon de terminação que faz com que a proteína produzida no intestino seja 48% do tamanho da proteína produzida no fígado, daí as designações B-48 e B-100.

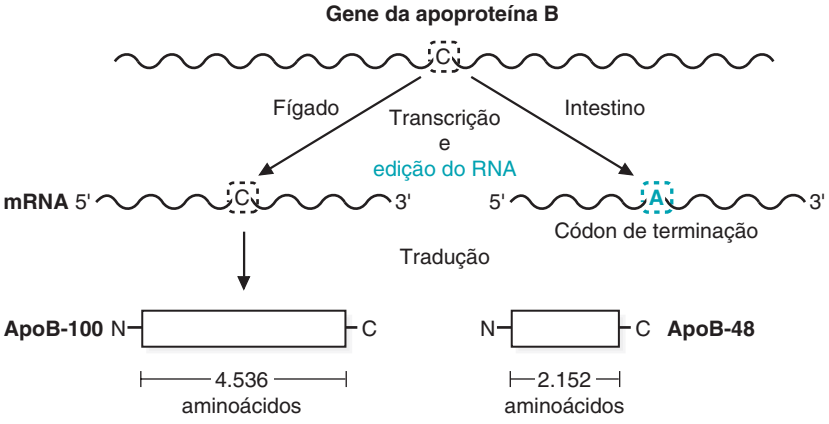
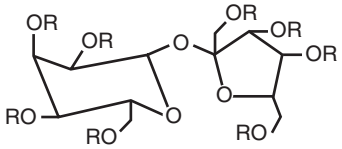


Figura 32.11 Gene da apoproteína-B. O gene, localizado no cromossoma 2, é transcrito e traduzido no fígado para produzir a ApoB-100, a qual contém 4.536 aminoácidos (uma das mais longas cadeias polipeptídicas individuais). Nas células intestinais, a edição do RNA converte uma citosina (C) em uma adenina (A), produzindo um códon de terminação. Conseqüentemente, a apoproteína B das células intestinais (ApoB-48) contém somente 2.152 aminoácidos. A ApoB-48 tem 48% do tamanho de ApoB-100.

A olestra é um substituto artificial de gordura projetado para permitir aos indivíduos obter o gosto e a consistência alimentar das gorduras, sem as suas calorias. A estrutura da olestra está representada a seguir e consiste em uma molécula de sacarose, à qual ácidos graxos são esterificados nos grupos hidroxila.



olestra = octa-acil-sacarose
R = grupo acila

Os ácidos graxos ligados à sacarose são resistentes à hidrólise pela lipase pancreática, portanto a olestra passa intacta através do intestino e é eliminada nas fezes. Como resultado, não há obtenção de calorias através do metabolismo da olestra.

Devido ao seu alto conteúdo de triacilgliceróis, os quilomícrons são as lipoproteínas plasmáticas menos densas. Quando o sangue é coletado de pacientes com certos tipos de hiperlipoproteinemias (altas concentrações de lipoproteínas no sangue), nos quais os níveis de quilomícrons são elevados, e é deixado na geladeira durante a noite, os quilomícrons flutuam no topo do líquido e coalescem, formando uma camada cremosa.

Uma maneira pela qual os indivíduos podem perder peso é inibindo a atividade da lipase pancreática. Isso resultaria na redução da digestão e da absorção de gorduras e em uma redução na produção de calorias provenientes da dieta. O fármaco orlistate é um derivado químico sintetizado da lipstatina, um inibidor natural da lipase encontrado em certas bactérias. Ele age no lúmen intestinal e forma uma ligação covalente com um resíduo de serina do sítio ativo das lipases pancreática e gástrica, conseqüentemente inibindo as suas atividades. Os triglicerídeos não-digeridos não são absorvidos pelo intestino e são eliminados nas fezes. Sob condições normais de uso do fármaco, aproximadamente 30% da absorção das gorduras da dieta são inibidos. Como a quantidade excessiva de gordura não digerida no intestino pode levar à distensão gastrintestinal relacionada à excessiva formação de gás, indivíduos medicados com essa droga precisam reduzir a ingestão diária de gordura em suas dietas, a qual deve ser uniformemente distribuída entre as refeições do dia.

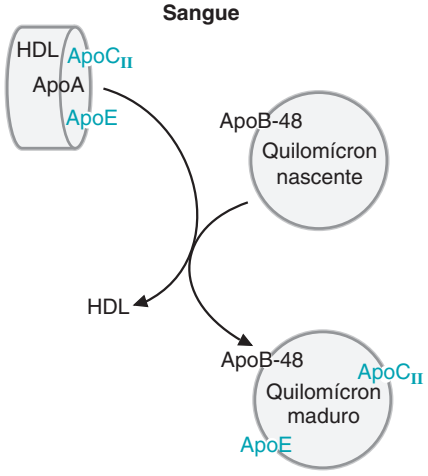


Figura 32.12 Transferência de proteínas da HDL para os quilomícrons. Os quilomícrons recém-sintetizados (quilomícrons nascentes) recebem as apoproteínas C_{II} e E da HDL e tornam-se quilomícrons maduros. A função da HDL é transferir essas apoproteínas e transportar o colesterol dos tecidos periféricos para o fígado (ver Tabela 1 na introdução a esta seção).

O componente protéico das lipoproteínas é sintetizado no retículo endoplasmático rugoso. Os lipídeos, os quais são sintetizados no retículo endoplasmático liso, formam complexos com as proteínas para gerar os quilomícrons (ver Figura 32.19).

IV. TRANSPORTE DOS LIPÍDEOS DA DIETA NO SANGUE

Pelo processo de exocitose, os quilomícrons são secretados pelas células epiteliais intestinais para o quilo do sistema linfático e vão para o sangue através do ducto torácico. Os quilomícrons começam a entrar no sangue dentro de 1 a 2 horas após o início de uma refeição, e, conforme essa vai sendo digerida e absorvida, eles continuam a entrar no sangue, por muitas horas. Inicialmente, as partículas são chamadas de quilomícrons nascentes (recém-nascidas), mas quando, dentro da linfa ou do sangue, recebem proteínas provenientes da HDL, tornam-se quilomícrons "maduros".

A HDL transfere proteínas para os quilomícrons nascentes, particularmente apoproteína E (ApoE) e apoproteína C_{II} ($ApoC_{II}$) (Figura 32.12). A ApoE é reconhecida pelos receptores de membrana, particularmente aqueles da superfície das células do fígado, os quais permitem que ela carregue a lipoproteína para dentro das células por endocitose para subseqüente digestão pelos lisossomas. A $ApoC_{II}$ age como um ativador da LPL, a enzima localizada nos capilares das células endoteliais, primariamente dentro do músculo e do tecido adiposo. Tal enzima digere os triacilgliceróis dos quilomícrons e das VLDL no sangue.

V. DESTINO DOS QUILOMÍCRONS

Os triacilgliceróis dos quilomícrons são degradados pela LPL ligada aos proteoglicanos nas membranas basais das células endoteliais que revestem as paredes dos capilares (Figura 32.13). A LPL é produzida por células adiposas, musculares (particularmente músculo cardíaco) e da glândula mamária durante a lactação. A isoenzima sintetizada pelas células adiposas tem um K_m maior do que a sintetizada nas células musculares. Portanto, a LPL do tecido adiposo é mais ativa após uma refeição, quando os níveis de quilomícrons estão elevados no sangue. A insulina estimula a síntese e a secreção da LPL do tecido adiposo, de forma que, após uma refeição, quando os níveis de triglicerídeo aumentam na circulação, a LPL sofre *upregulation* (por meio da liberação da insulina) para facilitar a degradação de triglicerídeo.

Os ácidos graxos liberados dos triacilgliceróis pela LPL não são muito solúveis em água. Eles formam complexos com a proteína albumina e, assim, tornam-se solúveis no sangue. O principal destino dos ácidos graxos é o armazenamento como triacilglicerol no tecido adiposo. Entretanto, esses ácidos graxos também podem ser oxidados para a produção de energia no músculo e em outros tecidos (ver Fig. 32.13). A LPL nos capilares das células musculares tem um menor K_m do que a LPL das células adiposas. Portanto, as células musculares podem obter ácidos graxos das lipoproteínas plasmáticas sempre que eles são necessários para a produção de energia, mesmo que as concentrações das lipoproteínas estejam baixas.

O glicerol liberado dos triacilgliceróis dos quilomícrons pela LPL pode ser usado para a síntese de triacilgliceróis no fígado no estado alimentado.

A porção dos quilomícrons que permanece no sangue após a ação da LPL é conhecida como quilomícron remanescente. Esse quilomícron remanescente se liga ao receptor nos hepatócitos (as principais células do fígado), os quais reconhecem a apoproteína E, e é captado pelo processo de endocitose. Os lisossomas fundem-se com as

A heparina é um polissacarídeo complexo que é um componente de proteoglicanos (ver Capítulo 49). A heparina isolada é freqüentemente usada como um anticoagulante, porque ela se liga à antitrombina III (ATIII), e a ATIII ativada, então, liga-se a fatores necessários para a coagulação, inibindo-os. Quando a LPL está ligada ao endotélio capilar por meio da sua união com proteoglicanos, a heparina também pode se ligar à LPL e desalojá-la da parede capilar. Isso leva à perda da atividade da LPL e a um aumento no conteúdo de triglicerídeos no sangue.

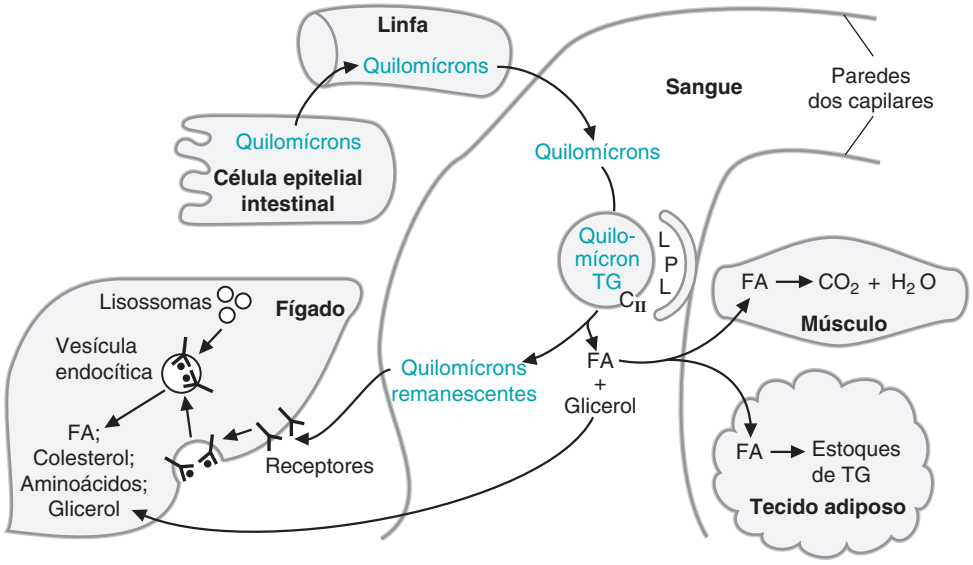


Figura 32.13 Destino dos quilomícrons. Os quilomícrons são sintetizados nas células epiteliais intestinais, secretados para dentro da linfa, passam para o sangue e tornam-se quilomícrons maduros (ver Figura 32.11). Na parede capilar do tecido adiposo e do muscular, a lipoproteína lipase (LPL) ativada pela $ApoC_{II}$ digere os triacilgliceróis (TG) dos quilomícrons a ácidos graxos e glicerol. Os ácidos graxos (FA) são oxidados no músculo ou armazenados nas células adiposas como triacilgliceróis. Os remanescentes dos quilomícrons são captados pelo fígado por endocitose mediada por receptor. As enzimas lisossomais dentro do hepatócito digerem os remanescentes, liberando os produtos para dentro do citosol.

vesículas endocíticas, e os quilomícrons remanescentes são degradados pelas enzimas lisossomais. Os produtos da digestão lisossomal (p.ex., ácidos graxos, aminoácidos, glicerol, colesterol e fosfato) podem ser reutilizados pelas células.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

A ultra-sonografia do abdômen superior mostrou um cálculo biliar grande alojado no ducto comum de **Will Sichel** com dilatação desse ducto, proximal ao cálculo. Will foi agendado para uma colangiopancreatografia retrógrada endoscópica (ERCP; do inglês, ***e**ndoscopic **r**etrograde **c**holangio**p**ancreatography*). (Uma ERCP envolve a canulação do ducto biliar comum – e, se necessário, do ducto pancreático – por meio de um tubo passado pela boca e pelo estômago para dentro da porção superior do intestino delgado). Com essa técnica, um cálculo pode ser capturado no ducto comum e removido para aliviar uma obstrução.

Se a obstrução do ducto comum for muito grave, a bilirrubina flui de volta para o sangue venoso drenando do fígado. Como conseqüência, os níveis séricos de bilirrubina, particularmente a fração indireta (não-conjugada), aumentam. Os tecidos, como a esclera do olho, captam esse pigmento, o qual os faz ficarem amarelos (ictéricos). A condição de **Will Sichel** era suficientemente grave para causar icterícia por esse mecanismo.

O excesso de álcool pode produzir tampões proteináceos nos ductos pancreáticos pequenos, causando lesão por pressão retrógrada e autodigestão dos ácinos pancreáticos drenados por esses canais obstruídos. Esse processo causa uma forma de pancreatite aguda. **Al Martini** teve um episódio de pancreatite aguda induzida por álcool sobreposto a um processo inflamatório mais crônico relacionado ao álcool – em outras palavras, uma pancreatite crônica. Como resultado da secreção diminuída de lipase pancreática através dos ductos pancreáticos e para dentro do lúmen do intestino delgado, a gordura da dieta não era absorvida em uma velocidade normal, e ocorreu a esteatorréia (fezes ricas em gorduras). Se a abstinência de álcool não per-

mitir uma recuperação adequada da função de secreção enzimática do pâncreas, o Sr. Martini terá de tomar uma preparação comercial de enzimas pancreáticas às refeições, mesmo que elas contenham quantidades mínimas de gordura.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



A montagem dos quilomícrons dentro do retículo endoplasmático dos enterócitos requer a atividade da proteína microssomal transferidora de triglicerídeo (MTP). A proteína é um dímero de duas subunidades não-idênticas; a menor subunidade (57 kDa) é a proteína dissulfeto-isomerase (PDI, ver Capítulo 7, Seção IX.A), enquanto a maior subunidade (97 kDa) contém a atividade de transferência de triglicerídeo. A MTP acelera o transporte de triglicerídeos, ésteres de colesterol e fosfolipídeos através das membranas das organelas subcelulares. O papel da PDI nesse complexo não é conhecido; a atividade de dissulfeto-isomerase dessa subunidade não é necessária para que o transporte de triglicerídeo ocorra. A falta da atividade transferidora de triglicerídeo leva à **abetalipoproteinemia**. Essa doença afeta tanto a montagem dos quilomícrons, no intestino, quanto a das VLDL, no fígado. Ambas partículas requerem uma apoproteína B para a sua montagem (ApoB-48, para quilomícrons; ApoB-100, para VLDL), e a MTP se liga às apoproteínas B. Para a montagem dos quilomícrons e das VLDL, primeiro uma pequena partícula contendo ApoB é produzida dentro do lúmen do RE. A ApoB apropriada é produzida no retículo endoplasmático rugoso (RER) e é inserida para dentro do lúmen do RE durante a sua síntese (ver Capítulo 15, Seção IX). Quando a proteína está sendo traduzida, o lipídeo (uma pequena quantidade de triglicerídeo) começa a se associar à proteína, e essa associação lipídica é catalisada pela MTP. Isso leva à formação de pequenas partículas contendo ApoB; tais partículas não são formadas em pacientes com abetalipoproteinemia. Portanto, parece que a atividade de MTP é necessária para transferir triacilglicerol formado dentro do RE para a proteína ApoB. O segundo estágio da montagem da partícula é a fusão da partícula ApoB inicial com gotículas de triacilglicerol dentro do RE. A MTP também pode ser necessária para a transferência do triacilglicerol a partir do citoplasma para o lúmen do RE para formar essas gotículas de lipídeos. Esses passos são descritos na Figura 32.14.

Os sintomas da abetalipoproteinemia incluem a má absorção de lipídeos (e seus sintomas correlacionados, como esteatorréia e vômitos), que pode resultar em deficiência calórica e perda de peso. Como a distribuição das vitaminas lipossolúveis ocorre através da circulação dos quilomícrons, os sinais e sintomas relacionados à deficiência dessas vitaminas podem ser observados nesses pacientes.

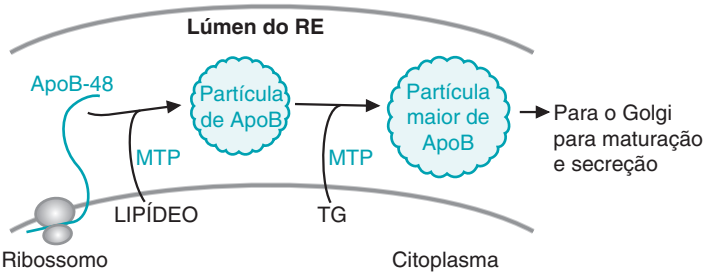


Figura 32.14 Um modelo da ação da proteína microssomal transferidora de triacilgliceróis (MTP). A MTP é requerida para transferir lipídeo para a apoB-48 quando ela é sintetizada, e para transferir lipídeo do citoplasma para o lúmen do RE.

Leituras Sugeridas

Berriot-Varoqueaux N, Aggerbeck LP, Samson-Bouma ME, Wetterau JR. The role of the microsomal triglyceride transfer protein in abetalipoproteinemia. Annu Rev Nutr 2000;20:663697.

Havel RJ, Kane JP. Introduction: structure and metabolism of plasm lipoproteins. In: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, Sly WS, et al., eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, vol II, 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:2705-2716.

Knopp RH. Drug treatment of lipid disorders. N Engl J Med 1999;341:498-511.

Linder MC, ed. Nutrition and metabolism of fats. In: Nutritional Biochemistry and Metabolism with Clinical Applications. New York: Elsevier, 1991:51-85.

Zlotkin SH. Neonatal nutrition. In: Linder MC, ed. Nutritional Biochemistry and Metabolism with Clinical Applications. New York: Elsevier, 1991:357-360.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 32

1. Qual é o mais abundante componente dos quilomícrons?

   (A) ApoB-48
   (B) Triglicerídeo
   (C) Fosfolipídeo
   (D) Colesterol
   (E) Éster de colesterol

2. A conversão de quilomícrons nascentes em quilomícrons maduros requer qual das seguintes alternativas?

   (A) Sais biliares
   (B) 2-monoacilglicerol
   (C) Lipoproteína lipase
   (D) Lipoproteína de alta densidade
   (E) Sistema linfático

3. As apoproteínas B-48 e B-100 são similares em relação a qual das seguintes alternativas?

   (A) Elas são sintetizadas a partir do mesmo gene.
   (B) Elas são derivadas do mesmo hnRNA por *splicing* alternativo.
   (C) A ApoB-48 é um produto proteolítico da ApoB-100.
   (D) Ambas são encontradas nos quilomícrons maduros.
   (E) Ambas são encontradas nas lipoproteínas de muito baixa densidade.

4. Os sais biliares devem alcançar uma concentração particular dentro do lúmen intestinal para serem agentes efetivos na digestão de lipídeos. Por que isso ocorre?

   (A) A concentração de sais biliares deve ser igual à concentração de triacilgliceróis.
   (B) A solubilidade dos sais biliares no lúmen é um fator crucial.
   (C) A capacidade dos sais biliares de se ligarem à lipase é dependente de concentração.
   (D) Os sais biliares não podem ser reabsorvidos no íleo até que alcancem uma certa concentração.
   (E) Os sais biliares não ativam a lipase até que alcancem uma concentração particular.

5. A hiperlipidemia tipo III é causada pela deficiência da Apo-E. A análise do soro de pacientes com essa doença poderia apresentar qual das seguintes alternativas?

   (A) Uma ausência de quilomícrons após as refeições.
   (B) Níveis de VLDL acima do normal após as refeições.
   (C) Níveis normais de triglicerídeos.
   (D) Níveis elevados de triglicerídeos.
   (E) Níveis de triglicerídeos abaixo do normal.

33 Síntese de Ácidos Graxos, Triacilgliceróis e dos Principais Lipídeos de Membrana

Em seres humanos, os ácidos graxos são sintetizados principalmente no fígado, sendo a glicose da dieta a principal fonte de carbonos. A glicose é convertida, por meio da glicólise, em piruvato, o qual entra na mitocôndria e pode gerar tanto acetil-CoA quanto oxaloacetato (Fig. 33.1). Esses dois compostos se condensam, formando citrato, que é transportado para o ***citosol****, onde é clivado para formar acetil-CoA, a fonte de carbonos para as reações que ocorrem no complexo* ***ácido graxo sintase****. A enzima-chave regulatória para esse processo, a* ***acetil-CoA-carboxilase****, produz* ***malonil-CoA*** *a partir de acetil-CoA.*

A cadeia de ácido graxo em formação, ligada ao complexo ácido graxo sintase no citosol, é alongada pela adição seqüencial de unidades de dois carbonos fornecidas pelo malonil-CoA. O ***NADPH****, produzido pela* ***via da pentose-fosfato*** *e pela* ***enzima málica****, fornece os* ***equivalentes redutores****. Quando a cadeia de ácido graxo em formação está com o comprimento de 16 carbonos, ela é liberada como* ***palmitato****. Após a ativação para um derivado de CoA, o palmitato pode ser alongado e dessaturado para produzir uma série de ácidos graxos.*

Os ácidos graxos produzidos nas células ou obtidos da dieta são utilizados por vários tecidos para a síntese de ***triacilgliceróis*** *(a principal forma de armazenamento*

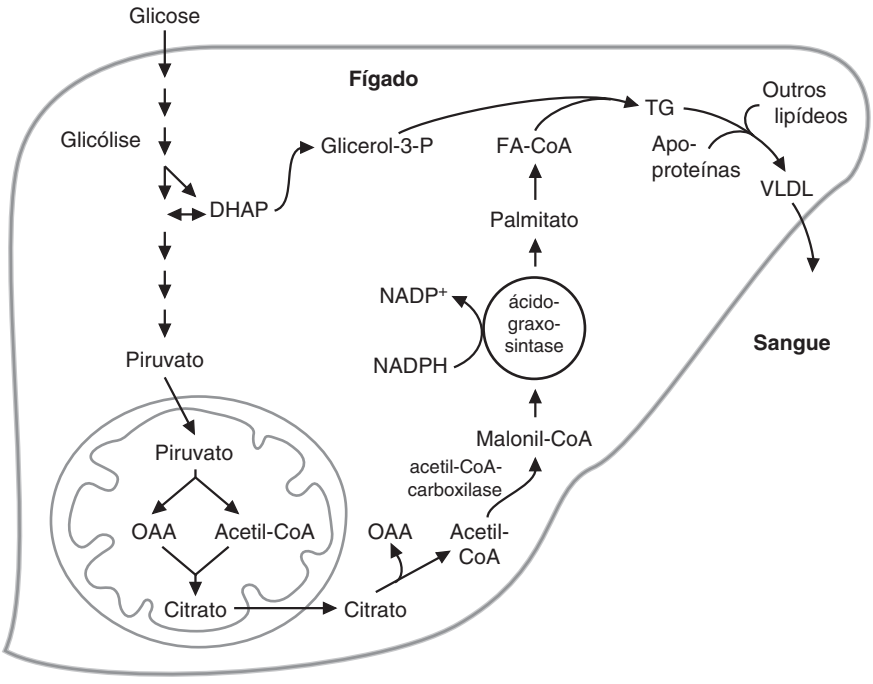


Figura 33.1 Lipogênese, a síntese de triacilgliceróis a partir de glicose. Em seres humanos, a síntese de ácidos graxos a partir de glicose ocorre principalmente no fígado. Os ácidos graxos (FA, do inglês ***f****atty* ***a****cids*) são convertidos em triacilgliceróis (TG), empacotados em VLDL e secretados para o sangue. OAA = oxaloacetato.

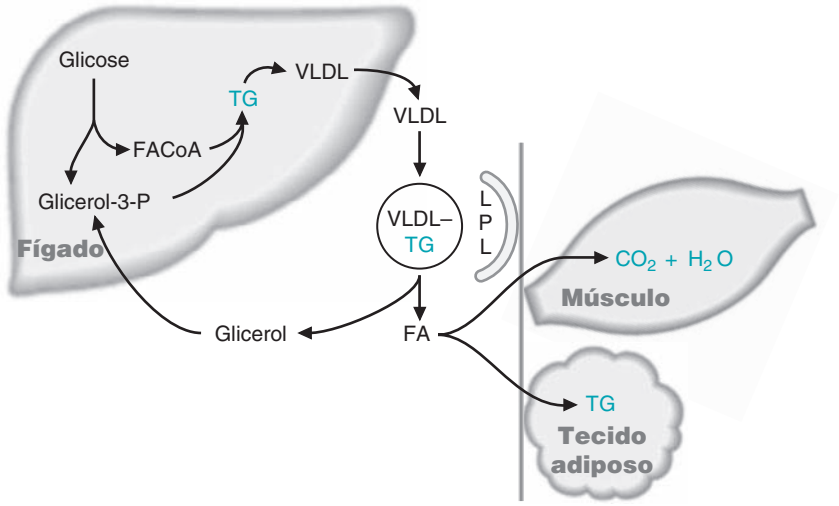


Figura 33.2 Destino do triacilglicerol (TG) da VLDL. O TG da VLDL, produzido no fígado, é digerido pela lipoproteína lipase (LPL) presente nas células que revestem os capilares do tecido muscular esquelético e do tecido adiposo. Os ácidos graxos são liberados e são oxidados ou armazenados nos tecidos sob a forma de TG. O glicerol é utilizado pelo fígado e por outros tecidos que contêm glicerol-quinase. FA = ácidos graxos (ou grupo acila).

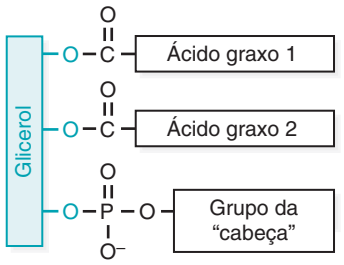


Figura 33.3 Estrutura geral de um glicerofosfolipídeo. Os ácidos graxos são ligados por pontes ésteres à porção glicerol. Várias combinações de ácidos graxos podem estar presentes. O ácido graxo no carbono 2 do glicerol normalmente é insaturado. O grupo da "cabeça" é o grupo ligado ao fosfato na posição 3 da porção glicerol. O mais comum grupo da "cabeça" é a colina, mas etanolamina, serina, inositol ou fosfatidilglicerol também podem estar presentes. O grupo fosfato é carregado negativamente, e o grupo da "cabeça" pode possuir uma carga positiva (colina ou etanolamina) ou ambas as cargas, positiva e negativa (serina). O inositol pode ser fosforilado e, assim, ficar carregado negativamente.

de substrato energético) e de ***glicerofosfolipídeos*** *e* ***esfingolipídeos*** *(os principais constituintes das membranas celulares).*

No fígado, os triacilgliceróis são produzidos a partir de acil-CoA e glicerol-3-fosfato. O ***ácido fosfatídico*** *serve como um intermediário nessa rota. Os triacilgliceróis não são armazenados no fígado; em vez disso, eles são empacotados, com apoproteínas e outros lipídeos, na* ***lipoproteína de muito baixa densidade*** *(****VLDL****) e são secretados para o sangue (Figura 33.1).*

Nos capilares de vários tecidos (especialmente em tecido adiposo, músculo e glândula mamária em lactação), a ***lipoproteína lipase*** *(****LPL****) digere os triacilgliceróis da VLDL, formando* ***ácidos graxos*** *e* ***glicerol*** *(Figura 33.2). O glicerol vai para o fígado e outros tecidos em que é utilizado. Uma certa quantidade dos ácidos graxos é oxidada pelos músculos e por outros tecidos. Após uma refeição, entretanto, a maior parte dos ácidos graxos é convertida em triacilgliceróis nas* ***células adiposas****, nas quais são* ***armazenados****. Tais ácidos graxos são liberados durante o jejum e servem como o substrato energético predominante para o organismo.*

Os ***glicerofosfolipídeos*** *também são sintetizados a partir dos acil-CoA, que formam ésteres com o glicerol-3-fosfato, produzindo ácido fosfatídico. Diversos grupos da "cabeça" são adicionados ao carbono 3 da porção glicerol-3-fosfato do ácido fosfatídico gerando compostos anfipáticos, como* ***fosfatidilcolina****,* ***fosfatidilinositol*** *e* ***cardiolipina*** *(Fiura 33.3). Na formação de* ***plasmalogênios*** *e de* ***fator de ativação plaquetária*** *(****PAF****, do* inglês **p**latelet-**a**ctivating **f**actor*), um álcool graxo de cadeia longa forma um* ***éter*** *com o carbono 1, substituindo o acil éster (Figura 33.4). A clivagem dos fosfolipídeos é catalisada por* ***fosfolipases*** *encontradas em membranas celulares, lisossomas e suco pancreático.*

Os ***esfingolipídeos****, que são prevalentes nas membranas e na bainha de mielina do sistema nervoso central, são formados sobre a* ***serina*** *em vez de sobre o glicerol. Na síntese de esfingolipídeos, a serina e a palmitil-CoA se condensam, formando um composto relacionado à* ***esfingosina****. A redução desse composto, seguida pela adição de um segundo ácido graxo em uma ligação amida, produz a* ***ceramida****. Os grupos carboidrato ligados à ceramida formam* ***glicolipídeos****, tais como* ***cerebrosídeos****,* ***globosídeos*** *e* ***gangliosídeos*** *(Fig. 33.5). A adição de* ***fosfocolina*** *à ceramida produz* ***esfingomielina****. Esses esfingolipídeos são degradados por enzimas lisossomais.*

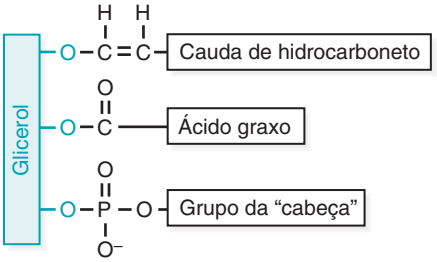
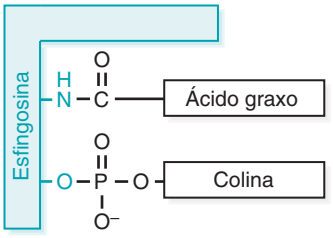
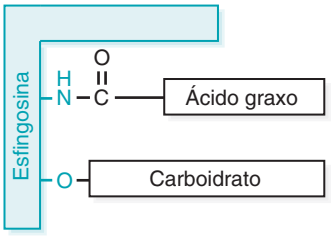


Figura 33.4 Estrutura geral de um plasmalogênio. O carbono 1 do glicerol é ligado a um álcool graxo de cadeia longa por uma ligação éter. O grupo álcool graxo tem uma ligação dupla entre os carbonos 1 e 2. Em geral, o grupo da "cabeça" é a etanolamina ou a colina.



Esfingomielina



Glicolipídeo

Figura 33.5 Estrutura geral dos esfingolipídeos. O "esqueleto" é uma esfingosina em vez de um glicerol. A ceramida é uma esfingosina com um ácido graxo ligado ao seu grupo amina por uma ligação amida. A esfingomielina contém fosfocolina, enquanto os glicolipídeos contêm grupos de carboidratos.

A nutricionista fez uma análise cuidadosa da dieta de **Percy Veere**, que era pobre em lipídeos, adequada em proteínas, mas com excesso de carboidratos, especialmente açúcares refinados. A ingestão calórica total de Percy era, em média, de aproximadamente 430 quilocalorias (kcal) por dia em excesso às suas necessidades isocalóricas. Esse excesso de carboidratos vinha sendo convertido em gorduras responsáveis pelo ganho de peso de Percy. Uma nova dieta foi prescrita com conteúdo calórico total que previne a continuidade do ganho de peso.

SALA DE ESPERA

A depressão de **Percy Veere** lentamente respondeu à medicação antidepressiva, às sessões de terapia com o psiquiatra e às visitas freqüentes de uma antiga namorada de colégio cujo marido morreu há vários anos. Enquanto estava hospitalizado por desnutrição, o apetite do Sr. Veere retornou. Na época de sua alta, ele tinha recuperado 3,6 kg dos 10 kg que ele tinha perdido e pesava 60,3 kg.

Durante os primeiros meses seguintes, o Sr. Veere desenvolveu um apetite por "alimentos doces", como as balas que ele comprava e compartilhava com sua nova amiga. Após seis meses desse namoro rico em carboidratos, Percy tinha ganho mais 10 kg e pesava 70,3 kg, apenas 3,6 kg a mais do que pesava quando sua depressão começou. Ele ficou preocupado com a possibilidade de logo ficar com sobrepeso e consultou sua nutricionista, explicando que tinha seguido fielmente sua dieta com pouca gordura, mas que tinha exagerado com os carboidratos. Ele perguntou se era possível ficar gordo sem comer gordura.

A hipertensão e a insuficiência cardíaca de **Cora Nari** foram bem controladas com medicação, e ela perdeu 4,5 kg desde que teve infarto miocárdico recente. Seu perfil lipídico sérico de jejum na alta hospitalar indicava um nível elevado de LDL-colesterol (colesterol de lipoproteína de baixa densidade) de 175 mg/dL (nível recomendado para um paciente sabidamente com doença coronariana = 100 mg/dL ou menos), um nível de triacilglicerol sérico de 280 mg/dL (valores de referência = 60 a 150) e um nível de HDL-colesterol (colesterol de lipoproteína de alta densidade) de 34 mg/dL (valores de referência > 50 para mulheres saudáveis). Enquanto ainda estava no hospital, foi solicitado que ela obtivesse os perfis lipídicos séricos mais recentes de seu irmão mais velho e de sua irmã mais nova, os quais tinham sentido dores no peito. O perfil de seu irmão mostrou triacilgliceróis normais, LDL-colesterol moderadamente elevado e níveis de HDL-colesterol significativamente diminuídos. O perfil de sua irmã mostrou apenas hipertrigliceridemia (alto nível de triacilgliceróis no sangue).

Colleen Lakker nasceu 6 semanas prematuramente. Ela parecia normal até cerca de 30 minutos após o parto, quando sua respiração se torna rápida – 64 respirações/minuto com murmúrio respiratório. Os espaços entre as costelas (espaços intercostais) se retraíam para dentro a cada inspiração, e seus lábios e dedos ficaram cianóticos por falta de oxigênio em seu sangue arterial. Uma amostra de sangue arterial indicou baixa pressão parcial de oxigênio (pO_2) e pressão parcial de dióxido de carbono (pCO_2) levemente elevada. O pH arterial estava um pouco diminuído, em parte por um acúmulo de ácido lático secundário à hipoxemia (um nível baixo de oxigênio em seu sangue). Um raio X de tórax mostrou uma granularidade reticular fina do tecido pulmonar, especialmente na área do lobo esquerdo inferior. A partir dessas informações clínicas, foi feito um diagnóstico de síndrome de angústia respiratória (SAR), também conhecida como doença da membrana hialina.

Colleen foi imediatamente transferida para a unidade de cuidados intensivos neonatais onde, com terapia respiratória intensiva, ela lentamente melhorou.

I. SÍNTESE DE ÁCIDO GRAXO

Ácidos graxos são sintetizados sempre que um excesso de calorias for ingerido. A principal fonte de carbono para a síntese de ácidos graxos são os carboidratos da dieta. Um excesso de proteínas na dieta também pode resultar em um aumento na síntese de ácidos graxos. Nesse caso, a fonte de carbonos são aqueles aminoácidos que podem ser convertidos em acetil-CoA ou em intermediários do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) (ver Capítulo 39). Em seres humanos, a síntese de ácidos graxos ocorre principalmente no fígado, embora também ocorra no tecido adiposo.

Quando um excesso de carboidrato é consumido na dieta, a glicose é convertida em acetil-CoA, a qual fornece unidades de 2 carbonos que se condensam em uma série de reações no complexo ácido-graxo-sintase, produzindo palmitato (ver Figura 33.1). O palmitato é, então, convertido em outros ácidos graxos. O complexo ácido-graxo-sintase está localizado no citosol e, portanto, utiliza acetil-CoA citosólico.

A. Conversão de Glicose em Acetil-CoA Citosólico

A rota para a síntese de acetil-CoA citosólico a partir de glicose começa com a glicólise, que converte glicose em piruvato no citosol (Figura 33.6). O piruvato entra na mitocôndria, onde é convertido em acetil-CoA pela piruvato desidrogenase e em oxaloacetato pela piruvato-carboxilase. A via pela qual o piruvato vai seguir é determinada pelos níveis de acetil-CoA na mitocôndria. Quando tais níveis estão altos, a piruvato-desidrogenase está inibida, e a atividade da piruvato-carboxilase, estimulada. Conforme os níveis de oxaloacetato aumentam, pela atividade da piruvato-carboxilase, o oxaloacetato se condensa com o acetil-CoA para formar citrato. Essa condensação reduz os níveis de acetil-CoA, o que leva à ativação da piruvato-desidrogenase e à inibição da piruvato-carboxilase. Por meio dessa regulação recíproca, o citrato pode ser continuamente sintetizado e transportado através da membrana mitocondrial interna. No citosol, o citrato é clivado pela citrato-liase para formar, novamente, acetil-CoA e oxaloacetato. Essa rota circular é necessária porque a piruvato-desidrogenase, a enzima que converte piruvato em acetil-CoA, só é encontrada na mitocôndria e porque o acetil-CoA não pode atravessar diretamente a membrana mitocondrial.

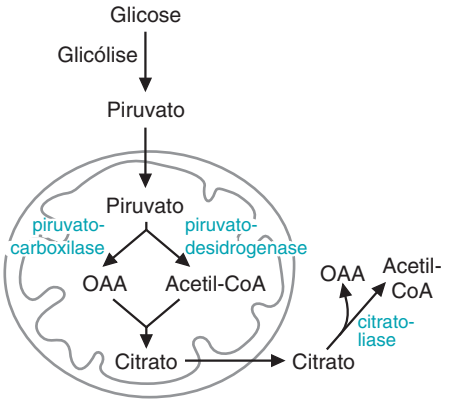


Figura 33.6 Conversão de glicose em acetil-CoA citosólico. OAA = oxaloacetato.

O NADPH necessário para a síntese de ácidos graxos é produzido pela via da pentose-fosfato (ver Capítulo 29) e pela reciclagem do oxaloacetato produzido pela citrato-liase (Figura 33.7). O oxaloacetato é convertido de volta em piruvato por duas reações: a redução do oxaloacetato à malato pela malato-desidrogenase dependente de NAD^+ e pela descarboxilação oxidativa de malato à piruvato pela malato-desidrogenase dependente de $NADP^+$ (enzima málica) (Figura 33.8). O piruvato formado pela enzima málica é reconvertido em citrato. O NADPH que é gerado pela enzima málica, adicionalmente ao gerado pelas desidrogenases da glicose-6-fosfato e da gluconato-6-fosfato na via da pentose-fosfato, é utilizado para as reações de redução que ocorrem no complexo ácido graxo sintase (Figura 33.9).

A produção de acetil-CoA citosólico a partir de piruvato é estimulada pelo aumento da relação insulina/glucagon, após uma refeição de carboidratos. A insulina ativa a piruvato-desidrogenase pela estimulação da fosfatase que desfosforila a enzima para uma forma ativa (ver Capítulo 20). A síntese de enzima málica, glicose-6-fosfato-desidrogenase e citrato-liase é induzida pela razão insulina/glucagon alta. A capacidade do citrato em acumular-se e deixar a matriz mitocondrial para a síntese de ácidos graxos

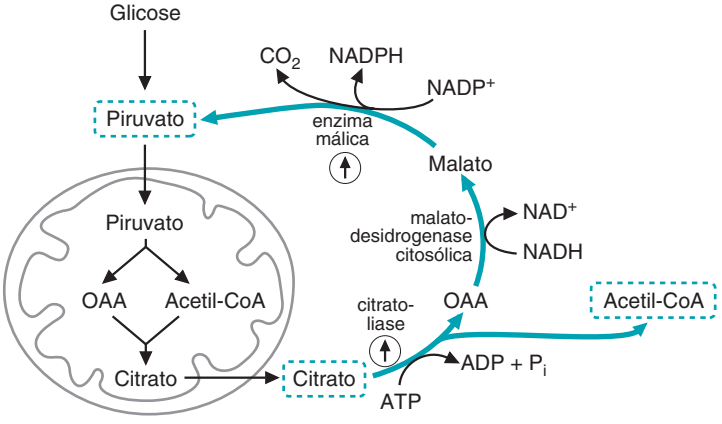


Figura 33.7 Destino do citrato no citosol. A citrato-liase também é chamada de enzima de clivagem de citrato. OAA = oxaloacetato; ↑ circulada = enzima induzível.

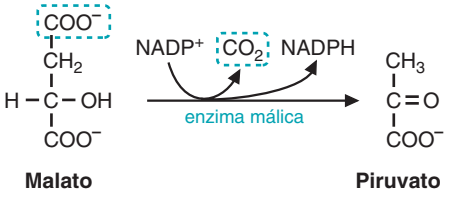


Figura 33.8 Reação catalisada pela enzima málica. Essa enzima também é chamada malato-desidrogenase descarboxilante ou dependente de NADP.

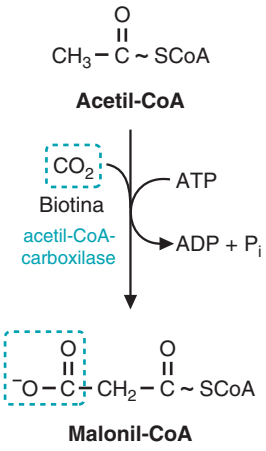


Figura 33.10 Reação catalisada pela acetil-CoA-carboxilase. O CO_2 é ligado covalentemente à biotina, que é unida por uma ligação amida ao grupo ε-amina de um resíduo de lisina da enzima. A hidrólise de ATP é necessária para a ligação do CO_2 à biotina.



O AMP é um indicador muito mais sensível de baixos níveis energéticos devido à reação da adenilato-quinase. A razão [AMP] para [ATP] é proporcional ao quadrado da razão [ADP] para [ATP], e, portanto, uma alteração de cinco vezes nos níveis de ADP corresponde a uma mudança de 25 vezes nos níveis de AMP.

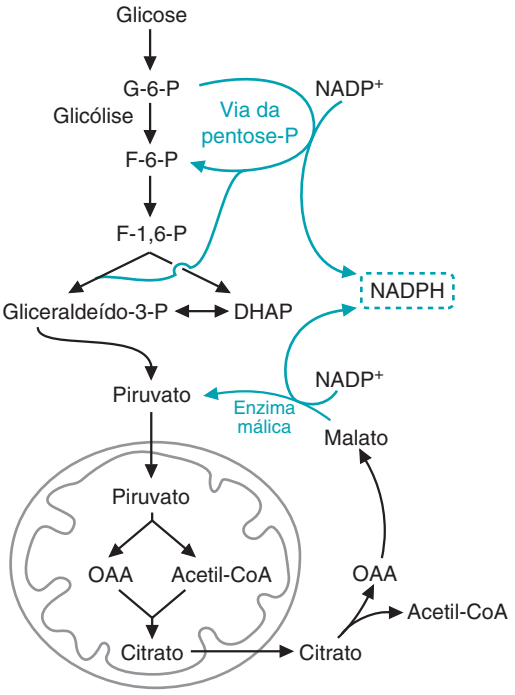


Figura 33.9 Fontes de NADPH para a síntese de ácidos graxos. O NADPH é produzido pela via da pentose-fosfato e pela enzima málica. OAA = oxaloacetato.

é atribuída à inibição alostérica da isocitrato-desidrogenase pelo alto nível energético dentro da matriz, sob essas condições. A regulação coordenada da glicólise e da síntese de ácidos graxos é descrita no Capítulo 36.

B. Conversão de Acetil-CoA em Malonil-CoA

O acetil-CoA citosólico é convertido em malonil-CoA, o qual serve como doador imediato de unidades de 2 carbonos que são adicionadas à cadeia de ácido graxo em formação no complexo ácido-graxo-sintase. Para sintetizar malonil-CoA, a acetil-CoA-carboxilase adiciona um grupo carboxila ao acetil-CoA em uma reação que requer biotina e adenosina-trifosfato (ATP) (Figura 33.10).

A acetil-CoA-carboxilase é a enzima limitante da síntese de ácidos graxos. Sua atividade é regulada por fosforilação, modificação alostérica e indução/repressão de sua síntese (Figura 33.11). O citrato ativa alostericamente a acetil-CoA-carboxilase por causar a polimerização de moléculas individuais da enzima (cada uma composta por 4 subunidades). O palmitil-CoA, produzido a partir do palmitato (o produto final da atividade da ácido-graxo-sintase), inibe a acetil-CoA-carboxilase. A fosforilação causada por uma proteína-quinase AMP-dependente inibe a enzima durante o estado de jejum, quando os níveis de energia estão baixos. A enzima é ativada por desfosforilação durante o estado alimentado, quando os níveis de energia e insulina estão altos. Uma razão insulina/glucagon alta também provoca a indução da síntese da acetil-CoA-carboxilase e da próxima enzima da rota, a ácido-graxo-sintase.

C. Complexo Ácido-Graxo-Sintase

De modo resumido, a ácido-graxo-sintase adiciona, seqüencialmente, unidades de 2 carbonos do malonil-CoA à cadeia do ácido graxo em formação para produzir palmitato. Após essa adição, a cadeia em formação é submetida a duas reações de redução que requerem NADPH.

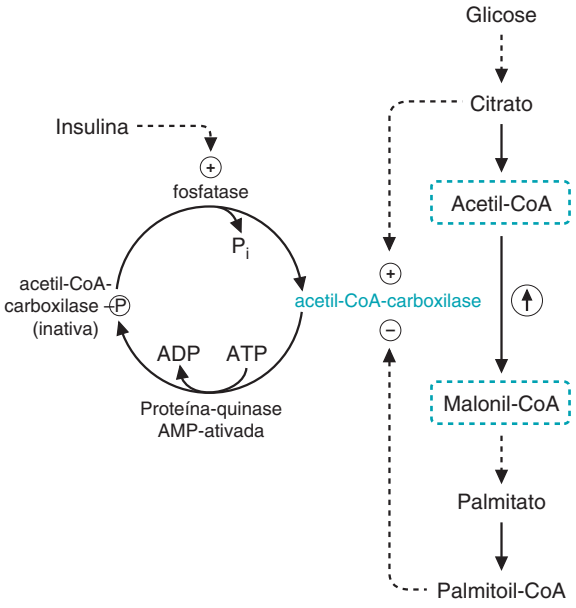


Figura 33.11 Regulação da acetil-CoA-carboxilase. Tal enzima é regulada alostericamente, tanto positiva quanto negativamente, por fosforilação (P circulado) e desfosforilação e por indução dieta-estimulada (↑ circulada). Ela é ativa no estado desfosforilado, quando o citrato provoca a sua polimerização. A desfosforilação é catalisada por uma fosfatase insulina-estimulada. Baixos níveis de energia, via ativação de uma proteína-quinase AMP-dependente, causam a inativação da enzima por fosforilação. O produto final da síntese de ácidos graxos, o palmitato, é convertido em seu derivado de CoA, o palmitil-CoA, que inibe a enzima. Uma dieta hipercalórica aumenta a velocidade de transcrição do gene da acetil-CoA-carboxilase, enquanto uma dieta hipocalórica reduz a transcrição desse gene.

A ácido-graxo-sintase é uma enzima grande composta de dois dímeros idênticos, cada um com sete atividades catalíticas e um segmento de proteína carreadora de acil (ACP, do inglês ***a**cyl **c**arrier **p**rotein*) em uma cadeia polipeptídica contínua. O segmento ACP contém um resíduo de fosfopanteteína que é derivado da clivagem da coenzima A (Figura 33.12). Os dois dímeros se associam em um arranjo cabeça-cauda de forma que o grupo sulfidrila do resíduo fosfopanteteinil de uma subunidade e o sulfidrila do cisteinil da outra subunidade estejam intimamente alinhados.

Na etapa inicial da síntese de ácidos graxos, uma porção acetil é transferida do acetil-CoA para o grupo sulfidrila do fosfopanteteinil-ACP de uma subunidade e, então, para o grupo sulfidrila do cisteinil da outra subunidade. A porção malonil do malonil-CoA se liga, então, ao grupo sulfidrila do fosfopanteteinil-ACP da primeira subunidade. As porções acetil e malonil se condensam, com a liberação do grupo carboxila do malonil como CO_2. Uma cadeia α-cetoacil de 4 carbonos está agora ligada ao grupo sulfidrila do fosfopanteteinil-ACP (Figura 33.13).

Uma série de três reações reduz o grupo ceto de 4 carbonos a um álcool, remove água para formar uma ligação dupla e reduz essa ligação (Figura 33.14). O NADPH fornece os equivalentes redutores para essas reações. O resultado líquido é o alongamento com 2 carbonos do grupo acetila original.

A cadeia acil de 4 carbonos é, então, transferida para o grupo sulfidrila do cisteinil e, subseqüentemente, condensa-se com um grupo malonil. Essa seqüência de reações é repetida até que a cadeia tenha 16 carbonos de comprimento. Nesse ponto, ocorre uma hidrólise, e o palmitato é liberado (Figura 33.15).

O palmitato é alongado e dessaturado para produzir uma série de ácidos graxos. No fígado, o palmitato e outros ácidos graxos recém-sintetizados são convertidos em triacilgliceróis que são empacotados em VLDL para secreção.

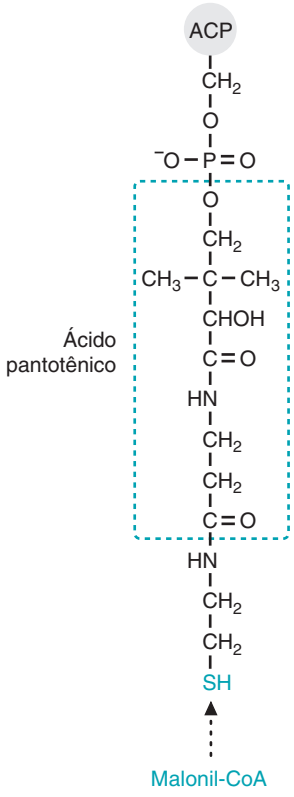


Figura 33.12 Resíduo fosfopanteteinil do complexo ácido-graxo-sintase. A porção derivada da vitamina (ácido pantotênico) está indicada na figura. A fosfopanteteína é covalentemente ligada a um resíduo de serina de um segmento da enzima chamado proteína carreadora de acil (ACP, do inglês ***a**cyl **c**arrier **p**rotein*). O grupo sulfidrila reage com malonil-CoA para formar um tioéster.

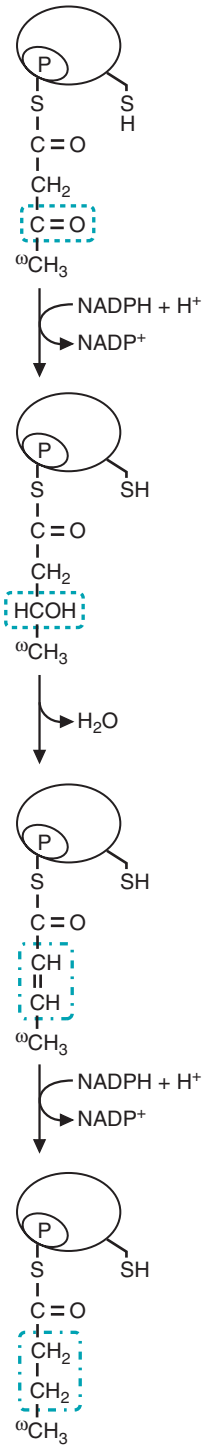


Figura 33.14 Redução de um grupo β-cetoacil no complexo ácido-graxo-sintase. NADPH é o agente redutor.

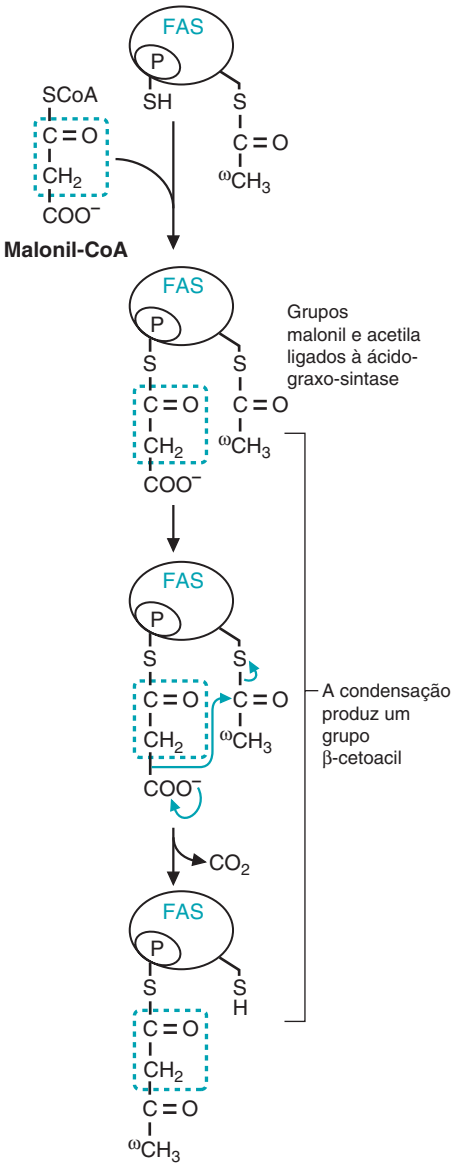


Figura 33.13 Adição de uma unidade de 2 carbonos a um grupo acetila na ácido-graxo-sintase. O grupo malonil se liga ao resíduo fosfopanteteinil (P) da ACP da ácido-graxo-sintase. O grupo acetila, que está ligado a um grupo sulfidrila do cisteinil, condensa-se com o grupo malonil. CO_2 é liberado, e um grupo 3-cetoacil é formado. O carbono que finalmente forma o grupo ω-metila do palmitato é designado ω.

Também no fígado, a oxidação dos ácidos graxos recém-sintetizados de volta à acetil-CoA, pela rota da β-oxidação mitocondrial, é prevenida pelo malonil-CoA. A carnitina-palmitoil-transferase I, enzima envolvida no transporte de ácidos graxos de cadeia longa para dentro da mitocôndria (ver Capítulo 23), é inibida por malonil-CoA (Figura 33.16). Os níveis de malonil-CoA estão elevados quando a acetil-CoA-carboxilase estiver ativada e, assim, a oxidação de ácidos graxos é inibida quando sua síntese estiver acontecendo. Essa inibição previne a ocorrência de um ciclo sem que haja a necessidade.

Q: Onde o grupo metila do primeiro acetil-CoA que se liga na ácido-graxo-sintase aparece no palmitato, o produto final?

D. Elongação dos Ácidos Graxos

Após a síntese no complexo ácido-graxo-sintase, o palmitato é "ativado", formando palmitil-CoA. Esse e outros ácidos graxos de cadeia longa ativados podem ser alongados, com 2 carbonos por vez, por uma série de reações que ocorrem no retículo endo-

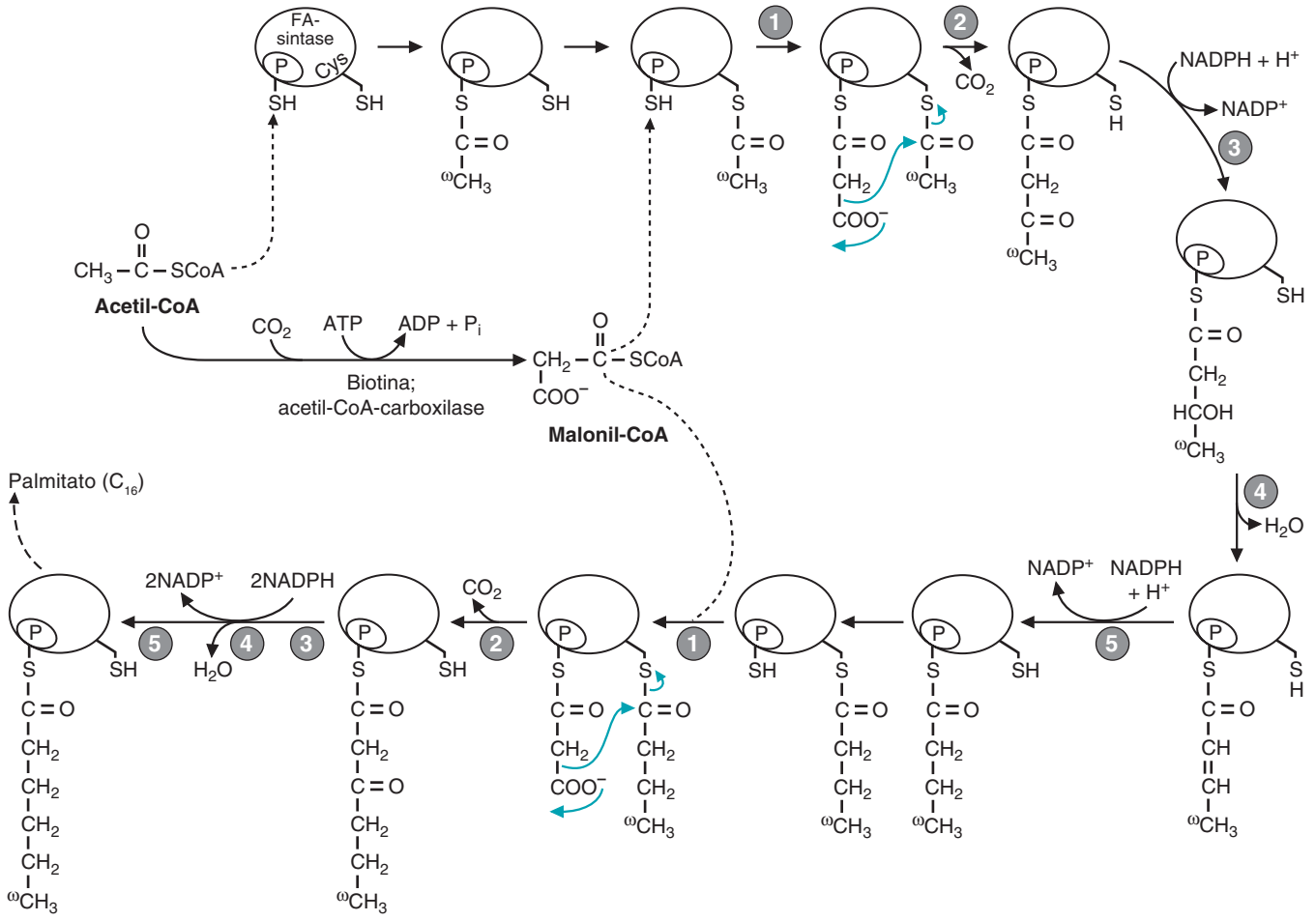


Figura 33.15 Síntese de palmitato no complexo ácido-graxo-sintase. Inicialmente, acetil-CoA é adicionado à sintase. Ele fornece o grupo ω-metila do palmitato. O malonil-CoA fornece as unidades de 2 carbonos que são adicionadas à cadeia acil em formação. Os passos de adição e redução são repetidos até que o palmitato seja produzido. 1. Transferência do grupo malonil para o resíduo fosfopanteteinil. 2. Condensação dos grupos malonil e acila. 3. Redução do grupo β-cetoacil. 4. Desidratação. 5. Redução da ligação dupla. P = grupo fosfopanteteinil ligado ao complexo ácido graxo sintase; Cys-SH = resíduo cisteinil.

plasmático (Figura 33.17). O malonil-CoA serve como doador de unidades de 2 carbonos, e o NADPH fornece os equivalentes redutores. As séries de reações de elongação se assemelham àquelas da síntese de ácidos graxos, exceto por a cadeia de acil estar ligada à coenzima A, e não ao resíduo fosfopanteteinil de uma ACP. A principal reação de elongação que ocorre no organismo envolve a conversão de palmitil-CoA (C16) em estearil-CoA (C18). Os ácidos graxos de cadeia muito longa (C22 a C24) também são produzidos, particularmente no cérebro.

E. Dessaturação dos Ácidos Graxos

A dessaturação dos ácidos graxos envolve um processo que requer oxigênio molecular (O_2), NADH e citocromo b_5. A reação, que ocorre no retículo endoplasmático, resulta na oxidação tanto de ácido graxo quanto de NADH (Figura 33.18). As reações de dessaturação mais comuns envolvem a colocação de uma ligação dupla entre os carbonos 9 e 10 na conversão do ácido palmítico em ácido palmitoléico (16:1, Δ^9) e de ácido esteárico em ácido oléico (18:1, Δ^9). Em seres humanos, outras posições podem ser dessaturadas incluindo os carbonos 4, 5 e 6.

Os ácidos graxos poliinsaturados com ligações duplas a três e a seis carbonos da terminação metila (ácidos graxos ω3 e ω6, respectivamente) são necessários para a síntese de eicosanóides (ver Capítulo 35). Como os seres humanos não podem sintetizar

R: O grupo metila do acetil-CoA se torna o carbono ω (o grupo metila terminal) do palmitato. Cada nova unidade de 2 carbonos é adicionada à carboxila terminal da cadeia acil em formação (ver Figura 33.13).

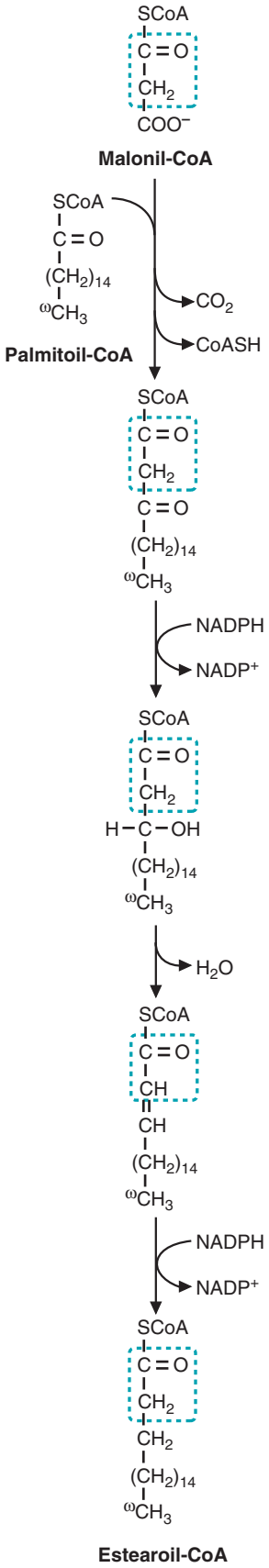


Figura 33.17 Elongação de ácidos graxos de cadeia longa no retículo endoplasmático.

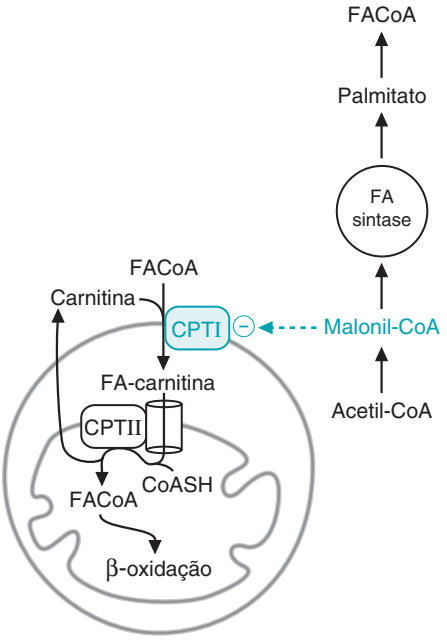


Figura 33.16 Inibição da carnitina-palmitoil-transferase I (CPTI; também chamada carnitina-acil-transferase I) pelo malonil-CoA. Durante a síntese de ácidos graxos, os níveis de malonil-CoA estão altos. Esse composto inibe a CPTI, que está envolvida no transporte de ácidos graxos de cadeia longa para dentro da mitocôndria para a β-oxidação. Tal mecanismo previne que os ácidos graxos recém-sintetizados sejam imediatamente oxidados.

esses ácidos graxos *de novo* (ou seja, a partir da glicose via palmitato), eles devem estar presentes na dieta, ou ela deve conter outros ácidos graxos que possam ser convertidos em eicosanóides. Os ácidos graxos poliinsaturados ω6 e ω3 são obtidos principalmente de óleos vegetais da dieta, os quais contêm os ácidos graxos ω6 ácido linoléico (18:2, $\Delta^{9,12}$) e ω3 ácido α-linolênico (18:3, $\Delta^{9,12,15}$). No corpo, o ácido linoléico pode ser convertido, por reações de elongação e dessaturação, em ácido araquidônico (20:4, $\Delta^{5,8,11,14}$), utilizado para a síntese da principal classe de prostaglandinas humanas e outros eicosanóides (Figura 33.19). A elongação e dessaturação do ácido α-linolênico produz o ácido eicosapentaenóico (EPA; 20:5, $\Delta^{5,8,11,14,17}$), que é o precursor de uma classe diferente de eicosanóides (ver Capítulo 35).

As plantas são capazes de introduzir ligações duplas em ácidos graxos na região entre C10 e o ω terminal e, portanto, podem sintetizar ácidos graxos poliinsaturados ω3 e ω6. Os óleos de peixes também contêm ácidos graxos ω3 e ω6, particularmente os ácidos eicosapentaenóico (EPA; ω3, 20:5, $\Delta^{5,8,11,14,17}$) e docosaexaenóico (DHA; ω3, 22:6, $\Delta^{4,7,10,13,16,19}$). O peixe obtém esses ácidos graxos pela ingestão de fitoplâncton (plantas que flutuam na água).

O ácido araquidônico é citado nos livros-texto como um ácido graxo essencial. Embora seja um ácido graxo ω6, não é essencial na dieta se o ácido linoléico estiver presente, pois o ácido araquidônico pode ser sintetizado a partir do ácido linoléico da dieta (ver Figura 33.19)

O ácido graxo essencial ácido linoléico é necessário na dieta por, pelo menos, três razões: (a) Serve como precursor do ácido araquidônico, a partir do qual os eicosanóides são produzidos. (b) Liga-se covalentemente a um outro ácido graxo ligado a cerebrosídeos na pele, formando um lipídeo incomum (a acilglucosilceramida) que ajuda a deixar a pele impermeável à água. Essa função do ácido linoléico pode ajudar a explicar a dermatite escamosa e outros problemas de pele associados à deficiência de ácidos graxos essenciais na dieta. (c) É o precursor do ω3 C22:6, um importante ácido graxo neuronal.

O outro ácido graxo essencial, o ácido α-linolênico (18:3, $\Delta^{9,12,15}$) também forma eicosanóides.

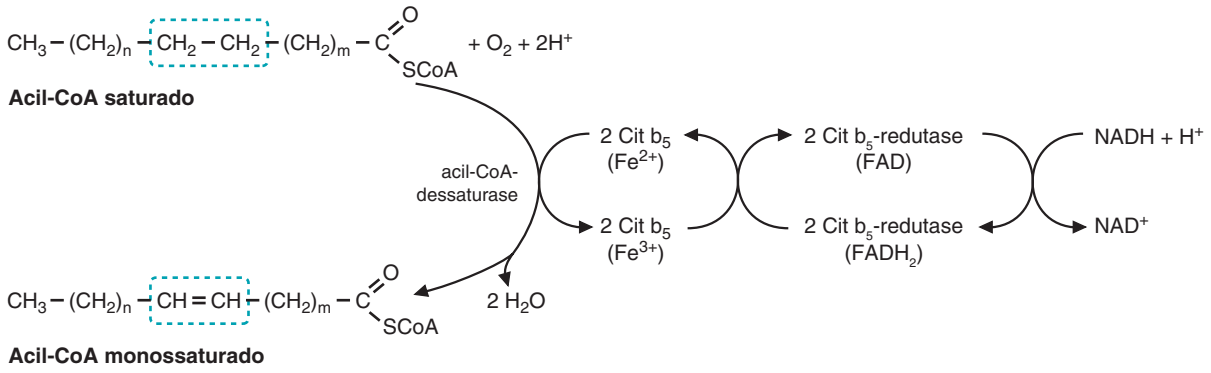


Figura 33.18 Dessaturação de ácidos graxos. O processo ocorre no retículo endoplasmático e utiliza oxigênio molecular. Tanto o ácido graxo quanto o NADH são oxidados. Em seres humanos, as dessaturases não podem introduzir ligações duplas entre os carbonos 9 e o metil terminal. Portanto, m é igual ou menor do que 7.

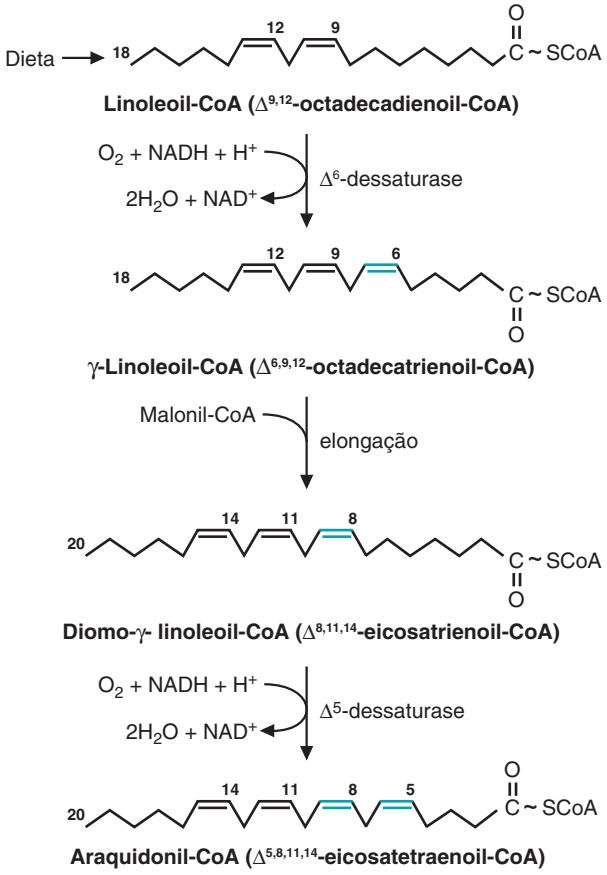


Figura 33.19 Conversão de ácido linoléico em ácido araquidônico. O ácido linoléico da dieta (como linoleoil-CoA) é dessaturado no carbono 6, elongado por 2 carbonos e, então, dessaturado no carbono 5 para produzir araquidonil-CoA.

II. SÍNTESE DE TRIACILGLICERÓIS E DE PARTÍCULAS DE VLDL

No fígado e no tecido adiposo, os triacilgliceróis são produzidos por uma rota que possui o ácido fosfatídico como um intermediário (Figura 33.20). O ácido fosfatídico também é o precursor dos glicolipídeos encontrados nas membranas celulares e nas lipoproteínas do sangue.

As fontes de glicerol-3-fosfato, o qual fornece a porção glicerol para a síntese de triacilgliceróis, são diferentes no fígado e no tecido adiposo. No fígado, o glicerol-3-fosfato é produzido a partir da fosforilação do glicerol pela glicerol-quinase e da

Experimentos recentes mostraram uma atividade funcional da glicerol-quinase em células musculares. O significado desse achado está em investigação, mas ele pode indicar que o músculo tenha uma capacidade de síntese de ácidos graxos maior do que se acreditava.

redução da diidroxiacetona-fosfato derivada da glicólise. O tecido adiposo não possui glicerol-quinase e só pode produzir glicerol-3-fosfato a partir da glicose via diidroxiacetona-fosfato. Dessa forma, o tecido adiposo pode estocar ácidos graxos apenas quando a glicólise estiver ativada, isto é, no estado alimentado.

Tanto no tecido adiposo quanto no fígado, os triacilgliceróis são produzidos por uma via na qual o glicerol-3-fosfato reage com o acil-CoA para formar o ácido fosfatí-

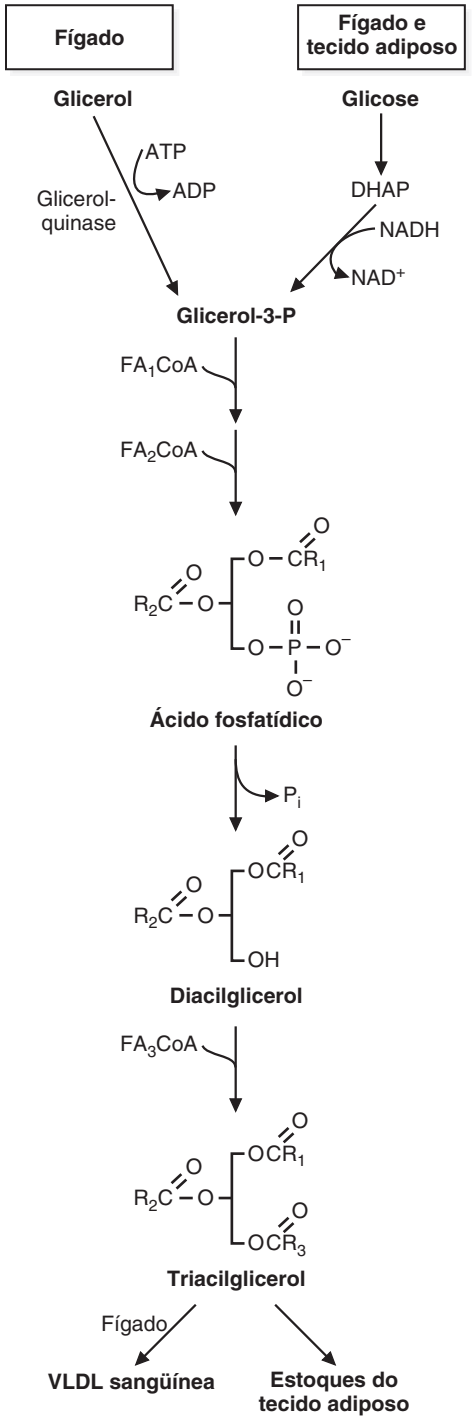
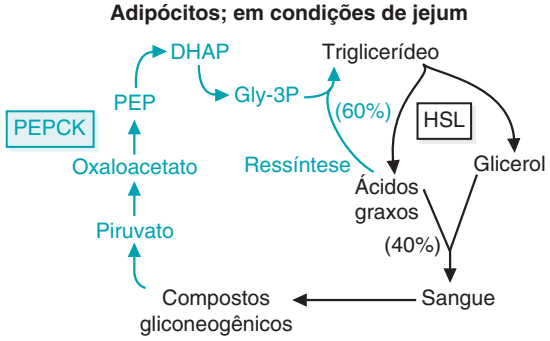


Figura 33.20 Síntese de triacilglicerol no fígado e no tecido adiposo. Glicerol-3-fosfato é produzido a partir de glicose nos dois tecidos. Ele também é produzido a partir do glicerol no fígado, mas não no tecido adiposo, que não possui glicerol-quinase. Os passos a partir do glicerol-3-fosfato são os mesmos nos dois tecidos. FA = grupo acila.

O tecido adiposo também realiza gliceroneogênese, o processo de síntese de glicerol a partir de precursores gliconeogênicos do sangue, tais como alanina, aspartato e malato. A gliceroneogênese ocorre principalmente no estado de jejum e é dependente da indução da PEPCK citoplasmática no adipócito. A ressíntese dos triglicerídeos pelo tecido adiposo durante o jejum modula a liberação de ácidos graxos na circulação. Camundongos que foram manipulados geneticamente para não expressar a PEPCK no tecido adiposo apresentaram níveis reduzidos de triglicerídeos em seus adipócitos; camundongos que superproduziam PEPCK de adipócitos eram obesos. Assim, embora a ativação da lipase hormônio-sensível durante o jejum resulte na liberação de ácidos graxos pelos adipócitos, essa liberação é cuidadosamente modulada pela gliceroneogênese e pela ressíntese de triglicerídeos.



dico. A desfosforilação do ácido fosfatídico produz diacilglicerol. Um outro acil-CoA reage com o diacilglicerol para formar um triacilglicerol (ver Figura 33.20).

O triacilglicerol que é produzido no retículo endoplasmático liso do fígado é empacotado com colesterol, fosfolipídeos e proteínas (sintetizadas no retículo endoplasmático rugoso) para formar VLDL (Figura 33.21). A proteína microssomal de transferência de triglicerídeos (MTP, do inglês ***m**icrosomal **t**riglyceride transfer **p**rotein*), que é necessária para a montagem de quilomícron, também é necessária para a montagem da VLDL. A principal proteína da VLDL é a apoB-100; há uma molécula longa de tal proteína enrolada pela superfície de cada partícula de VLDL. A apoB-100 é codificada pelo mesmo gene da apoB-48 dos quilomícrons, mas é uma proteína maior (ver Figura 32.11). Nas células intestinais, a edição do RNA produz um mRNA menor e, portanto, uma proteína menor, a apoB-48.

A VLDL é processada no complexo de Golgi e secretada para o sangue pelo fígado (Figuras 33.22 e 33.23). Os resíduos de ácidos graxos dos triacilgliceróis são finalmente armazenados nas células adiposas como triacilgliceróis. Em comparação com os quilomícrons (ver Capítulo 32), as partículas de VLDL são mais densas, pois contêm um percentual menor de triglicerídeos. Assim como os quilomícrons, as partículas de VLDL são sintetizadas em uma forma "nascente" e, ao entrarem na circulação, recebem as apoproteínas C_{II} e E a partir das partículas de HDL, tornando-se partículas de VLDL maduras.

A abetalipoproteinemia, que é devida à deficiência da atividade da MTP (proteína microssomal de transferência de triglicerídeos; ver Capítulo 32), resulta na incapacidade para montar tanto as partículas de quilomícron no intestino quanto as de VLDL no fígado.

Q: Por que alguns alcoólicos têm altos níveis de VLDL?

9. O fato de vários perfis diferentes anormais de lipoproteínas terem sido observados em **Cora Nari** e seus irmãos, e de cada um apresentar evidências de doença arterial coronariana, sugere que Cora tenha hiperlipidemia combinada familiar (FCH, do inglês ***f**amilial **c**ombined **h**iperlipidemia*). Essa impressão diagnóstica é reforçada pelo achado de que as anormalidades do perfil lipídico de Cora pareceram mudar um pouco de uma determinação para outra, o que é uma característica da FCH. Acredita-se que essa doença hereditária do metabolismo dos lipídeos seja muito comum, com uma prevalência estimada de 1 para 100 na população.

Os mecanismos da FCH são parcialmente compreendidos, mas podem envolver um aumento geneticamente determinado da produção da apoproteína B-100. Como resultado, o empacotamento da VLDL está aumentado, e os níveis sangüíneos de VLDL podem estar elevados. Dependendo da eficiência da lipólise de VLDL pela LPL, os níveis de VLDL podem estar normais, e os de LDL podem estar elevados, ou, então, ambos os níveis podem estar elevados. Além disso, a expressão fenotípica da FCH em qualquer membro de uma dada família pode ser determinada pelo grau de obesidade associada, pela dieta, pelo uso de fármacos específicos ou por outros fatores que se alterem com o tempo.

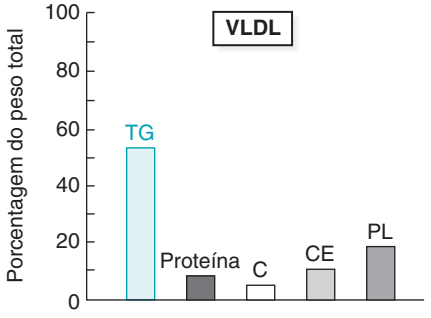


Figura 33.21 Composição de uma partícula de VLDL típica. O principal constituinte é o triacilglicerol (TG). C = colesterol; CE = colesterol esterificado; PL = fosfolipídeo.

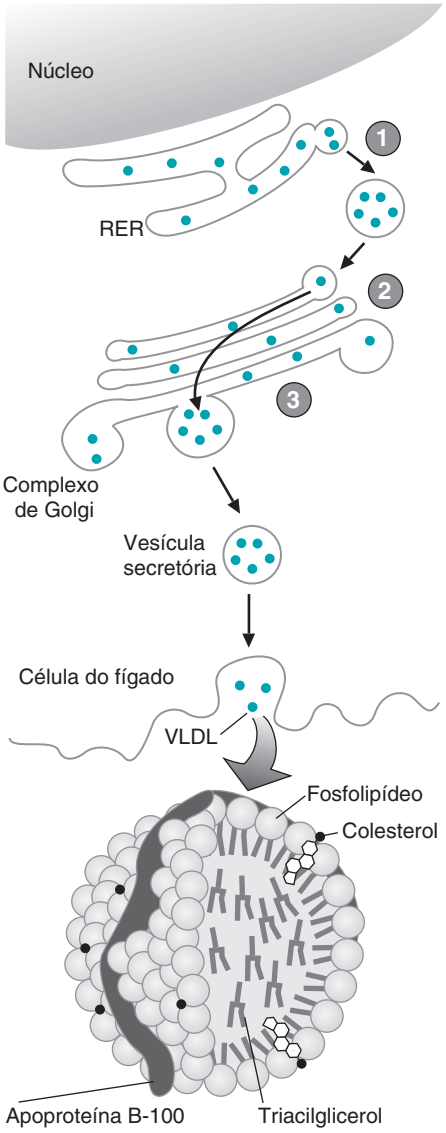


Figura 33.23 Síntese, processamento e secreção de VLDL. Proteínas sintetizadas no retículo endoplasmático rugoso (RER) são empacotadas com triacilgliceróis no RE e no complexo de Golgi para formar VLDL. As VLDL são transportadas para as membranas celulares nas vesículas secretórias e são secretadas por exocitose. Os pontos azuis representam as partículas de VLDL. Uma partícula de VLDL aumentada está desenhada na parte inferior da figura.

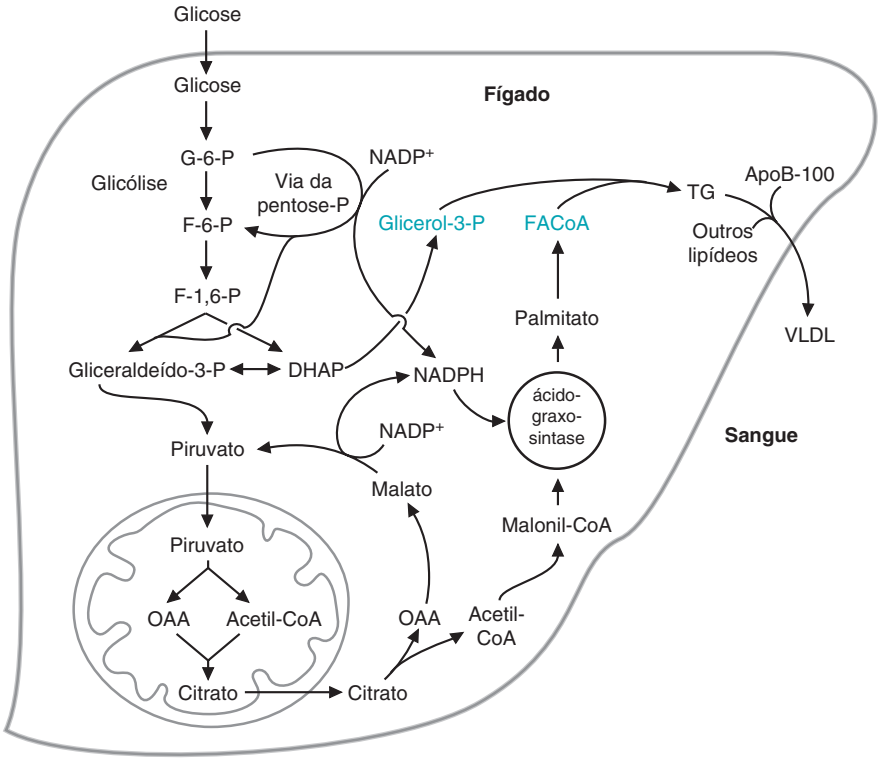


Figura 33.22 Síntese de VLDL a partir de glicose no fígado. G-6-P = glicose-6-fosfato; F-6-P = frutose-6-fosfato; F-1,6-P = frutose-1,6-bisfosfato; FA = grupo acila; TG = triacilglicerol.

III. DESTINO DO TRIACILGLICEROL DA VLDL

A lipoproteína lipase (LPL), que é ligada a proteoglicanos da membrana basal das células endoteliais dos capilares, cliva os triacilgliceróis tanto das VLDL quanto dos quilomícrons, formando ácidos graxos e glicerol. A apoproteína C_{II}, que essas lipoproteínas obtêm das HDL, ativa a LPL. O baixo K_m da isoenzima muscular da LPL permite que o músculo utilize os ácidos graxos de quilomícrons e VLDL como fonte de substrato energético mesmo quando a concentração sangüínea dessas lipoproteínas está muito baixa. A isoenzima do tecido adiposo tem um K_m alto e atividade máxima após uma refeição, quando os níveis sangüíneos de quilomícrons e VLDL estão elevados. O destino da partícula de VLDL, após os triglicerídeos terem sido removidos pela LPL, é a geração de uma partícula de IDL (lipoproteína de densida-

Os ácidos graxos para a síntese de VLDL no fígado podem ser obtidos do sangue ou sintetizados a partir de glicose. Em um indivíduo saudável, a principal fonte de ácidos graxos do triacilglicerol da VLDL é o excesso de glicose da dieta. Em indivíduos com diabetes melito, os ácidos graxos mobilizados dos triacilgliceróis do tecido adiposo em excesso à capacidade de oxidação dos tecidos são a principal fonte de ácidos graxos reesterificados a triacilgliceróis da VLDL no fígado. Esses indivíduos freqüentemente têm níveis elevados de triacilgliceróis no sangue.

R: No alcoolismo, os níveis de NADH no fígado estão elevados (ver Capítulo 25). Altos níveis de NADH inibem a oxidação de ácidos graxos. Portanto, os ácidos graxos mobilizados do tecido adiposo são reesterificados para o glicerol no fígado formando triacilgliceróis, que são empacotados na VLDL e secretados para o sangue. Níveis elevados de VLDL estão freqüentemente associados ao alcoolismo crônico. Conforme a doença hepática induzida por álcool progride, a capacidade para secretar triacilgliceróis diminui, resultando em fígado gorduroso.

de intermediária), que pode perder mais triglicerídeos para se tornar uma partícula de LDL (lipoproteína de baixa densidade). O destino das partículas de IDL e LDL é discutido no Capítulo 34.

IV. ARMAZENAMENTO DE TRIACILGLICERÓIS NO TECIDO ADIPOSO

Após uma refeição, os estoques de triacilglicerol do tecido adiposo aumentam (Figura 33.24). As células adiposas sintetizam LPL e a secretam para os capilares do tecido adiposo quando a relação insulina/glucagon está elevada. Essa enzima digere os triacilgliceróis de quilomícrons e VLDL. Os ácidos graxos entram nas células adiposas e são ativados, formando acil-CoA, que reage com o glicerol-3-fosfato para formar triacilglicerol pela mesma rota utilizada no fígado (ver Figura 33.20). Como o tecido adiposo não possui glicerol-quinase e não pode utilizar o glicerol produzido pela LPL, o glicerol vai pelo sangue para o fígado, que o utiliza para a síntese de triacilglicerol. Nas células adiposas, o glicerol-3-fosfato é derivado da glicose.

Além de estimular a síntese e a liberação da LPL, a insulina estimula o metabolismo da glicose nas células adiposas. Ela provoca a ativação das enzimas glicolíticas fosfofrutoquinase-1 pela PFK-2, que aumenta os níveis de frutose-2,6-bisfosfato. A insulina também estimula a desfosforilação da piruvato-desidrogenase, possibilitando, assim, que o piruvato produzido pela glicólise seja oxidado no ciclo do TCA. Além disso, a insulina estimula a conversão de glicose em ácidos graxos na célula adiposa, embora o fígado seja o principal local de síntese de ácidos graxos em seres humanos.

V. LIBERAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS PELOS TRIACILGLICERÓIS DO TECIDO ADIPOSO

Durante o jejum, a diminuição da insulina e o aumento do glucagon fazem os níveis de AMPc aumentarem nas células adiposas, estimulando a lipólise (Figura 33.25). A proteína-quinase A fosforila a lipase hormônio-sensível para produzir uma forma mais ativa dessa enzima. A lipase hormônio-sensível, também chamada triacilglicerol-lipase do tecido adiposo, cliva um ácido graxo do triacilglicerol. Subseqüentemente, outras lipases completam o processo de lipólise e ácidos graxos e glicerol são liberados para o sangue. Ao mesmo tempo, para regular a quantidade de ácidos graxos liberados na circulação, a síntese de triglicerídeos ocorre, juntamente com a gliceroneogênese.

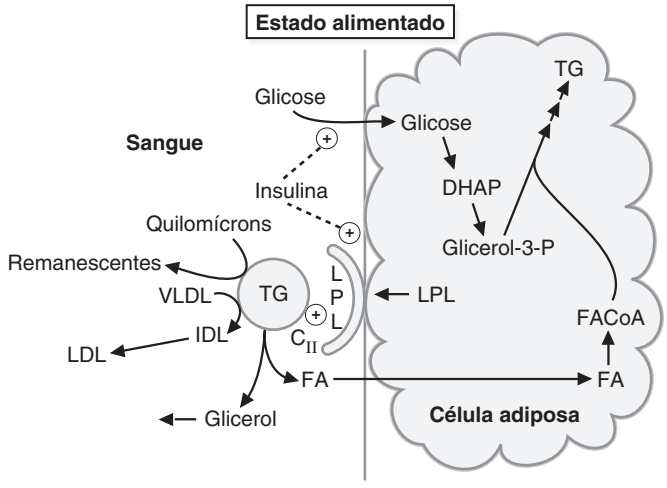


Figura 33.24 Conversão de ácidos graxos (FA) dos triacilgliceróis (TG) de quilomícrons e VLDL em TG armazenados nas células adiposas. A insulina estimula tanto o transporte de glicose para dentro das células adiposas quanto a secreção de lipoproteína lipase (LPL) por tais células. A glicose fornece o glicerol-3-fosfato para síntese de TG. A insulina também estimula a síntese e a secreção de LPL. A apoproteína C_{II} ativa a LPL.

Q: Em alguns casos de hiperlipidemia, a LPL está defeituosa. Se um perfil lipídico sangüíneo for realizado em pacientes com deficiência de LPL, quais lipídeos estariam elevados?

Como os ácidos graxos dos triacilgliceróis do tecido adiposo se originam tanto dos quilomícrons quanto das VLDL, os principais estoques de gordura do corpo são produzidos tanto a partir das gorduras da dieta (que produzem quilomícrons) quanto dos açúcares da dieta (que produzem VLDL). Um excesso de proteínas na dieta também pode ser utilizado para produzir os ácidos graxos para a síntese de VLDL.

A nutricionista explicou cuidadosamente para **Percy Veere** que se pode engordar comendo excesso de gordura, de açúcar ou de proteína.

R: Indivíduos com a LPL defeituosa apresentam altos níveis de triacilglicerol no sangue. Seus níveis de quilomícrons e VLDL (que contêm grande quantidade de triacilgliceróis) estão elevados porque eles não são digeridos em velocidade normal pela LPL.

A LPL pode ser dissociada das paredes capilares pelo tratamento com heparina (um glicosaminoglicano). Dosagens podem ser realizadas no sangue após tratamento com heparina para determinar se os níveis de LPL estão anormais.

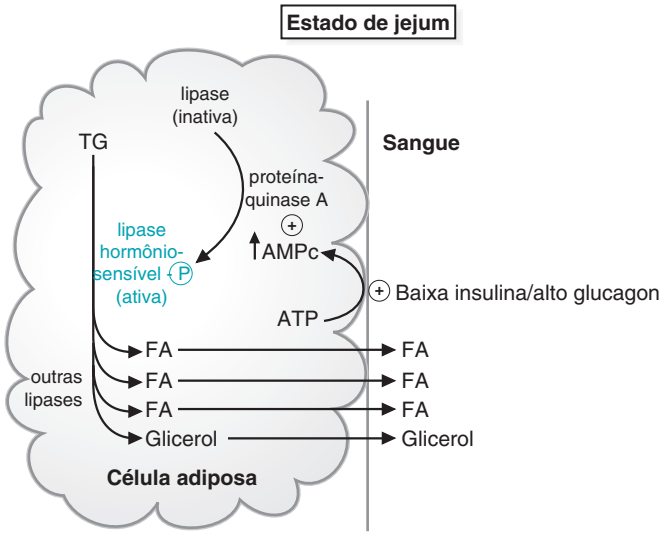


Figura 33.25 Mobilização dos triacilgliceróis (TG) do tecido adiposo. No estado de jejum, quando os níveis de insulina estão baixos e os de glucagon estão elevados, o AMPc intracelular aumenta e ativa a proteína-quinase A, que fosforila a lipase hormônio-sensível (HSL). A HSL fosforilada está ativa e inicia a degradação do TG do tecido adiposo. É importante lembrar, entretanto, que a reesterificação de ácidos graxos também ocorre, juntamente com a gliceroneogênese, no estado de jejum. A HSL também é chamada de triacilglicerol lipase. FA = ácido graxo.

Os ácidos graxos, que são transportados no sangue ligados à albumina, entram nas células do músculo e de outros tecidos, nos quais são oxidados a CO_2 e água para produzir energia. Durante o jejum prolongado, o acetil-CoA produzido pela β-oxidação de ácidos graxos no fígado é convertido em corpos cetônicos, que são liberados no sangue. O glicerol derivado da lipólise nas células adiposas é utilizado pelo fígado, durante o jejum, como uma fonte de carbonos para a gliconeogênese.

VI. METABOLISMO DE GLICEROFOSFOLIPÍDEOS E ESFINGOLIPÍDEOS

Os ácidos graxos, obtidos da dieta ou sintetizados a partir da glicose, são os precursores dos glicerofosfolipídeos e dos esfingolipídeos (Figura 33.26). Tais lipídeos são os principais constituintes das membranas celulares. Os glicerofosfolipídeos também são constituintes de lipoproteínas sangüíneas, bile e surfactante pulmonar e são a fonte dos ácidos graxos poliinsaturados, particularmente o ácido araquidônico, o qual serve como precursor dos eicosanóides (p. ex., prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos; ver Capítulo 35). Os glicerofosfolipídeos éteres diferem de outros glicerofosfolipídeos na medida em que a cadeia alquil ou alquenil (uma cadeia alquil com ligação dupla) é ligada ao carbono 1 da porção glicerol por uma ligação éter em vez de éster. Exemplos de lipídeos éteres são os plasmalogênios e o fator de ativação plaquetária. Os esfingolipídeos são particularmente importantes na formação da bainha de mielina, que envolve os nervos no sistema nervoso central, e na transdução de sinal.

Nos glicerolipídeos e nos glicerolipídeos éteres, o glicerol serve como o esqueleto ao qual os ácidos graxos e os outros constituintes são ligados. A esfingosina, derivada da serina, fornece o esqueleto para os esfingolipídeos.

A. Síntese de Fosfolipídeos que Contêm Glicerol

1. GLICEROFOSFOLIPÍDEOS

Os passos iniciais na síntese dos glicerofosfolipídeos são similares àqueles da síntese de triacilglicerol. O glicerol-3-fosfato reage com o acil-CoA para formar ácido fosfatídico. Dois mecanismos diferentes são, então, utilizados para adicionar o grupo "da

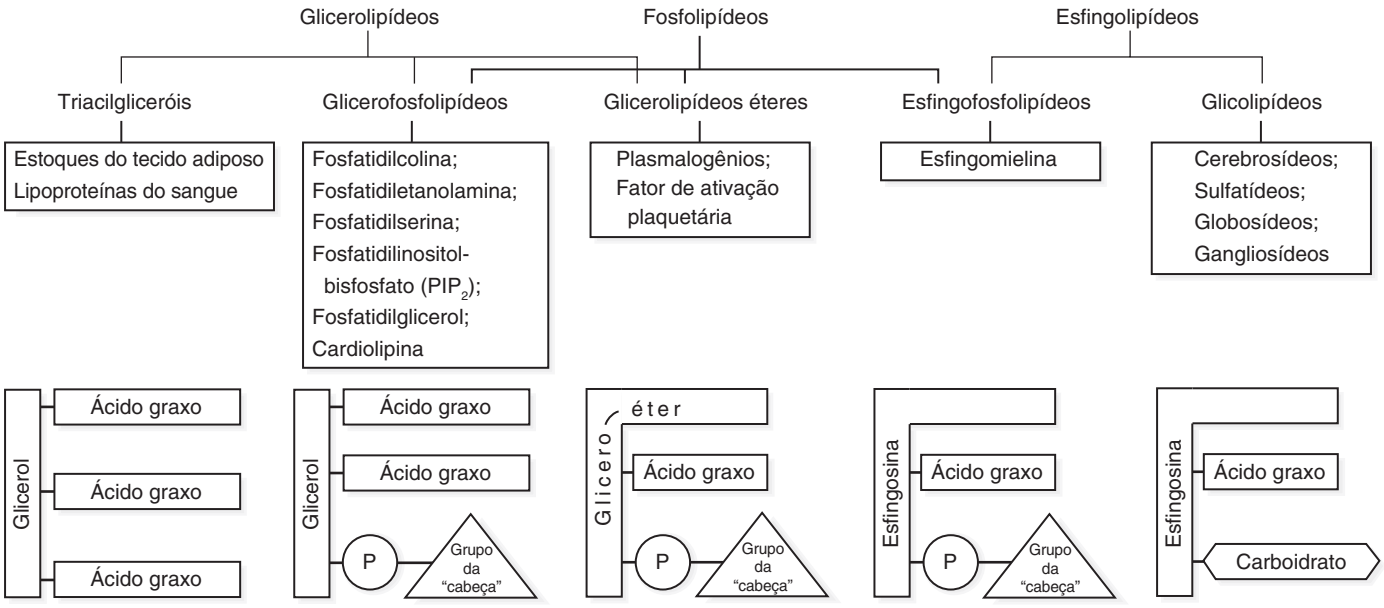


Figura 33.26 Tipos de glicerolipídeos e esfingolipídeos. Glicerolipídeos contêm glicerol, e esfingolipídeos contêm esfingosina. A categoria dos fosfolipídeos se sobrepõe aos glicerolipídeos e esfingolipídeos. Os grupos da "cabeça" incluem colina, etanolamina, serina, inositol, glicerol e fosfatidilglicerol. Os carboidratos são monossacarídeos (que podem ser sulfatados), oligossacarídeos e oligossacarídeos com ramificações de ácido *N*-acetilneuramínico. P = fosfato.

cabeça" da molécula (Figura 33.27). (Um grupo da "cabeça" é um grupo químico, como a colina e a serina, ligado ao carbono 3 da porção glicerol que contém os grupos hidrofóbicos, em geral ácidos graxos, nas posições 1 e 2. Os grupos "da cabeça" são hidrofílicos ou com carga ou polares.) No primeiro mecanismo, o ácido fosfatídico é clivado por uma fosfatase para formar diacilglicerol (DAG). O DAG, então, reage com um grupo da "cabeça" ativado. Na síntese de fosfatidilcolina, o grupo da "cabeça" colina é ativado pela combinação com o CTP para formar CDP-colina (Figura 33.28). A fosfocolina é, então, transferida para o carbono 3 do diacilglicerol, e CMP é liberado. A fosfatidiletanolamina é produzida por uma reação similar envolvendo CDP-etanolamina.

Vários tipos de interconversões ocorrem entre esses fosfolipídeos (ver Figura 33.28). A fosfatidilserina é produzida por uma reação na qual a porção etanolamina da fosfatidiletanolamina é trocada por serina. A fosfatidilserina pode ser convertida de

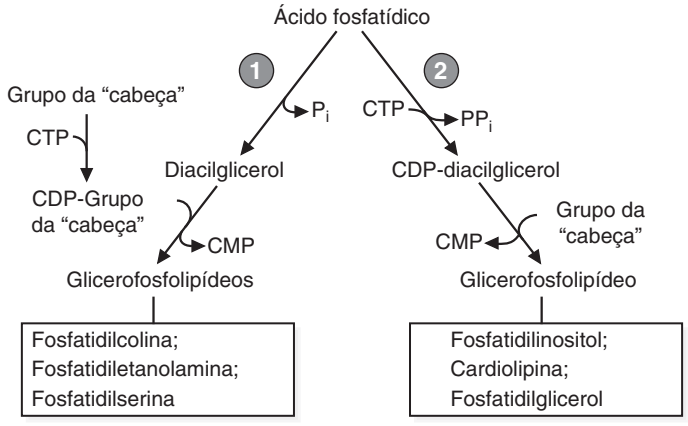


Figura 33.27 Estratégias para adição do grupo da "cabeça" para formar glicerofosfolipídeos. Em ambos os casos, o CTP é utilizado para realizar a reação.

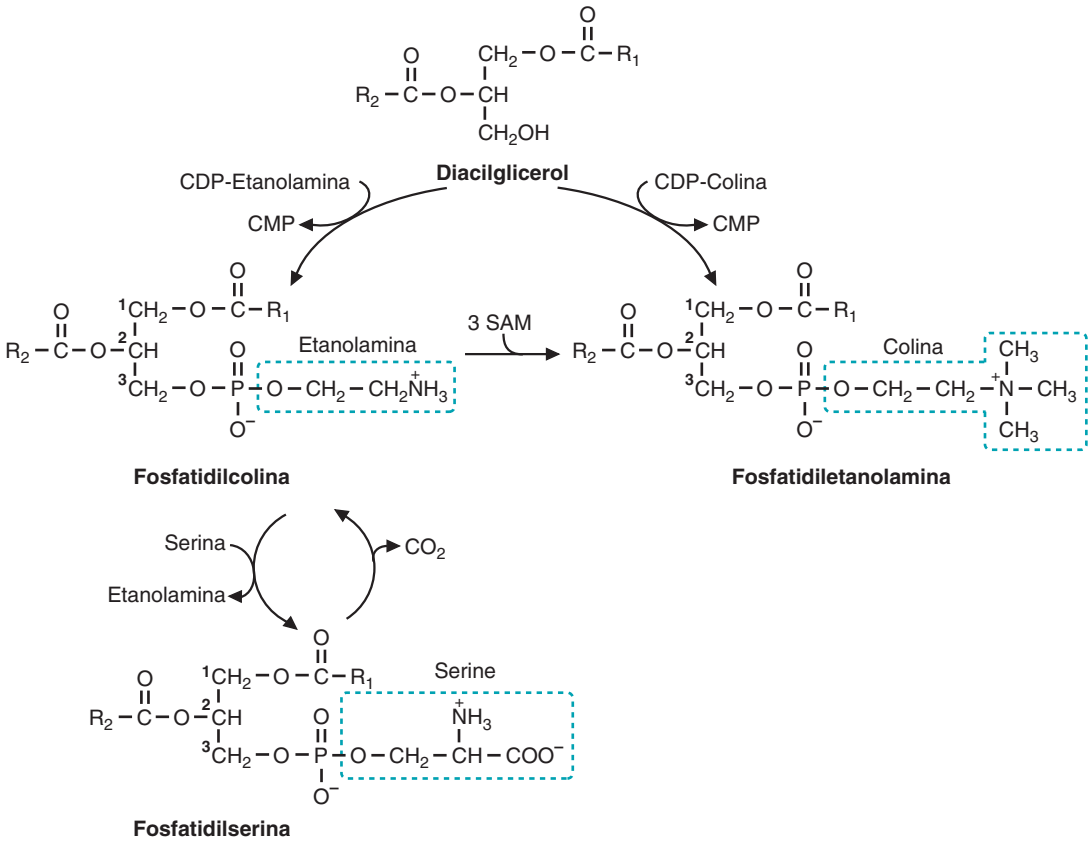


Figura 33.28 Síntese de fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina e fosfatidilserina. As várias vias refletem a importância dos fosfolipídeos na estrutura da membrana. Por exemplo, fosfatidilcolina (PC) pode ser sintetizada a partir de colina da dieta quando essa estiver disponível. Se não for o caso, a PC pode ser feita dos carboidratos da dieta, embora a quantidade sintetizada seja inadequada para prevenir a deficiência de colina. SAM é S-adenosilmetionina, uma doadora de grupo metila para muitas reações bioquímicas (ver Capítulo 40).

A fosfatidilcolina (lecitina) não é requerida na dieta porque ela pode ser sintetizada pelo organismo. Todos os seus constituintes (incluindo a colina) podem ser produzidos, como mostrado na Figura 33.28. Existe uma rota para a síntese *de novo* de colina a partir de glicose, mas a velocidade de síntese é inadequada para fornecer as quantidades necessárias de colina. Assim, a colina foi classificada como um nutriente essencial, com uma IA (ingestão adequada) de 425 mg/dia em mulheres e 550 mg/dia em homens.

Como a colina é amplamente distribuída nos suplementos alimentares, principalmente na fosfatidilcolina (lecitina), não têm sido observadas deficiências em indivíduos com uma dieta normal. Entretanto, podem ocorrer deficiências em pacientes em nutrição parenteral total (NPT), isto é, mantidos apenas por alimentação intravenosa. O fígado gorduroso observado nesses pacientes provavelmente é resultado da capacidade diminuída em sintetizar fosfolipídeos para a formação da VLDL.

volta em fosfatidiletanolamina por uma reação de descarboxilação. A fosfatidiletanolamina pode ser metilada para formar fosfatidilcolina (ver Capítulo 40).

Em um segundo mecanismo para a síntese de glicerolipídeos, o ácido fosfatídico reage com CTP para formar CDP-diacilglicerol (Figura 33.29). Esse composto pode reagir com o fosfatidilglicerol (o qual é formado da condensação do CDP-diacilglicerol com o glicerol-3-fosfato) para produzir cardiolipina, ou com o inositol para produzir o fosfatidilinositol. A cardiolipina é um constituinte da membrana mitocondrial interna. O fosfatidilinositol pode ser fosforilado para formar fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP_2), um constituinte das membranas celulares. Em resposta a sinais como a ligação de hormônios a receptores de membrana, o PIP_2 pode ser clivado para formar os segundos mensageiros diacilglicerol e inositol-trisfosfato (ver Capítulo 11).

2. GLICEROLIPÍDEOS ÉTERES

Os glicerolipídeos éteres são sintetizados a partir do intermediário glicolítico diidroxiacetona-fosfato (DHAP, do inglês ***dih****ydroxy****a****cetone* ***p****hosphate*). Um acil-CoA reage com o carbono 1 da DHAP formando um éster (Figura 33.30). Esse grupo acila graxo é trocado por um álcool graxo, produzido pela redução de um ácido graxo. Assim, a ligação éter é formada. Então, o grupo ceto no carbono 2 da porção DHAP é reduzido e esterificado com um ácido graxo. A adição do grupo da "cabeça" continua por uma série de reações análogas àquelas da síntese de fosfatidilcolina. A formação de uma ligação dupla entre os carbonos 1 e 2 do grupo alquila produz um plasmalogênio; o plasmalogênio de etanolamina é encontrado na mielina, e o de colina, no músculo cardíaco. O fator de ativação plaquetária é similar ao plasmalogênio de colina, exceto

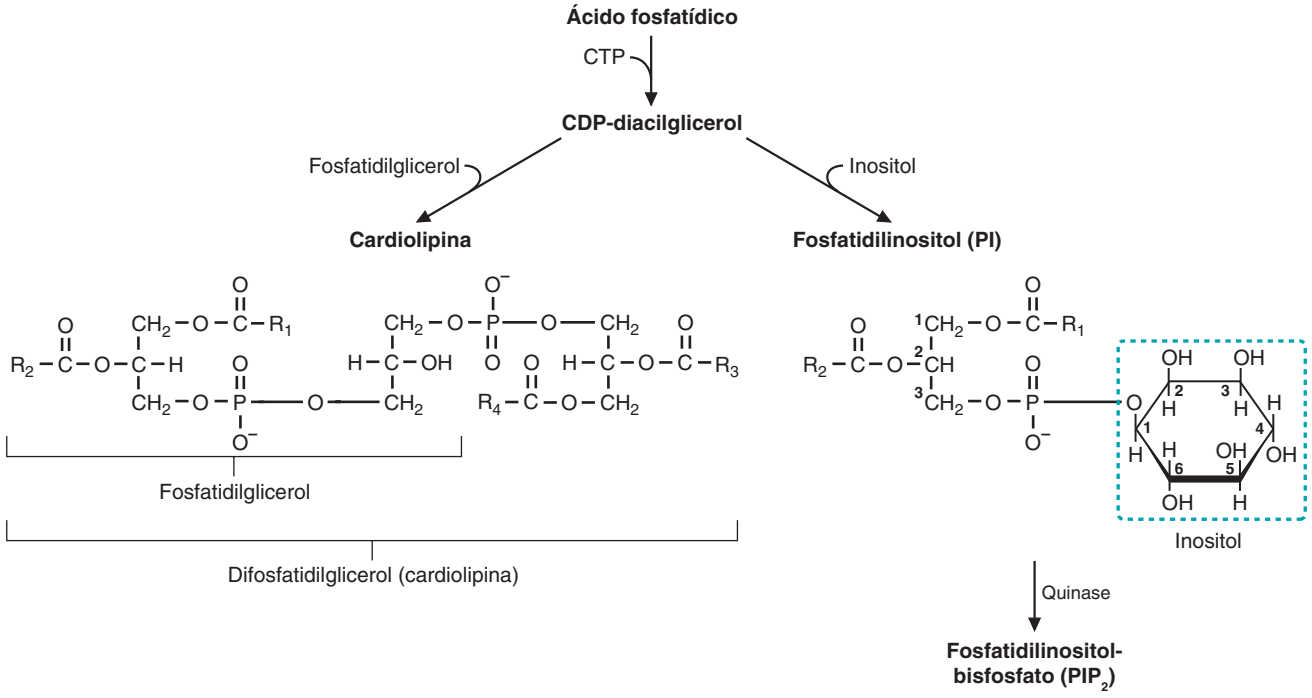
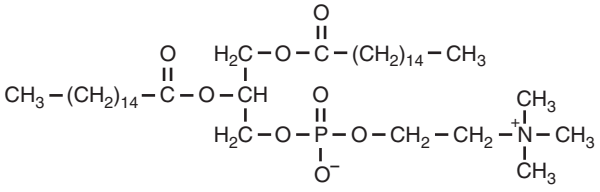


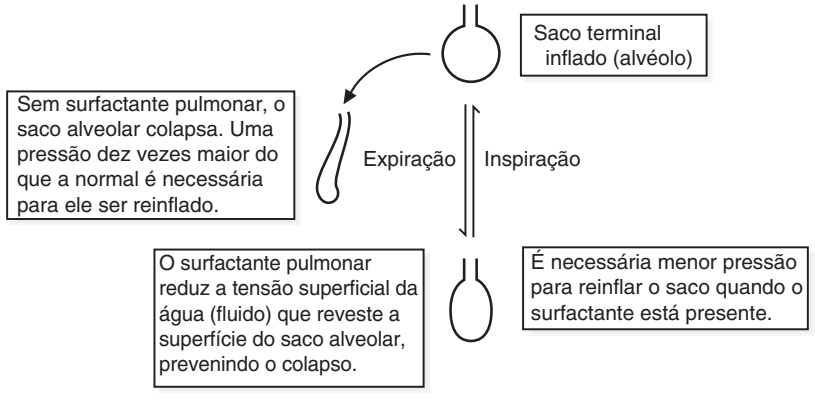
Figura 33.29 Síntese de cardiolipina e fosfatidilinositol.

A síndrome de angústia respiratória (SAR) de uma criança prematura como **Colleen Lakker** é, em parte, relacionada a uma deficiência na síntese de uma substância conhecida como surfactante pulmonar. Os principais constituintes do surfactante são a dipalmitoil-fosfatidilcolina, o fosfatidilglicerol, as apoproteínas (proteínas surfactantes: Sp-A,B,C) e o colesterol.



Dipalmitoil-fosfatidilcolina, o principal constituinte do surfactante pulmonar

Esses constituintes do surfactante pulmonar normalmente contribuem para a redução da tensão superficial nos espaços aéreos (alvéolos) do pulmão, prevenindo o seu colapso. O bebê prematuro ainda não começou a produzir quantidades adequadas de surfactante pulmonar.



Efeito do surfactante pulmonar

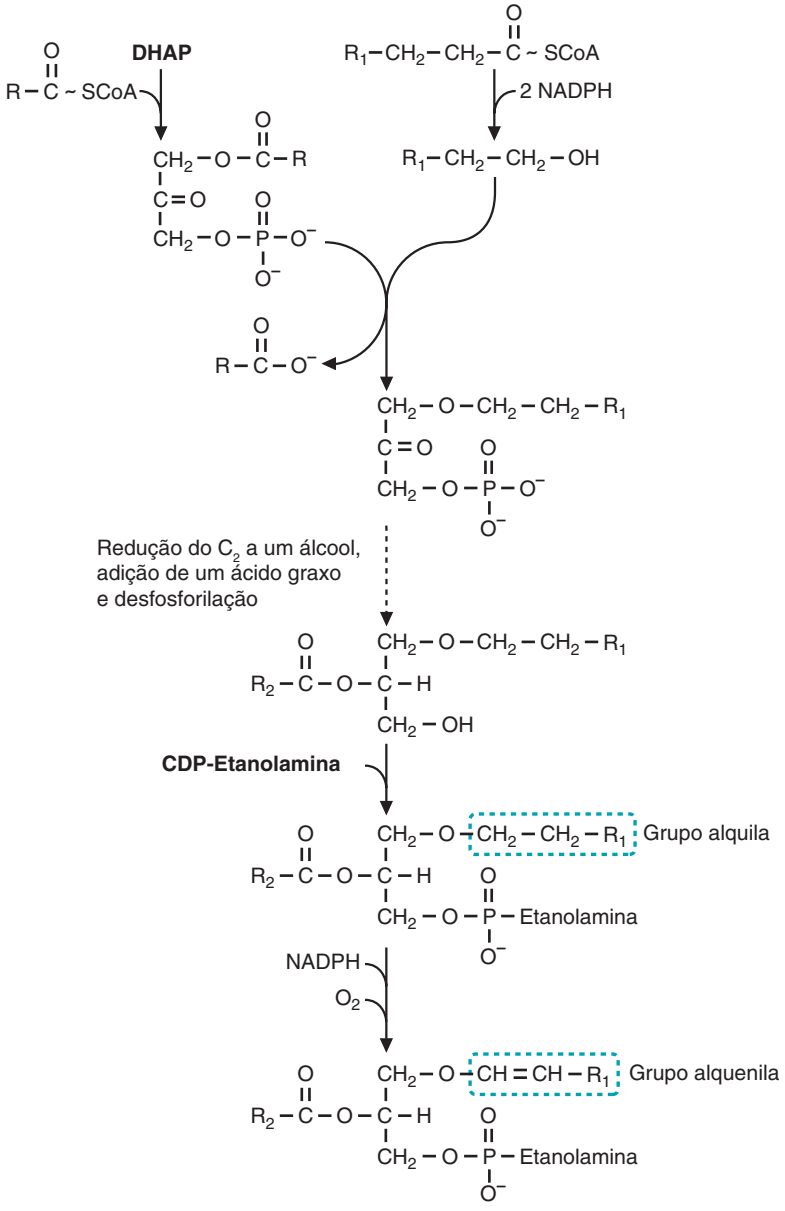


Figura 33.30 Síntese de um plasmalogênio.

pelo grupo acetila que substitui o grupo acila no carbono 2 da porção glicerol e pelo grupo alquila no carbono 1 ser saturado. O PAF é liberado das células fagocíticas do sangue em resposta a vários estímulos. Ele causa agregação plaquetária, edema e hipotensão e está envolvido na resposta alérgica. A síntese de plasmalogênio ocorre nos peroxissomas, e em indivíduos com síndrome de Zellwegwer (um defeito na biogênese dos peroxissomas) ela está prejudicada. Nos casos graves, essa síndrome leva à morte em idade precoce.

A fosfolipase A_2 fornece o principal mecanismo de reparo para os lipídeos de membrana danificados por reações oxidativas causadas por radicais livres. O ácido araquidônico, um ácido graxo poliinsaturado, pode ser clivado por peroxidação em reações de radicais livres a malondialdeído e outros produtos. A fosfolipase A_2 reconhece a distorção da estrutura da membrana causada pelo ácido graxo parcialmente degradado e o remove. As aciltransferases, então, adicionam de volta uma nova molécula de ácido araquidônico.

B. Degradação de Glicerofosfolipídeos

As fosfolipases localizadas nas membranas celulares ou em lisossomas degradam os glicerofosfolipídeos. A fosfolipase A_1 remove o grupo acila do carbono 1 da porção glicerol, e a fosfolipase A_2 remove o ácido graxo do carbono 2 (Figura 33.31). O ácido graxo do C2 nos fosfolipídeos da membrana celular é, em geral, um ácido graxo insa-

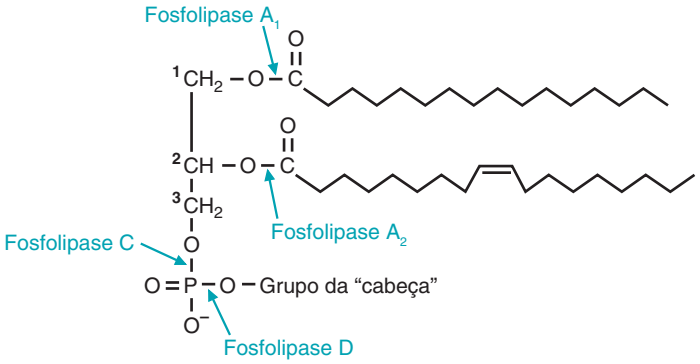


Figura 33.31 Ligações clivadas por fosfolipases.

turado, freqüentemente o ácido araquidônico. Ele é removido em resposta a sinais para a síntese de eicosanóides. A ligação que une o carbono 3 da porção glicerol ao fosfato é clivada pela fosfolipase C. Estímulos hormonais ativam a fosfolipase C, que hidrolisa PIP_2 para produzir os segundos mensageiros DAG e inositol-trisfosfato (IP_3). A ligação entre o fosfato e o grupo da "cabeça" é clivada pela fosfolipase D, produzindo ácido fosfatídico e o álcool livre do grupo da "cabeça".

C. Esfingolipídeos

Os esfingolipídeos atuam na comunicação intercelular e como determinantes antigênicos dos grupos sangüíneos ABO. Alguns deles são usados como receptores por vírus e toxinas bacterianas, embora seja improvável que esse tenha sido o propósito pelo qual eles originalmente evoluíram. Antes de suas funções serem elucidadas, esses compostos pareciam ser enigmas impenetráveis. Portanto, foram chamados de Esfinge de Tebas, a qual matava os viajantes que por ela passavam e não conseguiam resolver seu enigma.

A síntese dos esfingolipídeos começa com a formação de ceramida (Figura 33.32). Serina e palmitil-CoA se condensam para formar um produto que é reduzido. Um ácido graxo de cadeia muito longa (geralmente contendo 22 carbonos) forma uma amida com o grupo amino; uma ligação dupla é gerada, e a ceramida é formada.

A ceramida reage com a fosfatidilcolina para formar a esfingomielina, um constituinte da bainha de mielina (Figura 33.33), e com UDP-açúcares para formar cerebrosídeos (que contêm um único monossacarídio, geralmente galactose ou glicose). O galactocerebrosídeo pode reagir com 3'-fosfoadenosina-5'-fosfossulfato (PAPS, um doador de sulfato ativo; Figura 33.34) para formar sulfatídeos, os principais sulfolipídeos do cérebro.

Açúcares adicionais podem ser ligados na ceramida para formar os globosídeos, e os gangliosídeos são produzidos pela adição de ácido N-acetilneuramínico (NANA) como ramificações a partir das cadeias de oligossacarídeos (ver Figura 33.33 e Capítulo 30).

Os esfingolipídeos são degradados por enzimas lisossomais (ver Capítulo 30). Deficiências dessas enzimas resultam em um grupo de doenças lisossômicas de depósito conhecidas como esfingolipidoses.

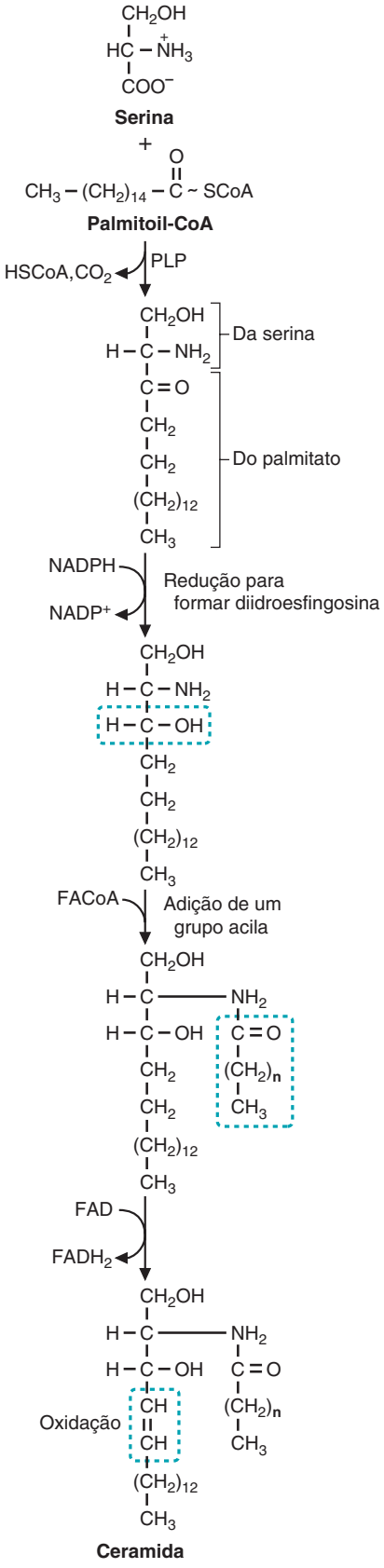


Figura 33.32 Síntese de ceramida. As mudanças que ocorrem em cada reação estão destacadas. PLP = piridoxal-fosfato.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Se **Percy Veere** tivesse continuado a ingerir uma dieta hipercalórica rica em carboidratos, teria se tornado obeso. Em um esforço para definir obesidade, foi acordado internacionalmente que a razão do peso corporal do paciente, em quilogramas, pelo quadrado de sua altura, em metros, (P/A^2) é a medida mais útil e reproduzível. Essa razão é chamada de índice de massa corporal ou IMC. Homens e mulheres normais ficam na faixa de 20 a 25. O valor atual de Percy é 21,3 e está em elevação.

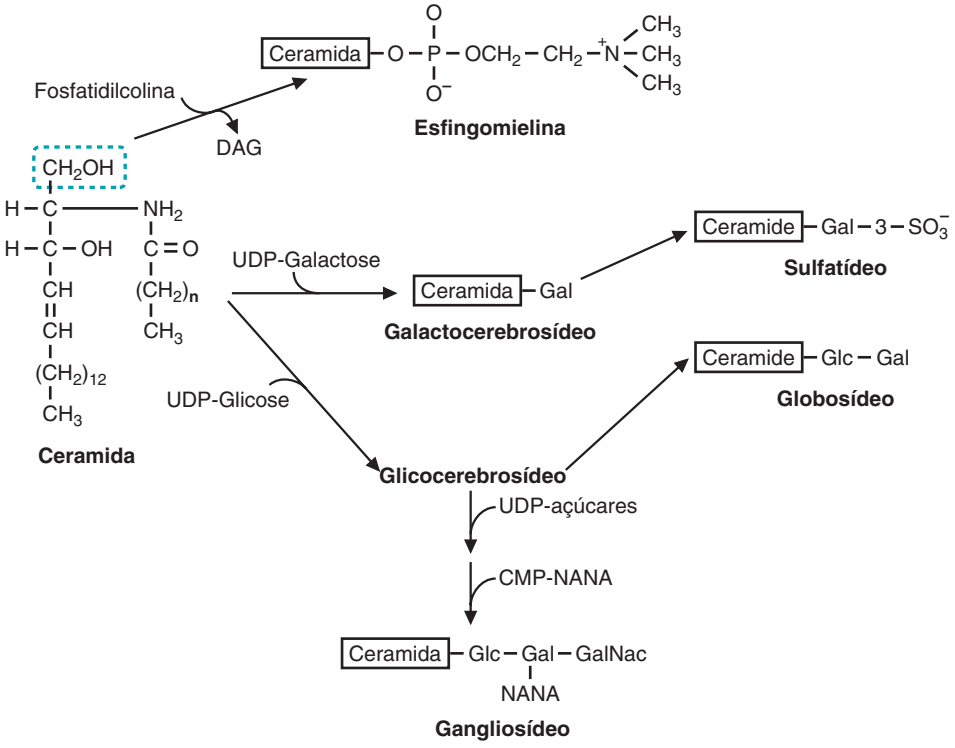
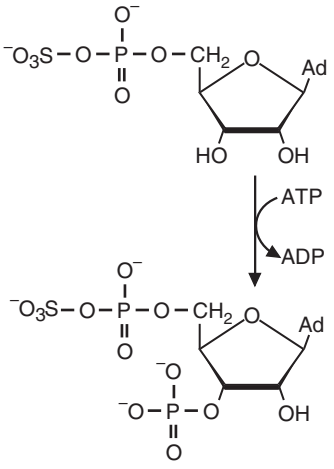


Figura 33.33 Síntese de esfingolipídeos a partir de ceramida. Fosfocolina ou açúcares são adicionados ao grupo hidroximetila da ceramida (em azul) para formar esfingomielinas, cerebrosídeos, sulfatídeos, globosídeos e gangliosídeos. Gal = galactose; Glc = glicose; GalNAc = *N*-acetilgalactosamina; NANA = ácido *N*-acetilneuramínico.



3'-Fosfoadenosina-5'-fosfossulfato
(PAPS – "sulfato ativo")

Figura 33.34 Síntese de 3'-fosfoadenosina-5'-fosfossulfato (PAPS), um doador de sulfato ativo. O PAPS doa grupos sulfato aos cerebrosídeos para formar os sulfatídeos e também está envolvido na biossíntese de glicosaminoglicanos (ver Capítulo 49). Ad = adenosina.

Cerca de 36 milhões de pessoas nos Estados Unidos têm um IMC maior do que 27,8 (para homens) ou 27,3 (para mulheres). Nesse nível de obesidade, o qual é muito próximo a um aumento de 20% acima do peso "ideal" ou desejável, uma tentativa de perder peso deveria ser aconselhada. A idéia de que a obesidade é uma condição benigna, a menos que acompanhada de outros fatores de risco para doença cardiovascular, é colocada em dúvida por vários estudos prospectivos de longo prazo adequadamente controlados. Tais estudos mostram que a obesidade é um fator independente não apenas para infarto miocárdico e acidentes vasculares, mas também para o desenvolvimento de resistência à insulina, diabetes melito tipo 2, hipertensão e doenças biliares.

Percy não queria ficar com sobrepeso e decidiu seguir sua nova dieta fielmente.

Devido ao fato de o perfil lipídico de **Cora Nari** indicar uma elevação em triacilgliceróis e LDL-colesterol séricos, ela foi classificada como tendo hiperlipidemia combinada. As dissimilaridades nos perfis lipídicos de Cora e seus dois irmãos, os quais tinham apresentado dor anginosa no peito, é característica da síndrome multigênica chamada de hiperlipidemia combinada familiar (HCF).

Cerca de 1% da população da América do Norte tem HCF. Essa é a causa mais comum de doença arterial coronariana nos Estados Unidos. Ao contrário de pacientes com hipercolesterolemia familiar (HF), os pacientes com HCF não têm depósitos de ácidos graxos na pele ou nos tendões (xantomas) (ver Capítulo 34). Na HCF, a doença coronariana geralmente aparece na quinta década de vida.

O tratamento da HCF inclui restrição de gordura na dieta. Pacientes que não respondem adequadamente à terapia dietética são tratados com fármacos antilipidêmicos. A seleção desses fármacos depende da expressão fenotípica específica da doença multigênica do paciente como manifestada por seu perfil lipídico sérico particular. No caso de Cora, uma diminuição em triacilgliceróis e LDL-colesterol séricos deve ser alcançada. Se possível, seu nível de HDL-colesterol também deve ser elevado para um nível acima de 40 mg/dL.

Para conseguir esses objetivos terapêuticos, seu médico inicialmente prescreveu ácido nicotínico (niacina) de liberação rápida, devido ao fato de esse agente ter o potencial de baixar os níveis de triacilgliceróis séricos e causar um aumento recíproco nos níveis de HDL-colesterol, bem como diminuir os níveis séricos de colesterol total e LDL. Os mecanismos sugeridos para a ação da niacina em reduzir os triacilgliceróis incluem aumento da ação da LPL, inibição da lipólise no tecido adiposo e diminuição da esterificação de triacilgliceróis no fígado (ver Tabela 34.5). O mecanismo pelo qual a niacina diminui os níveis de colesterol total e LDL está relacionado com a diminuição da produção hepática de VLDL. Quando o nível de VLDL na circulação diminui, a produção de suas partículas-filhas, IDL e LDL, também diminui. Os efeitos colaterais da niacina de rubor (*flushing*) e prurido foram intoleráveis para Cora, e a droga foi interrompida.

A pravastatina foi prescrita como substituinte. A pravastatina inibe a síntese de colesterol pela inibição da hidroximetilglutaril-CoA (HMG-CoA) redutase, a enzima limitante da velocidade nessa rota (ver Capítulo 34). Após 3 meses de terapia, a pravastatina diminuiu o LDL-colesterol de Cora de um nível de pré-tratamento de 175 para 122 mg/dL (ainda mais alto do que o objetivo de tratamento recomendado de 100 mg/dL ou menos em uma paciente com doença arterial coronariana estabelecida). Sua concentração sérica em jejum de triacilglicerol estava diminuída de um nível de pré-tratamento de 280 para 178 mg/dL (um objetivo de tratamento para triacilglicerol sérico quando o nível pré-tratamento é inferior a 500 mg/dL não foi estabelecido).

Colleen Lakker teve síndrome de angústia respiratória (SAR), a qual é a maior causa de morte de recém-nascidos. A SAR é prevenível se a prematuridade puder ser evitada por manejo apropriado de gestação e parto de alto-risco. Antes do parto, o obstetra deve tentar prever e, possivelmente, tratar a prematuridade pulmonar intra-útero. Por exemplo, a estimativa da circunferência da cabeça fetal por ultra-sonografia, a monitorização da saturação de oxigênio arterial fetal e a determinação da razão das concentrações de fosfatidilcolina (lecitina) e esfingomielina no líquido amniótico podem ajudar a identificar crianças prematuras que estão predispostas à SAR (Figura 33.35).

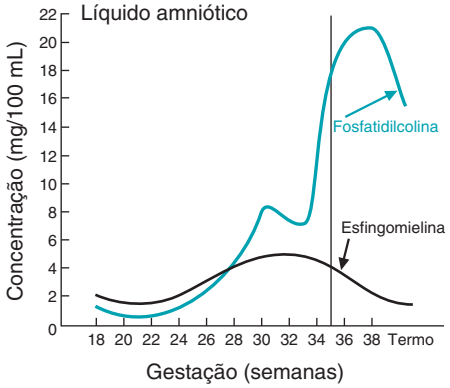


Figura 33.35 Comparação de fosfatidilcolina e esfingomielina em líquido amniótico. Fosfatidilcolina é o principal lipídeo no surfactante pulmonar. A concentração de fosfatidilcolina em relação à de esfingomielina aumenta na 35ª semana de gestação, indicando a maturidade pulmonar.

A administração de corticosteróides sintéticos 48 a 72 horas antes do parto de um feto com menos de 33 semanas de gestação, em mulheres que têm toxemia da gestação, diabetes melito ou doença renal crônica, pode reduzir a incidência ou a mortalidade da SAR pela estimulação da síntese fetal de surfactante pulmonar.

A administração de dose única de surfactante na traquéia de uma criança prematura imediatamente após o nascimento pode, transitoriamente, melhorar a função respiratória, mas não melhora a mortalidade geral. No caso de Colleen, a terapia intensiva permitiu que ela sobrevivesse a essa complicação respiratória aguda da prematuridade.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



Do ponto de vista bioquímico, o que faz com que as pessoas se tornem obesas? Obviamente, a quantidade de gordura que um indivíduo pode armazenar depende do número de adipócitos no corpo e da quantidade de triacilglicerol que cada célula pode acomodar. Nos indivíduos obesos, tanto o número de células adiposas quanto o seu tamanho (ou seja, a capacidade total de armazenamento) são maiores do que nos indivíduos sem história de obesidade. Entretanto, para preencher esses estoques, um indivíduo deve comer mais do que o necessário para manter a taxa metabólica basal e a atividade física.

As células adiposas começam a proliferar no início da vida, iniciando no terceiro trimestre de gestação. A proliferação cessa essencialmente antes da puberdade, e, daí em diante, as células adiposas alteram principalmente o seu tamanho. Entretanto, algum aumento no número de células adiposas pode ocorrer na idade adulta se pré-adipócitos forem induzidos a proliferar por fatores de crescimento e mudanças no estado nutricional. A redução de peso resulta na diminuição do tamanho das células adiposas em vez do seu número. Após a perda de peso, a quantidade de LPL, uma enzima envolvida na transferência de ácidos graxos dos triacilgliceróis do sangue para os triacilgliceróis armazenados nos adipócitos, aumenta. Além disso, a quantidade de mRNA para a LPL também aumenta. Todos esses fatores sugerem que indivíduos que se tornam obesos, particularmente aqueles que engordam cedo na vida, terão dificuldade de perder peso e de manter uma massa adiposa menor.

Os sinais que iniciam ou inibem o apetite são extremamente complexos e incluem fatores hormonais e psicológicos, bem como a atividade de neurotransmissores. Tais sinais são integrados e retransmitidos através do hipotálamo. A destruição de regiões específicas do hipotálamo pode levar a superalimentação e obesidade, ou a anorexia e perda de peso. A superalimentação e a obesidade estão associadas ao dano aos núcleos ventromedial e paraventricular, enquanto a perda de peso e a anorexia estão relacionadas ao dano de regiões mais laterais do hipotálamo. Substâncias que agem como sinais de saciedade têm sido identificadas no tecido cerebral e incluem a leptina e o peptídeo tipo-glucagon 1 (GLP-1, do inglês ***g**lucagon-**l**ike **p**eptide-**1***). Os supressores de apetite desenvolvidos a partir desses compostos podem ser futuramente utilizados no tratamento da obesidade.

Recentemente, foi descoberto que o adipócito, além de armazenar triacilglicerol, secreta hormônios que regulam tanto o metabolismo de glicose quanto o de lipídeos. Os hormônios leptina, resistina (provoca resistência à ação da insulina) e adiponectina (também conhecido como Acrp30) são todos secretados pelos adipócitos sob diferentes condições. O papel desses hormônios foi entendido melhor em modelos animais em camundongos; infelizmente, a extrapolação para as condições humanas tem sido difícil. No camundongo, a leptina é liberada pelos adipócitos conforme os níveis de triglicerídeos aumentam e sinaliza ao hipotálamo para reduzir o apetite e aumentar a atividade física. Camundongos que perderam a capacidade de secretar leptina (os camundongos ob) ou responder à leptina (os camundongos db) são obesos. A injeção de leptina em camundongos ob faz com que eles percam peso.

Foi demonstrado que adipócitos de camundongos liberam o hormônio resistina. Esse hormônio pode contribuir para a resistência à insulina nesses animais. O mecanismo pelo qual a resistina causa uma insensibilidade das células às ações da insulina é desconhecido. É de grande interesse, portanto, que a classe de fármacos conhecidos

como tiazolidinedionas, que são usadas em indivíduos com diabetes tipo 2, suprima a transcrição da resistina, reduza os níveis de resistina e aumente a sensibilidade à insulina nesses pacientes. Além disso, as tiazolidinedionas podem causar a *upregulation* da PEPCK do tecido adiposo, resultando na redução da saída de ácidos graxos do adipócito devido ao aumento da gliceroneogênese.

Em seres humanos, a adiponectina é secretada pelos adipócitos na proporção inversa à sua massa adiposa, ou seja, indivíduos magros secretam mais adiponectina do que os obesos. Isso é exatamente o contrário em relação à secreção de leptina. Os efeitos da adiponectina e como ela interage com a leptina e a resistina são áreas ativas da pesquisa atual.

Uma complicação adicional no caso da homeostasia de glicose e lipídeos é o efeito de receptores nucleares conhecidos como receptores de proliferação ativada de peroxissomas (PPAR, do inglês ***p**eroxisome **p**roliferator **a**ctivated **r**eceptors*). Tais receptores nucleares (ver Capítulo 10) existem em três formas: α, β/δ e γ. O PPARγ é encontrado em altos níveis nos adipócitos, e sua ativação leva à transcrição gênica necessária para a diferenciação do adipócito e a regulação do metabolismo de lipídeos. As tiazolidinedionas ativam os PPARγ, o que leva à diminuição dos níveis circulantes de resistina. O maior entendimento sobre os reguladores fisiológicos dos PPARγ também é uma área ativa de pesquisa. O papel dos PPAR no fígado é discutido no Capítulo 46.

Embora um aumento da ingestão de alimentos além das necessidades diárias resulte em um aumento do peso corporal e dos estoques de gordura, há uma grande variabilidade entre os indivíduos na quantidade de peso ganho para um dado número de calorias consumidas em excesso. Tanto fatores genéticos quanto ambientais influenciam no desenvolvimento da obesidade. Estudos de gêmeos idênticos que foram propositalmente superalimentados mostraram que a quantidade de peso ganho foi mais semelhante dentro dos grupos do que entre os grupos. Outros estudos de gêmeos idênticos e não-idênticos, nos quais os membros de um grupo foram criados separados, reforçam a conclusão de que a hereditariedade exerce um papel fundamental na determinação do peso corporal.

Leituras Sugeridas

Beale EG, Hammer RE, Antoine B, Forest C. Glyceroneogenesis comes of age. FASEB J. 2002; 16:1695-1696.

Berg AH, Combs TP, Scherer PE. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. Trends in Endocrinology and Metabolism 2002; 13:84-89.

Bouchard C, Tremblay A, Despres J-P, et al. The response to long-term overfeeding in identical twins. N Engl J Med 1990;322:1477-1482.

Girard J, Perderbeau D, Foufelle F, Prip-Buus C, Ferre P. Regulation of lipogenic enzyme gene expression by nutrients and hormones. FASEB J 1994;8:36-42.

Kern PA, Ong JM, Bahman S, Carty J. The effects of weight loss on the activity and expression of adipose-tissue lipoprotein lipase in very obese humans. N Engl J Med 1990;322:1053-1059.

Picard F, Auwerx, J. PPARγand glucose homeostasis. Annu Rev Nutr 2002;22:167-197.

Steppen CM et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. Nature 2001;409:307-312.

Stunkard A, Harris J, Pedersen N, McClearn G. The body-mass index of twins who have been reared apart. N Engl J Med 1990;322:1483-1487.

Sweeney G. Leptin signaling. Cellular Signalling 2002;14:655-663.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 33

1. Qual das seguintes alternativas está envolvida na síntese de triacilgliceróis no tecido adiposo?

   (A) Ácidos graxos obtidos dos quilomícrons e VLDL
   (B) Glicerol-3-fosfato derivado do glicerol do sangue
   (C) 2-Monoacilglicerol como um intermediário obrigatório
   (D) A lipoproteína lipase para catalisar a formação de pontes ésteres
   (E) Acetoacetil-CoA como um intermediário obrigatório

2. Uma molécula de ácido palmítico, ligada ao carbono 1 da porção glicerol do triacilglicerol, é ingerida e digerida. Ela vai para o sangue, é armazenada na célula adiposa e, finalmente, é oxidada a dióxido de carbono e água na célula muscular. Escolha o complexo molecular no sangue no qual o resíduo de palmitato é transportado do lúmen intestinal para a superfície da célula epitelial do intestino.

   (A) VLDL
   (B) Quilomícron
   (C) Complexo albumina-ácido graxo
   (D) Micela de sais biliares
   (E) LDL

3. Um paciente com hiperlipoproteinemia seria, provavelmente, mais beneficiado por uma dieta pobre em carboidratos se a lipoproteína que estivesse elevada no sangue fosse qual das seguintes?

   (A) Quilomícrons
   (B) VLDL
   (C) HDL
   (D) LDL
   (E) IDL

4. Qual das seguintes é uma característica da esfingosina?

   (A) Ela é convertida em ceramida por uma reação com UDP-açúcar.
   (B) Ela contém uma porção glicerol.
   (C) Ela é sintetizada a partir de palmitoil-CoA e serina.
   (D) Ela é uma precursora de cardiolipina.
   (E) Ela é sintetizada apenas em células neuronais.

5. Os ácidos graxos recém-sintetizados não são imediatamente degradados devido a qual das seguintes alternativas?

   (A) Os tecidos que sintetizam ácidos graxos não possuem as enzimas para a degradação de ácidos graxos.
   (B) Altos níveis de NADPH inibem a β-oxidação.
   (C) Na presença de insulina, a enzima-chave de degradação de ácidos graxos não é induzida.
   (D) Os ácidos graxos recém-sintetizados não podem ser convertidos em seus derivados CoA.
   (E) O transporte de ácidos graxos para a mitocôndria é inibido sob condições nas quais os ácidos graxos estão sendo sintetizados.

34 Absorção, Síntese, Metabolismo e Destino do Colesterol

O colesterol é uma das moléculas mais altamente conhecidas na biologia humana, em parte porque existe uma correlação direta entre sua concentração no sangue e nos tecidos e o desenvolvimento da ***doença vascular aterosclerótica****. Ele é transportado no sangue nas* ***lipoproteínas****, devido à sua absoluta insolubilidade em água, e serve como um* ***componente estabilizador das membranas celulares*** *e um precursor de* ***sais biliares*** *e* ***hormônios esteróides****. Precursores de colesterol são convertidos em* ***ubiquinona****,* ***dolicol*** *e, na pele, em* ***colecalciferol****,* ***a forma ativa da vitamina D****. Como o* ***principal componente das lipoproteínas****, o colesterol pode aparecer em sua forma livre, não-esterificada, na superfície externa dessas macromoléculas e como colesterol-ésteres no centro das lipoproteínas.*

O colesterol é obtido da dieta ou sintetizado por uma via que ocorre na maioria das células do corpo, mas em maior extensão nas células do fígado e do intestino. O precursor para a síntese do colesterol é o ***acetil-CoA****, o qual pode ser produzido a partir de glicose, ácidos graxos ou aminoácidos. Duas moléculas de acetil-CoA formam* ***acetoacetil-CoA****, o qual se condensa com outra molécula de acetil-CoA para formar* ***hidroximetilglutaril-CoA*** *(****HMG-CoA****). A redução do HMG-CoA produz* ***mevalonato****. Essa reação, catalisada pela* ***HMG-CoA-redutase****, é o principal passo limitante da síntese do colesterol. O mevalonato produz unidades de isopreno que se condensam, conseqüentemente formando* ***esqualeno****. A ciclização do esqualeno produz o sistema de anel esteróide, e uma série de reações subseqüentes geram o colesterol. O córtex adrenal e as gônadas também sintetizam colesterol em quantidades significativas e o utilizam como um precursor para a síntese de hormônios esteróides.*

O colesterol é empacotado em ***quilomícrons*** *no intestino e em* ***lipoproteínas de muito baixa densidade*** *(****VLDL****, do inglês* **v**ery **l**ow **d**ensity **l**ipoproteins*) no fígado. Ele é transportado no sangue nessas partículas de lipoproteínas, as quais também transportam triacilgliceróis. Quando os triacilgliceróis das lipoproteínas do sangue são digeridos pela lipoproteína-lipase, os quilomícrons são convertidos em* ***quilomícrons remanescentes****, e a VLDL é convertida em* ***lipoproteína de densidade intermediária*** *(****IDL****, do inglês* **i**ntermediate **d**ensity **l**ipoprotein*) e subseqüentemente em* ***lipoproteína de baixa densidade*** *(****LDL****, do inglês* **l**ow **d**ensity **l**ipoprotein*). Esses produtos retornam ao fígado, onde se ligam a receptores nas membranas das células e são captados por endocitose e digeridos por enzimas lisossomais. O LDL também sofre endocitose nos tecidos não-hepáticos (periféricos). O colesterol e outros produtos da digestão lisossomal são liberados dentro do* pool *celular. O fígado usa esse colesterol reciclado, e o colesterol que é sintetizado a partir do acetil-CoA, para produzir VLDL e para sintetizar os sais biliares.*

O colesterol intracelular obtido das lipoproteínas do sangue diminui a síntese de colesterol dentro das células, estimula o estoque de colesterol como colesterol esterificado e diminui a síntese de ***receptores de LDL****. Os receptores de LDL são encontrados na superfície das células e ligam várias classes de lipoproteínas antes da endocitose.*

Embora a lipoproteína de alta densidade (HDL) contenha triacilgliceróis e colesterol, sua função é muito diferente da dos quilomícrons e da VLDL, os quais transportam triacilgliceróis. A HDL troca proteínas e lipídeos com outras lipoproteínas no sangue. Ela transfere ***apoproteína E*** *(****apoE****) e* $\mathbf{apoC_{II}}$ *para os quilomícrons e a VLDL. Após a digestão dos triacilgliceróis da VLDL, a apoE e a* $apoC_{II}$ *são transferidas de*

volta à HDL. Além disso, a HDL obtém colesterol de outras lipoproteínas e de membranas celulares e o converte em ***colesterol-ésteres*** *pela reação da* ***lecitina:colesterol aciltransferase*** *(****LCAT****). Então, a HDL tanto transporta diretamente colesterol e colesterol esterificado para o fígado quanto transfere colesterol esterificado para outras lipoproteínas via* ***proteína transportadora de colesterol-éster*** *(****CEPT****, do inglês* **c**holesterol **e**ster **t**ransfer **p**rotein*). Finalmente, partículas de lipoproteínas carregam o colesterol e o colesterol esterificado para o fígado, onde ocorrem a endocitose e a degradação lisossomal. Portanto, o* ***"transporte reverso de colesterol"*** *(isto é, o retorno do colesterol para o fígado) é a principal função da HDL.*

Níveis elevados de colesterol no sangue estão associados à formação de ***placas ateroscleróticas*** *que podem ocluir os vasos sangüíneos, causando ataque cardíaco e derrame. Embora altos níveis de LDL-colesterol sejam especialmente aterogênicos, altos níveis de HDL-colesterol são protetores, uma vez que partículas de HDL estão envolvidas nos processos de remoção de colesterol dos tecidos, tais como células de revestimento dos vasos, e no retorno desse ao fígado.*

Os sais biliares, os quais são produzidos no fígado a partir do colesterol obtido das lipoproteínas do sangue ou sintetizado a partir do acetil-CoA, são secretados na bile. Eles são estocados na vesícula biliar e liberados no intestino durante uma refeição. Os sais biliares emulsificam os triacilgliceróis da dieta, conseqüentemente auxiliando na digestão. Os produtos digestivos são absorvidos pelas células epiteliais intestinais a partir das micelas de sais biliares, minúsculas microgotas que contêm sais biliares em sua interface com a água. Depois que o conteúdo das micelas é absorvido, a maior parte dos sais biliares vai para o íleo, onde eles são absorvidos e reciclados pelo fígado. Menos de 5% dos sais biliares que entram no lúmen do intestino delgado são finalmente excretados nas fezes.

Embora a excreção fecal de sais biliares seja relativamente pequena, essa é a principal forma pela qual o corpo descarta o núcleo esteróide do colesterol. Como a estrutura em anel do colesterol não pode ser degradada no organismo, essa é excretada principalmente na bile como colesterol livre e sais biliares.

Os hormônios esteróides, derivados do colesterol, incluem os hormônios do córtex adrenal (p. ex., cortisol, aldosterona e os esteróides sexuais deidroepiandrosterona [DHEA] e androstenediona) e os hormônios gonadais (p. ex., esteróides sexuais ovarianos e testiculares, como testosterona e estrógeno).



SALA DE ESPERA



Nesta consulta, o caso de **Ivan Applebod** foi revisado por seu médico. O Sr. Applebod apresenta vários fatores de risco maiores para doença coronariana cardíaca (DCC), os quais incluem estilo de vida sedentário, obesidade exagerada, hipertensão, hiperlipidemia e, recentemente, diabetes melito não-insulino-dependente (NIDDM, do inglês ***n****on-****i****nsulin-****d****ependent* ***d****iabetes* ***m****ellitus*). Infelizmente, ele não seguiu o aconselhamento de seu médico com relação à dieta para diabéticos planejada para produzir uma perda de peso significativa e também não seguiu um programa de exercícios aeróbicos. Como conseqüência, seu peso foi de 122,4 kg para 127,45 kg. Após um jejum de 14 horas, sua glicose sérica está agora em 214 mg/dL (normal, < 110), e seu nível de colesterol total está em 314 mg/dL (o nível desejado é 200 ou menos). Seu nível de triacilglicerol sérico está em 295 mg/dL (o nível desejado é 150 ou menos), seu HDL-colesterol sérico está em 24 mg/dL (o nível desejado é ≥ 40 para homens), e seu nível de LDL-colesterol calculado é de 231 mg/dL (o nível desejado para uma pessoa com dois ou mais fatores de risco para DCC é 130 mg/dL ou menos, entretanto, se um dos fatores de risco for diabetes melito, o nível de LDL-colesterol deve ser < 100 mg/dL).

Ann Jeina foi cuidadosamente acompanhada por seu médico após sobreviver a um ataque cardíaco. Antes de ser liberada do hospital, após 14 horas de jejum, seu nível de triacilglicerol era 158 mg/dL (levemente acima do limite superior normal), o de HDL-colesterol estava baixo, em 32 mg/dL (o normal para mulheres é ≥ 50), e o nível sérico de colesterol total estava elevado, em 420 mg/dL (valores de referência ≤ 200 para uma mulher com DCC conhecida). A partir desses valores, o nível de LDL-colesterol foi calculado como sendo de 356 mg/dL (o nível desejado para uma pessoa com doença cardíaca estabelecida é < 100).

Ambos os irmãos menores da Sra. Jeina apresentavam níveis de colesterol séricos "muito altos" e tinham sofrido ataque cardíaco na metade da década de seus quarenta anos. Com essa informação, foi feita uma suspeita de diagnóstico de hipercolesterolemia familiar, tipo IIA, e a paciente iniciou uma dieta de etapa 1 como recomendado pelo National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel III. Esse programa recomenda que decisões em relação ao momento de iniciar a terapia nutricional e medicamentosa sejam baseadas no nível sérico de LDL-colesterol, como descrito na Tabela 34.1.

Como uma dieta de etapa 1 (Tabela 34.2) geralmente baixa os níveis séricos de colesterol total e LDL em não mais de 15%, é provável que a dieta da Sra. Jeina tenha de restringir mais a gordura e o colesterol e que um ou mais medicamentos para diminuir os lipídeos tenham de ser adicionados ao plano de tratamento.

Vera Leizd é uma mulher de 34, anos cujas alterações da puberdade iniciaram aos 12 anos, levando ao desenvolvimento de características sexuais secundárias normais e ao início das menstruações aos 13 anos. Seus períodos menstruais ocorriam mensalmente nos 7 anos seguintes, mas o volume era pequeno. Aos 20 anos, ela notou um aumento gradual no intervalo intermenstrual do seu normal de 28 dias para 32 a 38 dias, e o volume de seu fluxo menstrual diminuiu gradualmente. Após 7 meses, seus períodos menstruais cessaram. Ela se queixou de oleosidade aumentada de sua pele, aparecimento de lesões semelhantes à acne na face e na parte superior das costas e aparecimento de pêlos terminais escuros pequenos nas áreas do bigode e suíças. A quantidade de pêlos nas extremidades também aumentou, e ela notou uma perda preocupante de cabelos.

I. ABSORÇÃO DE COLESTEROL PELO INTESTINO

A absorção de colesterol pelas células intestinais é o ponto regulatório-chave no metabolismo de esterol humano, uma vez que ela fundamentalmente determina qual a porcentagem dos 1.000 mg de colesterol biliar produzido pelo fígado a cada dia e qual a porcentagem dos

Tabela 34.1 ATP III: Metas de LDL-C e Pontos de Corte para a Terapia em Diferentes Categorias de Risco

Categoria de Risco	Meta de LDL (mg/dL)	Nível de LDL no Qual se Iniciam Mudanças Terapêuticas no Estilo de Vida	Nível de LDL no Qual se Cogita a Terapia com Fármacos (mg/dL)
CHD ou equivalentes de risco de CHD (risco de 10 anos > 20%)	< 100	≥ 100	≥ 130 (100-129; fármaco opcional)
2 ou + fatores de risco (risco de 10 anos ≤ 20%)	< 130	≥ 130	Risco de 10 anos: 10-20%: ≥ 130 <10%: ≥ 160
0-1 fator de risco	< 160	≥ 160	≥ 190 (160-189: fármaco para diminuição de LDL opcional)

LDL-C= colesterol de lipoproteína de baixa densidade; CHD= doença cardíaca coronariana.
Fonte: Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Programs (NCEP) Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Final Report, Circulation 2002; 106:3145-3457.

Até pouco tempo, a concentração de LDL-colesterol só podia ser diretamente determinada por meio de técnicas laboratoriais sofisticadas não-disponíveis para o uso na rotina clínica. Como conseqüência, a concentração do LDL-colesterol no sangue era obtida indiretamente pelo uso da fórmula de Friedewald: a soma dos níveis de HDL-colesterol e de triacilglicerol (TG) dividido por 5 (a qual dá uma estimativa do nível de VLDL-colesterol) subtraído do nível de colesterol total.

LDL-colesterol=
colesterol total – [HDL-colesterol + (TG/5)]

Essa equação fornece valores imprecisos dos níveis de LDL-colesterol em 15 a 20% das vezes e falha completamente quando os níveis de triacilgliceróis séricos excedem 400 mg/dL.

Um teste recentemente desenvolvido, chamado "LDL direto", isola o LDL-colesterol pelo uso de um reagente especial de imunoseparação. Esse ensaio direto para LDL-colesterol não somente é mais exato do que o cálculo indireto de Friedewald, como também não é alterado por níveis de leve a moderadamente elevados de triacilgliceróis séricos e pode ser usado por um paciente que não esteja em jejum. Ele não requer o custo da determinação dos níveis de colesterol sérico total, HDL-colesterol e triacilglicerol.

Tabela 34.2 Terapia Dietética para Colesterol Elevado no Sangue

Nutriente	Dieta de Etapa I	Dieta de Etapa II[a]
Colesterol[b]	< 300 mg/dia	< 200 mg/dia
Gordura total	≤ 30%[b]	30%
Gordura saturada	8-10%	< 7
Gordura poliinsaturada	≤ 10%	≤ 10%
Gordura monoinsaturada	≤ 15%	≤ 15%
Carboidratos	≥ 55%	≥ 55%
Proteínas	~15%	~15%
Calorias	Para atingir e manter o peso corporal desejado	

Com base em: NCEP. Second Report of the Adult Treatment Panel, JAMA, 1993; 269(23):3015-3023.
[a] A Dieta de Etapa II é aplicada se 3 meses da Dieta de Etapa I falharem em reduzir o colesterol sangüíneo aos valores desejados (ver Tabela 34.1).
[b] Exceto para valores dados em mg/dia, todos os valores são porcentagem do total de calorias ingeridas diariamente.

300 mg do colesterol da dieta que entra pelo intestino por dia é finalmente absorvida para dentro do sangue. Em indivíduos normais, aproximadamente 55% desse *pool* intestinal entram no sangue através dos enterócitos a cada dia. Os detalhes da absorção do colesterol a partir de fontes dietéticas foram apresentados no Capítulo 32.

Embora a absorção de colesterol a partir do lúmen intestinal seja um processo de difusão controlado, há também um mecanismo para remover o colesterol desnecessário ou excessivo e esteróides vegetais a partir do enterócito. O transporte de esteróides para fora do enterócito e para dentro do lúmen está relacionado ao produto de genes que codificam uma família de proteínas cassete de ligação de trifosfato de adenosina (ABC, do inglês ***a**denosine triphosphate (ATP)– **b**inding **c**assete*), ABC1, ABCG5 e ABCG8. Tais proteínas acoplam a hidrólise do ATP ao transporte de colesterol desnecessário ou excessivo e de esteróides vegetais (fitosteróis) a partir do enterócito de volta para dentro do lúmen intestinal. O colesterol não pode ser metabolizado a CO_2 e água e é, portanto, eliminado do organismo principalmente nas fezes, como esteróis não-reabsorvidos e sais biliares. A expressão das proteínas ABC aumenta a quantidade de esteróis presentes no lúmen intestinal, com o potencial para aumentar a eliminação de esteróis nas fezes. Pacientes com uma condição conhecida como fitosterolemia (uma doença autossômica recessiva rara, também conhecida como sitosterolemia) têm um defeito na função da ABCG5 ou da ABCG8 nos enterócitos, o que leva a um acúmulo de colesterol e fitosteróis dentro dessas células. O colesterol e os fitosteróis conseqüentemente alcançam a corrente sangüínea, elevando marcadamente o seu nível no sangue. Essa é a razão para o aumento da morbidade cardiovascular em indivíduos com tal distúrbio. Por meio desses experimentos da natureza, fica claro que agentes que tanto amplificam a expressão de proteínas ABC dentro do enterócito quanto bloqueiam a absorção do colesterol a partir do lúmen têm um potencial terapêutico no tratamento de pacientes com hipercolesterolemia. O ezetimibe, atualmente disponível para uso clínico, é um composto estruturalmente diferente dos esteróis. Sua ação primária para diminuir os níveis séricos de colesterol é bloquear a absorção desse por meio de um mecanismo específico de absorção de colesterol na membrana da borda em escova dos enterócitos, porém tal mecanismo ainda é pobremente caracterizado. O ezetimibe também pode induzir a expressão da proteína ABC, mas essa ação é relativamente sem importância na redução total da absorção do colesterol. Foi demonstrado que a redução da absorção do colesterol a partir do lúmen intestinal diminui os níveis sangüíneos do LDL-colesterol.

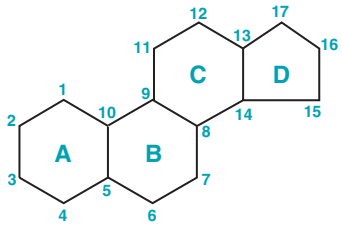


Figura 34.1 A estrutura básica do anel de esterol; o núcleo peridrociclopentanofenantreno. Cada anel está indicado pelas letras A, B,C ou D.

II. SÍNTESE DE COLESTEROL

O colesterol é um composto alicíclico cuja estrutura básica inclui o núcleo peridrociclopentanofenantreno contendo quatro anéis fundidos (Figura 34.1). Em sua forma livre, a molécula de colesterol contém 27 átomos de carbono, um único grupo hidroxila em C3, uma ligação dupla entre C5 e C6, uma cadeia de hidrocarboneto de oito membros, ligada ao carbono 17 no anel D, um grupo metila (carbono 19), ligado ao carbono 10, e um segundo grupo metila (carbono 18), ligado ao carbono 13 (Figura 34.2).

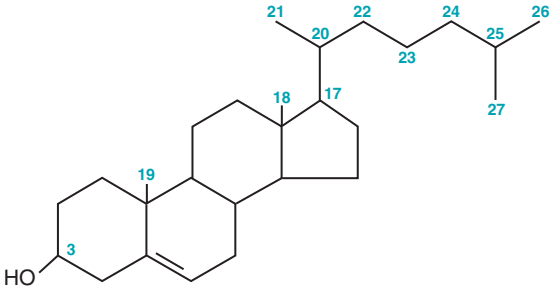


Figura 34.2 A estrutura do colesterol.

Aproximadamente um terço do colesterol no plasma apresenta a forma livre (ou não-esterificado). Os dois terços restantes existem como colesterol-ésteres, nos quais um ácido graxo de cadeia longa (em geral ácido linoléico) está unido por ligação éster ao grupo hidroxila no C3 do anel A. A proporção de colesterol livre e esterificado no sangue pode ser medida utilizando-se métodos como a cromatografia líquida de alta *performance* (HPLC, do inglês ***h**igh-**p**erformance **l**iquid **c**hromatography*).

A estrutura do colesterol sugere que a sua síntese envolva interações multimoleculares, especialmente porque todos os 27 carbonos são derivados de um precursor, o acetil-CoA. Esse pode ser obtido de várias fontes, incluindo a β-oxidação de ácidos graxos, a oxidação de aminoácidos cetogênicos, como a leucina e a lisina, e a reação da piruvato-desidrogenase. Os carbonos 1, 2, 5, 7, 9, 14, 15, 18, 19, 20, 22, 24, 26 e 27 do colesterol são derivados do grupo metila do acetil-CoA, e os 12 carbonos restantes a partir do átomo do carboxilato do acetil-CoA.

A síntese de colesterol requer um poder redutor significativo, o qual é fornecido na forma de NADPH. Esse é produzido pela glicose-6-fosfato-desidrogenase e pela 6-fosfogliconato-desidrogenase da via da hexose-monofosfato (ver Capítulo 29). A síntese do colesterol ocorre no citosol, requerendo a hidrólise de ligações tioésteres de alta energia do acetil-CoA e de ligações fosfoanidridos do ATP. Tal síntese ocorre em quatro estágios.

A. Estágio 1: Síntese de Mevalonato a partir de Acetil-CoA

O primeiro estágio da síntese do colesterol leva à produção do intermediário mevalonato (Figura 34.3). *A síntese de mevalonato é a etapa limitante responsável pela formação do colesterol*. Nessa via citoplasmática, duas moléculas de acetil-CoA se condensam formando acetoacetil-CoA, que, então, condensa-se com uma terceira molécula de acetil-CoA para produzir um composto de 6 carbonos, o β-hidróxi-β-metil-glutaril-CoA (HMG-CoA). A HMG-CoA-sintase nessa reação está presente no citosol e é diferente da HMG-CoA-sintase mitocondrial que catalisa a síntese de HMG-CoA envolvida na produção de corpos cetônicos. *O passo responsável e principal ponto de regulação da síntese do colesterol no estágio 1 envolve a redução de HMG-CoA a mevalonato, uma reação catalisada pela HMG-CoA-redutase, uma enzima ligada à membrana do retículo endoplasmático*. A HMG-CoA-redutase contém oito domínios transmembrana e o domínio aminoterminal, o qual se volta para o citoplasma e contém a atividade enzimática. Os equivalentes redutores para essa reação são doados por duas moléculas de NADPH. A regulação da atividade da HMG-CoA-redutase é controlada de várias formas.

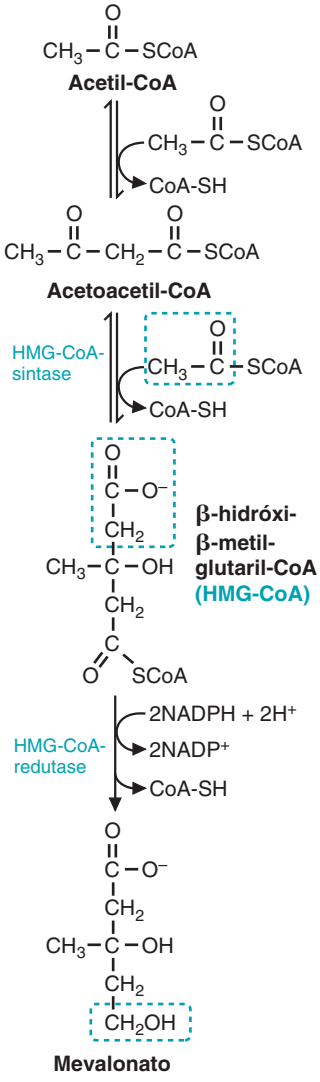


Figura 34.3 A conversão de três moléculas de acetil-CoA em ácido mevalônico.



Os níveis séricos de colesterol total e LDL-colesterol de **Ann Jeina** melhoraram apenas moderadamente após três meses de uma Dieta de Etapa I. Três meses adicionais em uma dieta mais severa de baixa gordura (Dieta de Etapa II) produziram pequena melhora adicional. O próximo passo terapêutico a ser iniciado é a terapia com fármacos hipolipidemiantes (ver Tabela 34.5).

1. CONTROLE TRANSCRICIONAL

A velocidade de síntese do RNA mensageiro (mRNA) da HMG-CoA-redutase é controlada por uma das famílias de proteínas de ligação ao elemento de regulação de esterol (SREBP, do inglês ***s**terol **r**egulatory **e**lement **b**inding **p**roteins*) (Figura 34.4A). Esses fatores de transcrição pertencem à família de fatores de transcrição chamados hélice-alça-hélice zíper de leucina (bHlH-Zip, do inglês ***b**asic **h**elix-**l**oop-**h**elix leucine*

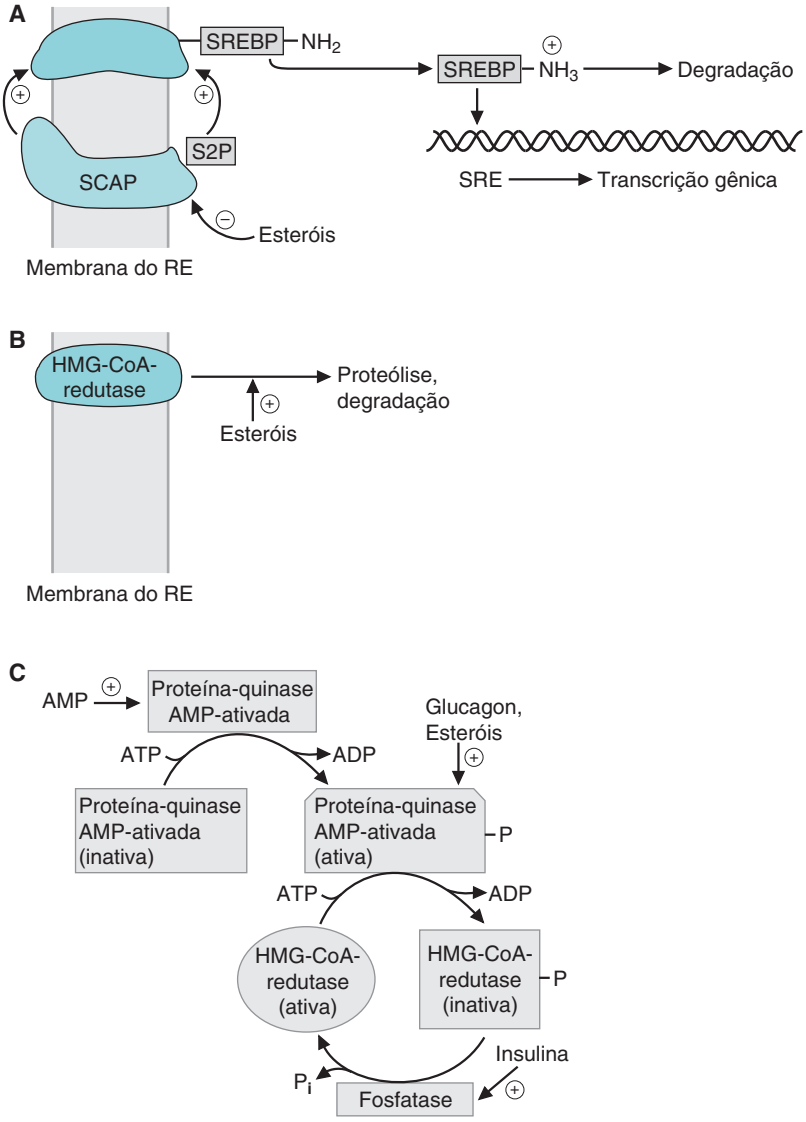


Figura 34.4 Regulação da atividade da HMG-CoA-redutase. Ver texto para detalhes. **A.** Controle transcricional. **B.** Regulação por proteólise. **C.** Regulação por fosforilação.

zip*per*), que ativam diretamente a expressão de mais de 30 genes dedicados à síntese e à captação de colesterol, ácidos graxos e fosfolipídeos, bem como à produção do cofator NADPH, necessário para a síntese dessas moléculas.

A SREBP1-a aumenta especificamente a transcrição de genes necessários para a expressão de HMG-CoA-redutase pela ligação ao elemento de regulação de esterol (SRE, do inglês ***s****terol* ***r****egulatory* ***e****lement*) *upstream* (corrente acima) do gene de redutase. Quando ligada, a velocidade de transcrição é aumentada. Os SREBP, após sua síntese, são proteínas integrais do RE, e o componente ativo da proteína é liberado por duas proteases, a proteína ativadora de clivagem da SREBP (SCAP, do inglês ***SREBP*** ***c****leavage-****a****ctiving* ***p****rotein*) e a protease do sítio 2 (S2P, do inglês ***s****ite* ***2*** ***p****rotease*). Uma vez liberado, o componente ativo aminoterminal vai para o núcleo para ligar-se aos SRE. Os SREBP solúveis são rapidamente renovados e precisam ser continuamente produzidos para estimular eficientemente a transcrição do mRNA da redutase. Quan-

do os níveis citoplasmáticos de esterol aumentam, ele se liga ao SCAP inativando-o, levando, com isso, ao decréscimo na transcrição do gene da redutase e a uma menor produção de proteína-redutase.

2. DEGRADAÇÃO PROTEOLÍTICA DA HMG-CoA-REDUTASE

Níveis aumentados de colesterol e sais biliares nas células que sintetizam essas moléculas também podem causar uma mudança no estado de oligomerização do domínio de membrana da HMG-CoA-redutase, tornando a enzima mais suscetível à proteólise (ver Figura 34.4B). Isso, por sua vez, diminui sua atividade. Os domínios de membrana da HMG-CoA-redutase contêm regiões esterol-sensíveis, as quais são similares àquela da SCAP.

3. REGULAÇÃO POR MODIFICAÇÃO COVALENTE

Além das influências indutivas e repressivas citadas anteriormente, a atividade da redutase é também regulada por fosforilação e desfosforilação (ver Figura 34.4.C). Níveis elevados de glucagon aumentam a fosforilação da enzima, dessa forma inativando-a, enquanto a hiperinsulinemia aumenta a atividade da redutase pela ativação de fosfatases que desfosforilam a redutase. Níveis aumentados de esterol intracelular também podem aumentar a fosforilação da HMG-CoA-redutase, o que, também reduz sua atividade (supressão por *feedback*). O hormônio da tireóide também aumenta a atividade da enzima, enquanto glicocorticóides diminuem a atividade. A enzima que fosforila a HMG-CoA-redutase é a proteína-quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMP), a qual é regulada pela proteína-quinase-quinase ativada por AMP. Portanto, a síntese de colesterol diminui quando os níveis de ATP estão baixos e aumenta quando os níveis de ATP estão altos. Isso ficará muito claro quando as reações da via biossintética do colesterol forem discutidas.

B. Estágio 2: Conversão de Mevalonato em Dois Isoprenos Ativados

No segundo estágio da síntese do colesterol, três grupos fosfato são transferidos para o mevalonato a partir de três moléculas de ATP (Figura 34.5). O objetivo dessas transferências de fosfato é a ativação do carbono 5 e do grupo hidroxila do carbono 3 para as reações posteriores nas quais esses grupos irão deixar a molécula. O grupo fosfato ligado ao grupo hidroxila do C-3 do mevalonato no intermediário 3-fosfo-5-pirofosfomevalonato é removido juntamente com o grupo carboxila no C1. Isso produz uma ligação dupla no carbono 5 do produto, Δ^3-isopentenil-pirofosfato, o primeiro dos dois isoprenos ativados necessários para a síntese do colesterol. O segundo isopreno ativado é formado quando o Δ^3-isopentenil-pirofosfato é isomerizado a dimetil-alil-pirofosfato (ver Figura 34.5).

C. Estágio 3: Condensação de Seis Isoprenos Ativados de 5 Carbonos para formar o Esqualeno de 30 Carbonos

O próximo estágio na biossíntese de colesterol envolve a condensação "cabeça-a-cabeça" do isopentenil-pirofosfato e do dimetil-alil-pirofosfato. Nessa reação, um grupo pirofosfato é retirado, e uma cadeia de 10 carbonos, conhecida como geranil-pirofosfato, é gerada (Figura 34.6). (A cabeça refere-se à extremidade na qual o pirofosfato está ligado). O geranil-pirofosfato, então, sofre outra condensação "cabeça-a-cabeça" com o isopentenil-pirofosfato, resultando na formação de um intermediário de 15 carbonos, o farnesil-pirofosfato. Depois disso, duas moléculas de farnesil-pirofosfato sofrem uma fusão "cabeça-a-cabeça", e ambos os grupos pirofosfato são removidos para formar o esqualeno, um composto primeiramente isolado a partir de fígado de tubarão (*genus Squalus*). O esqualeno contém 30 carbonos (24 na cadeia principal e 6 em ramificações de grupo metila; ver Figura 34.6).



Os grupos farnesila e geranila podem formar ligações covalentes com proteínas, particularmente proteínas G e certos produtos de proto-oncogenes envolvidos na transdução de sinal. Esses grupamentos hidrofóbicos ancoram as proteínas na membrana da célula.

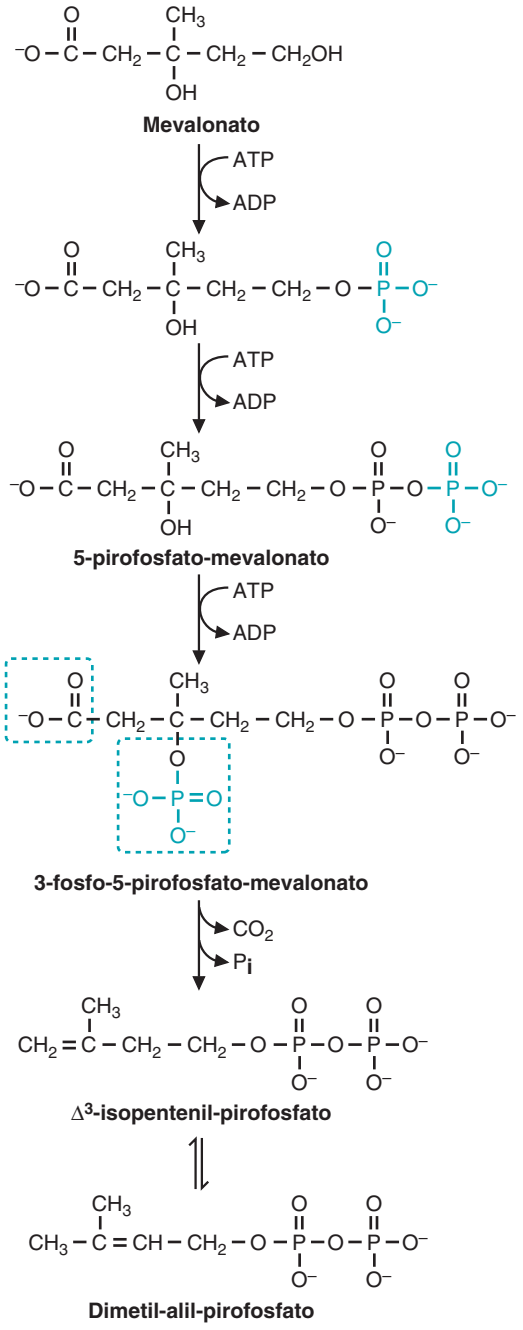


Figura 34.5 Formação de unidades isopreno ativadas (Δ^3-isopentenil-pirofosfato e dimetil-alil-pirofosfato) a partir do ácido mevalônico. Observe o grande requerimento de ATP para esses passos.

D. Estágio 4: Conversão de Esqualeno em Núcleo Esteróide de Quatro Anéis

A enzima esqualeno-monoxigenase adiciona um único átomo de oxigênio a partir do O_2 para a extremidade da molécula de esqualeno, formando um epóxido. O NADPH, então, reduz o outro átomo de oxigênio do O_2 a H_2O. Os carbonos insaturados do esqualeno-2,3-epóxido são alinhados em uma forma que permite a conversão do esqualeno-epóxido linear em uma estrutura cíclica. A ciclização leva à formação de lanosterol,

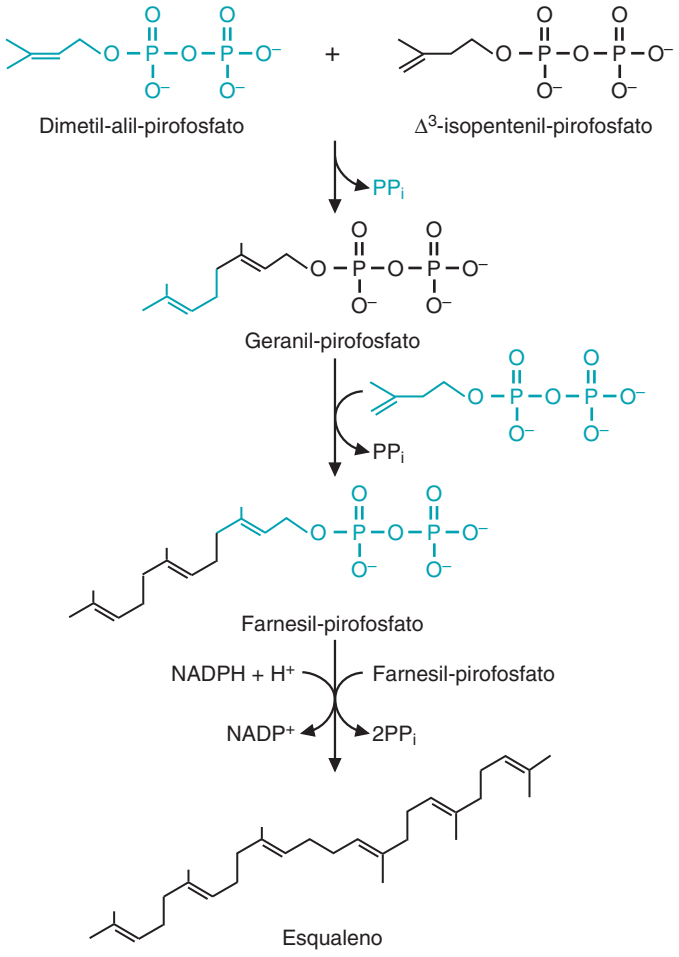


Figura 34.6 A formação de esqualeno a partir de seis unidades isopreno. A ativação de unidades de isopreno conduz a sua condensação para formar geranil-pirofosfato, farnesil-pirofosfato e esqualeno.

um esterol com a estrutura de quatro anéis característica do núcleo esteróide. Uma série de reações complexas, contendo vários passos e elucidada no final dos anos 1950, leva à formação do colesterol (Figura 34.7).

III. OS VÁRIOS DESTINOS DO COLESTEROL

Quase todas as células dos mamíferos são capazes de produzir colesterol. A maior parte da biossíntese do colesterol, entretanto, ocorre dentro das células do fígado, embora o intestino, o córtex adrenal e as gônadas (bem como a placenta de mulheres grávidas) também produzam quantidades significativas de esterol. Embora uma fração do colesterol hepático seja utilizada para a síntese de membranas hepáticas, a maior parte do colesterol sintetizado é secretado do hepatócito em uma das três formas: colesterol-ésteres, colesterol biliar ou ácidos biliares. A produção de colesterol-ésteres no fígado é catalisada pela acil-CoA-colesterol-aciltransferase (ACAT). Essa enzima catalisa a transferência de um ácido graxo a partir da coenzima A para o grupo hidroxila no carbono 3 do colesterol (Figura 34.8). Os ésteres de colesterol são mais hidrofóbicos do que o colesterol livre. O fígado empacota uma certa quantidade de colesterol esterificado no núcleo central de lipoproteínas, primariamente VLDL. A VLDL é secretada do hepatócito para dentro do sangue e transporta os colesterol-ésteres (e triacilgliceróis, fosfolipídeos, apoproteínas, etc.) para os tecidos que requerem maiores quantidades

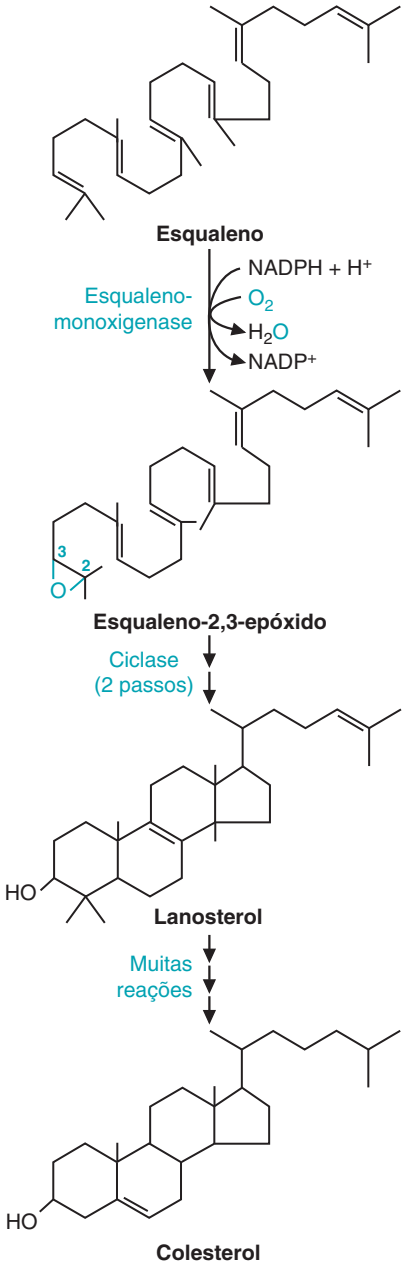


Figura 34.7 A conversão de esqualeno em colesterol. O esqualeno está representado em uma conformação diferente daquela da Figura 34.6 para melhor indicar como ocorre a reação de ciclização.

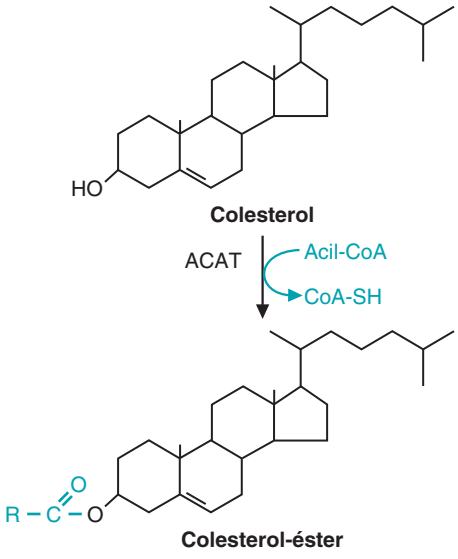


Figura 34.8 Reação da ACAT, produzindo colesterol-ésteres. ACAT= acil-CoA:colesterol-aciltransferase.

de colesterol do que podem sintetizar *de novo*. Tais tecidos, então, utilizam o colesterol para a síntese de membranas, para a formação de hormônios esteróides e para a biossíntese de vitamina D. Os colesterol-ésteres residuais que não são usados nessas vias são estocados no fígado para uso posterior. O *pool* de colesterol hepático também serve como uma fonte de colesterol para a síntese dos ácidos biliares relativamente hidrofóbicos e de seus sais. Esses derivados do colesterol são detergentes muito eficientes, uma vez que contêm regiões polares e apolares. Eles são introduzidos nos ductos biliares do fígado e são estocados e concentrados na vesícula biliar para serem posteriormente liberados no intestino em resposta à ingestão de alimento. Eles auxiliam na digestão de lipídeos intraluminais formando micelas, as quais aumentam a área de superfície de lipídeos exposta para a ação digestiva de lipases intraluminais. O colesterol livre também entra no lúmen do intestino via trato biliar (cerca de 1.000 mg diariamente, os quais se misturam com os 300 mg de colesterol da dieta para formar um *pool* intestinal, aproximadamente 55% do qual é reabsorvido pelos enterócitos e entram na corrente sangüínea diariamente). Em uma dieta com baixo carboidrato, o fígado irá sintetizar cerca de 800 mg de colesterol por dia para repor os sais biliares e o colesterol perdidos, a partir da circulação êntero-hepática, nas fezes. De modo inverso, uma maior ingestão de colesterol da dieta suprime a síntese de colesterol hepática (repressão por *feedback*).

IV. SÍNTESE DE SAIS BILIARES

A. Conversão de Colesterol em Ácido Cólico e Ácido Quenocólico

Os sais biliares são sintetizados no fígado a partir do colesterol por reações que hidroxilam o núcleo esteróide e clivam a cadeia lateral. Na primeira reação, um grupo α-hidroxila é adicionado ao carbono 7 (no lado α do anel B). A atividade da 7α-hidroxilase que catalisa esse passo limitante é diminuída pelos sais biliares (Figura 34.9).

Nos passos subseqüentes, a ligação dupla do anel B é reduzida, e uma hidroxilação adicional pode ocorrer. Dois grupos diferentes de compostos são produzidos. Um grupo possui grupos hidroxila nas posições 3, 7 e 12 e produz a série do ácido cólico de

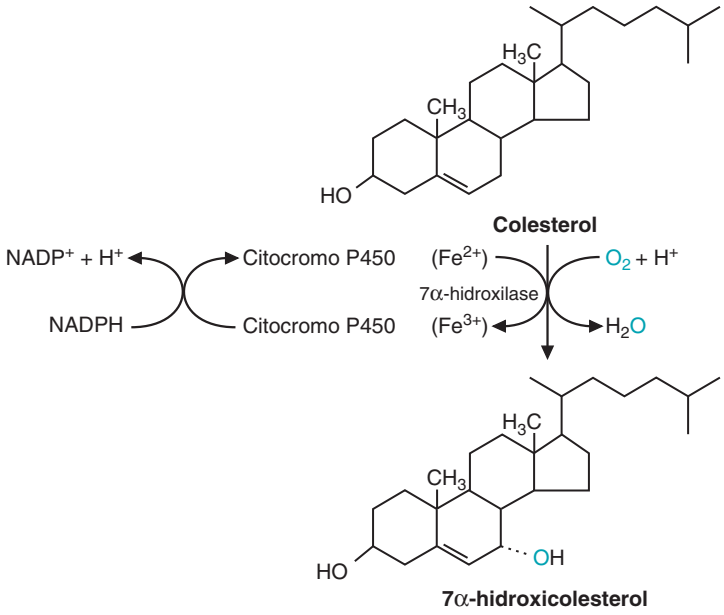


Figura 34.9 A reação catalisada pela 7α-hidroxilase. Um grupo α-hidroxila é formado na posição 7 do colesterol. Essa reação, a qual é inibida por sais biliares, é o passo limitante da síntese dos sais biliares.

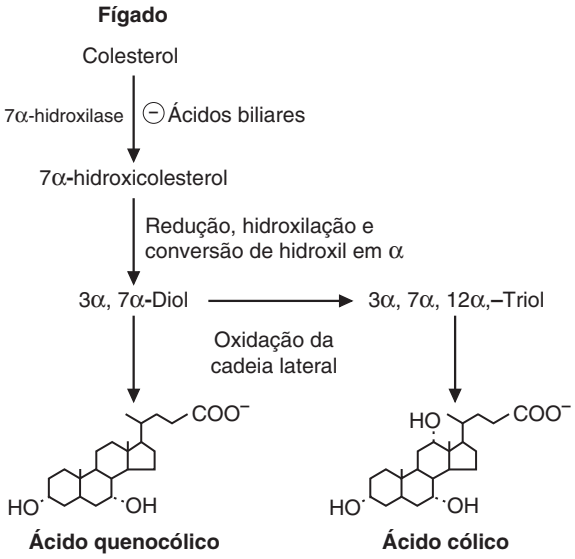


Figura 34.10 Síntese dos sais biliares. Dois grupos de sais biliares são gerados; um com grupos α-hidroxila nas posições 3 e 7 (a série do quenocolato) e outro com α-hidroxila nas posições 3, 7 e 12 (a série do colato).

sais biliares. O outro possui grupos α-hidroxila somente nas posições 3 e 7 e produz a série do ácido quenocólico (Figura 34.10). Três carbonos são removidos da cadeia lateral por uma reação de oxidação. O fragmento de 5 carbonos restante ligado à estrutura em anel contém um grupo carboxila (ver Figura 34.10).

O p*K* dos sais biliares é aproximadamente 6. Portanto, no conteúdo do lúmen intestinal, o qual tem normalmente um pH de 6, cerca de 50% das moléculas estão na forma protonada, e 50% estão ionizadas, as quais formam os sais biliares. (Os termos *ácidos biliares* e *sais biliares* são freqüentemente usados de modo intercambiáveis, mas *sais biliares*, na verdade, provêm da forma ionizada da molécula.)

B. Conjugação dos Sais Biliares

O grupo carboxila do final da cadeia lateral dos sais biliares é ativado por uma reação que requer ATP e coenzima A (CoA). Os derivados de CoA podem reagir com glicina ou com taurina (a qual é derivada da cisteína), formando amidas que são conhecidas como sais biliares conjugados. Nos ácidos glicocólico e glicoquenocólico, os ácidos biliares são conjugados com glicina. Esses compostos têm um p*K* de aproximadamente 4, e, portanto, comparados com as suas formas não-conjugadas, uma maior porcentagem de moléculas está presente na forma ionizada no pH do intestino. Os conjugados de taurina, os ácidos taurocólico e tauroquenocólico, têm um p*K* de aproximadamente 2. Portanto, comparados com os glicoconjugados, uma porcentagem ainda maior de moléculas desses conjugados está ionizada no lúmen do intestino (Figura 34.11).

V. DESTINO DOS SAIS BILIARES

Os sais biliares são produzidos no fígado e secretados para dentro da bile (Figura 34.12). Eles são estocados na vesícula biliar e liberados no intestino durante a refeição, na qual servem como um detergente que auxilia na digestão dos lipídeos da dieta (ver Capítulo 32).

As bactérias intestinais desconjugam e desidroxilam os sais biliares, removendo os resíduos de glicina e taurina e o grupo hidroxila da posição 7. Os sais biliares que não possuem um grupo hidroxila da posição 7 são chamados de sais biliares secundários. Os sais biliares desconjugados e desidroxilados são menos solúveis e, portanto,

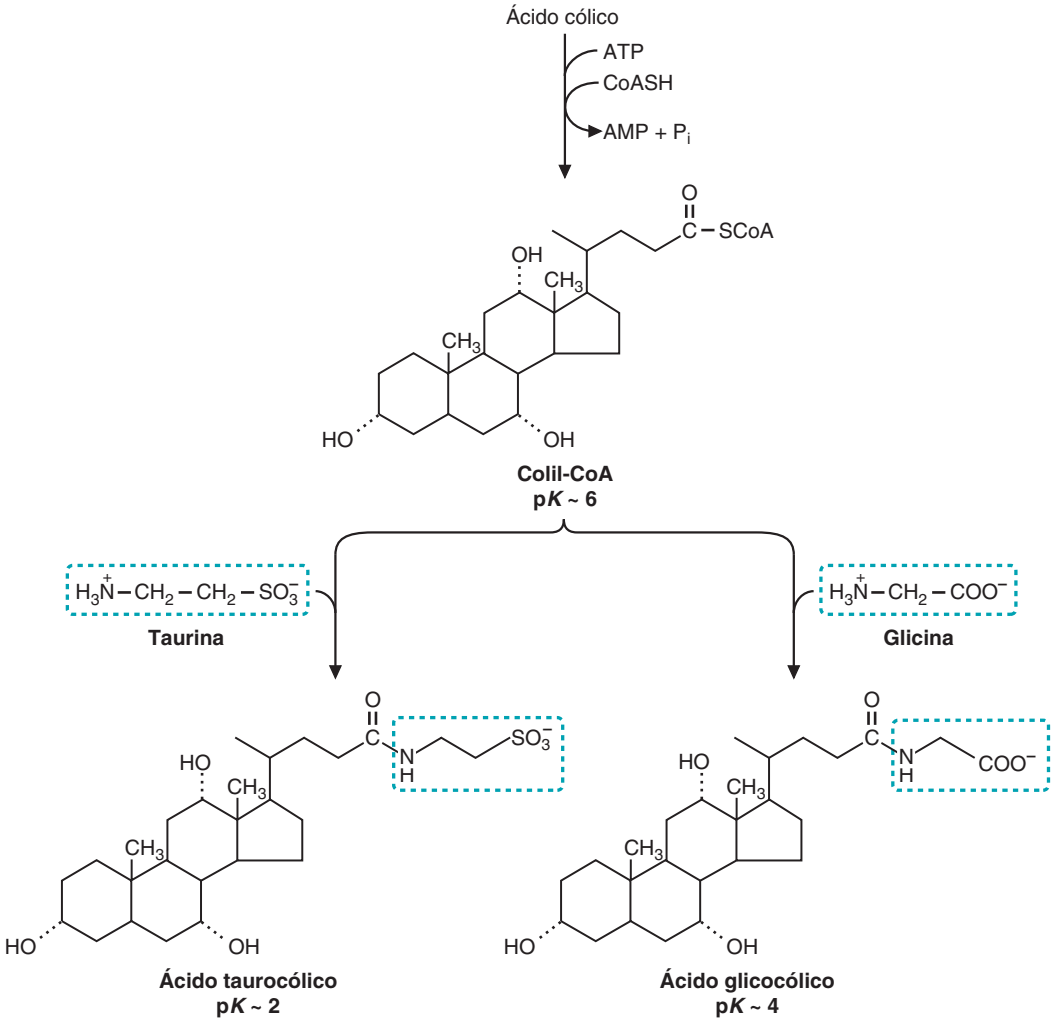


Figura 34.11 Conjugação de sais biliares. A conjugação diminui o p*K* dos sais biliares, tornando-os melhores detergentes; isto é, eles ficam mais ionizados no conteúdo do lúmen intestinal (pH ≈ 6) do que os sais biliares não-conjugados (p*K* ≈ 6). As reações são as mesmas para os sais biliares da série do ácido quenocólico.

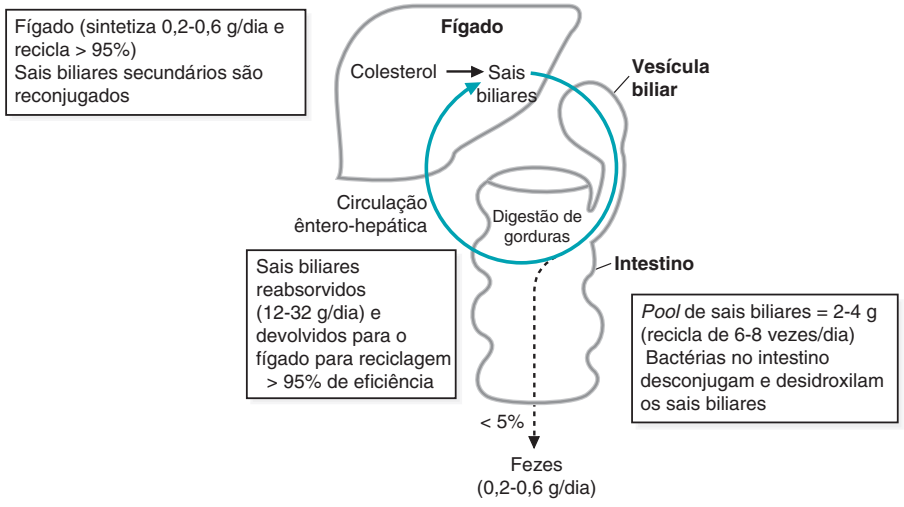


Figura 34.12 Visão geral do metabolismo dos sais biliares.

menos prontamente reabsorvidos a partir do lúmen intestinal do que os sais biliares que não foram submetidos à ação bacteriana (Figura 34.13). O ácido litocólico, um sal biliar secundário que tem um grupo hidroxila somente na posição 3, é o sal biliar menos solúvel. Seu principal destino é a excreção.

Mais de 95% dos sais biliares são reabsorvidos no íleo e retornam para o fígado via circulação êntero-hepática (via veia porta; ver Figura 34.12). Os sais biliares secundários podem ser reconjugados no fígado, mas não são reidroxilados. Os sais biliares são reciclados pelo fígado, o qual secreta-os para dentro da bile. Essa recirculação êntero-hepática de sais biliares é extremamente eficiente. Menos de 5% dos sais biliares que entram no intestino são excretados nas fezes a cada dia. Uma vez que o núcleo esteróide não pode ser degradado pelo organismo, a excreção de sais biliares serve como rota principal para a remoção do núcleo esteróide e, conseqüentemente, do colesterol do organismo.

VI. TRANSPORTE DE COLESTEROL PELAS LIPOPROTEÍNAS DO SANGUE

Uma vez que o colesterol e seus ésteres são hidrofóbicos e essencialmente insolúveis na água do sangue, como triacilgliceróis e fosfolipídeos, eles devem ser transportados através da corrente sangüínea empacotados como lipoproteínas. Essas macromoléculas são hidrossolúveis. Cada partícula de lipoproteína é composta por um centro de lipídeos hidrofóbicos, como colesterol-ésteres e triacilgliceróis envolvidos por uma capa de lipídeos polares (os fosfolipídeos), os quais permitem que uma capa de hidratação se forme em volta da lipoproteína (ver Figura 32.9). Isso ocorre quando a carga positiva do átomo de nitrogênio de um fosfolipídeo (fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina ou fosfatidilserina) forma uma ligação iônica com um íon hidroxil do meio carregado negativamente. Além disso, a superfície contém uma variedade de apoproteínas que também aumentam a solubilidade das lipoproteínas em água. Moléculas de colesterol livre estão distribuídas por toda a superfície da lipoproteína para estabilizá-la, de modo que permita a manutenção da sua forma esférica. Os principais carreadores de lipídeos são quilomícrons (ver Capítulo 32), VLDL e HDL. O metabolismo da VLDL levará à IDL e à LDL. O metabolismo dos quilomícrons leva à formação dos quilomícrons remanescentes.

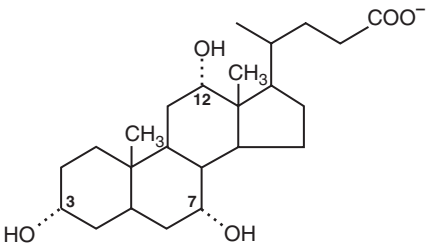
Através desse mecanismo carreador, os lipídeos deixam os seus tecidos de origem, entram na corrente sangüínea e são transportados para os tecidos onde seus componentes serão usados em processos sintéticos ou oxidativos, ou estocados para uso posterior. Além de contribuir para a hidrofobicidade e a estabilidade estrutural da partícula, as apoproteínas ("apo" define a proteína dentro da capa da partícula em sua forma livre de lipídeos) também têm outras funções, como (1) ativar certas enzimas necessárias ao metabolismo normal das lipoproteínas e (2) agir como ligantes na superfície da lipoproteína, o que as destina a receptores específicos nos tecidos periféricos que necessitam receber lipoproteínas para suas funções celulares inerentes. Dez principais apoproteínas foram caracterizadas. Seus tecidos de origem, massa molecular, distribuição dentro das lipoproteínas e funções metabólicas são apresentadas na Tabela 34.3.

As lipoproteínas são distribuídas dentro de oito classes. Algumas de suas características são mostradas na Tabela 34.4. Cada classe de lipoproteína tem uma função específica determinada pelo seu conteúdo de apoproteína, seu tecido de origem e a proporção da macromolécula constituída de triacilgliceróis, colesterol-ésteres, colesterol livre e fosfolipídeos (ver Tabelas 34.3 e 34.4).

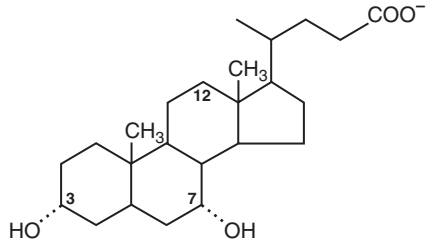
A. Quilomícrons

Os quilomícrons são as maiores lipoproteínas e as de menor densidade, devido ao seu alto conteúdo de triacilgliceróis. Eles são sintetizados a partir dos lipídeos da dieta (a via de lipoproteína "exógena") dentro das células epiteliais do intestino delgado e, então, secretados para dentro dos vasos linfáticos que drenam o intestino (ver Figura 32.13). Eles entram na corrente sangüínea via veia subclávia esquerda. As principais apoproteínas dos quilomícrons são a apoB-48, a apoC_{II} e a apoE (ver Tabela 34.3).

Sais biliares primários

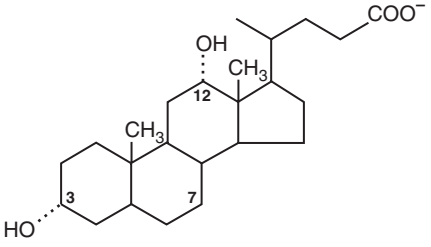


Ácido cólico

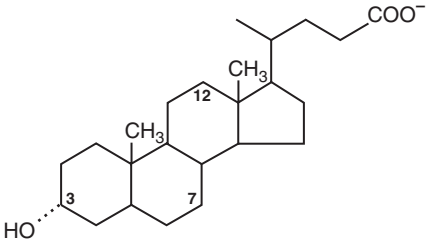


Ácido quenocólico

Sais biliares secundários



Ácido desoxicólico



Ácido litocólico

Figura 34.13 Estrutura dos sais biliares primários e secundários. Os sais biliares primários formam conjugados com taurina ou glicina no fígado. Após a secreção para dentro do intestino, eles podem ser desconjugados e desidroxilados pela flora bacteriana, formando os sais biliares secundários. Observe que a desidroxilação ocorre na posição 7, formando a família desoxi de sais biliares.

Tabela 34.3 Características das Principais Apoproteínas

Apoproteína	Tecido Primário de Origem	Massa Molecular (Dalton)	Distribuição nas Lipoproteínas	Função Metabólica
$ApoA_I$	Intestino, fígado	28.016	HDL (quilomícrons)	Ativa a LCAT; componente estrutural da HDL
$ApoA_{II}$	Fígado	17.414	HDL (quilomícrons)	Desconhecida
$ApoA_{IV}$	Intestino	46.465	HDL (quilomícrons)	Desconhecida (pode facilitar o transporte de outras apoproteínas entre HDL e quilomícrons)
ApoB-48	Intestino	264.000	Quilomícrons	Montagem e secreção de quilomícrons a partir do intestino delgado
ApoB-100	Fígado	540.000	VLDL, IDL, LDL	Montagem e secreção de VLDL; proteína estrutural de VLDL, IDL e LDL; ligante para receptor de LDL
$ApoC_I$	Fígado	6.630	Quilomícrons, VLDL, IDL, HDL	Desconhecida; pode inibir a captação hepática de quilomícrons e VLDL remanescentes
$ApoC_{II}$	Fígado	8.900	Quilomícrons VLDL, IDL, HDL	Co-fator ativador da lipoproteína-lipase (LPL)
$ApoC_{III}$	Fígado	8.800	Quilomícrons, VLDL, IDL, HDL	Inibidor da LPL; pode inibir a captação hepática de quilomícrons e VLDL remanescentes
ApoE	Fígado	34.145	Quilomícrons remanescentes, VLDL, IDL, HDL	Ligante para a união de várias lipoproteínas ao receptor de LDL, à proteína relacionada ao receptor de LDL (LRP) e possivelmente a um receptor de apoE específico
Apo(a)	Fígado		Lipoproteína a "pequena" (LP[a])	Desconhecida

A $apoC_{II}$ ativa a lipoproteína-lipase (LPL), uma enzima que se projeta para dentro do lúmen dos capilares em tecido adiposo, músculo cardíaco, músculo esquelético e células acinares do tecido mamário. Essa ativação permite que a LPL hidrolise os quilomícrons, o que leva à liberação de ácidos graxos livres derivados dos triacilgliceróis centrais da lipoproteína para essas células-alvo. As células musculares, então, oxidam os ácidos graxos como substrato energético, enquanto os adipócitos e as células mamárias os estocam como triacilgliceróis (gordura) ou, no caso da mama em lactação, utilizam-nos para a formação do leite. Os quilomícrons parcialmente hidrolisados que permanecem na corrente sangüínea (os **quilomícrons remanescentes**), agora parcialmente desprovidos de seus triacilgliceróis centrais, retêm suas proteínas apoE e apoB-48. Os receptores nas membranas plasmáticas das células do fígado ligam a apoE na superfície desses remanescentes, permitindo que eles sejam captados pelo fígado por um processo de endocitose mediada por receptor (ver a seguir).

B. Lipoproteínas de Muito Baixa Densidade (VLDL)

Se a ingestão dietética de ácidos graxos excede o requerimento imediato de substratos energéticos para o fígado, o excesso de ácidos graxos é convertido em triacilgliceróis, os quais, juntamente com colesterol esterificado e livre, fosfolipídeos e uma variedade

Tabela 34.4 Características das Principais Lipoproteínas

	Densidade	Partícula					
		Intervalo de		Lipídeos (%)*			
Lipoproteína	Intervalo (g/mL)	Diâmetro (nm)	Mobilidade Eletroforética	TG	Col	FL	Função
Quilomícrons	0,930	75-1.200	Origem	80-95	2-7	3-9	Distribuição dos lipídeos da dieta
Quilomícrons remanescentes	0,930-1,006	30-80	Pré-β lenta				Retorno dos lipídeos da dieta para o fígado
VLDL	0,930-1,006	30-80	Pré-β	55-80	5-15	10-20	Distribuição dos lipídeos endógenos
IDL	1,006-1,019	25-35	Pré-β lenta	20-50	20-40	15-25	Retorno dos lipídeos endógenos para o fígado; precursor de LDL
LDL	1,019-1,063	18-25	β	5-15	40-50	20-25	Distribuição de colesterol para as células
HDL_2	1,063-1,125	9-12	α	5-10	15-25	20-30	Transporte reverso de colesterol
HDL_3	1,125-1,210	5-9	α				Transporte reverso de colesterol
Lip(a)	1,050-1,120	25	Pré-β				

* A composição da porcentagem restante é constituída por apoproteínas.
Abreviações: TG= Triacilgliceróis; Col= a soma de colesterol livre e esterificado; FL= fosfolipídeos; VLDL= lipoproteínas de muito baixa densidade; IDL= lipoproteínas de densidade intermediária; LDL= lipoproteínas de baixa densidade; HDL= lipoproteínas de alta densidade.

de lipoproteínas (ver Tabela 34.3), incluindo apoB-100, apoC_{II} e ApoE, são empacotados para formar a VLDL. Essas partículas são, então, secretadas pelo fígado (a via "endógena" do metabolismo das lipoproteínas) para dentro da corrente sangüínea (Figura 34.14). A densidade, o tamanho e o conteúdo de lipídeos das partículas de VLDL estão apresentados na Tabela 34.3. Tais partículas são, então, transportadas a partir das veias hepáticas para os capilares dos músculos esquelético e cardíaco e do tecido adiposo, bem como para o tecido mamário em lactação, onde a lipoproteína lipase é ativada pela apoC_{II} da partícula de VLDL. A enzima ativada facilita a hidrólise do triacilglicerol da VLDL, causando a liberação de ácidos graxos e glicerol de uma parte dos triacilgliceróis centrais. Esses ácidos graxos são oxidados como substrato energético pelas células musculares, utilizados na síntese de triacilgliceróis nas células adiposas e utilizados para a produção de leite na mama em lactação. As partículas residuais que permanecem na corrente sangüínea são chamadas de **VLDL remanescentes**. Cerca de 50% dessas remanescentes são captadas do sangue pelas células do fígado por meio da ligação da apoE da VLDL ao receptor de apoE na membrana plasmática do hepatócito; em seguida, ocorre a internalização endocítica da VLDL remanescente.

C. Lipoproteínas de Densidade Intermediária (IDL) e Lipoproteínas de Baixa Densidade (LDL)

Aproximadamente metade das VLDL remanescentes não são captadas pelo fígado, mas, em vez disso, triacilgliceróis centrais adicionais são removidos para formar a IDL, uma classe especializada de VLDL remanescente. Com a remoção adicional de triacilgliceróis da IDL, por meio da ação da triglicerídeo-lipase hepática dentro dos sinusóides hepáticos, a LDL é gerada, a partir da IDL. Como visto na Tabela 34.4, as partículas de LDL são ricas em colesterol e colesterol-ésteres. Cerca de 60% da LDL é transportada de volta ao fígado, onde sua apoB-100 se liga a receptores específicos para essa apoproteína nas membranas plasmáticas das células, permitindo que as par-

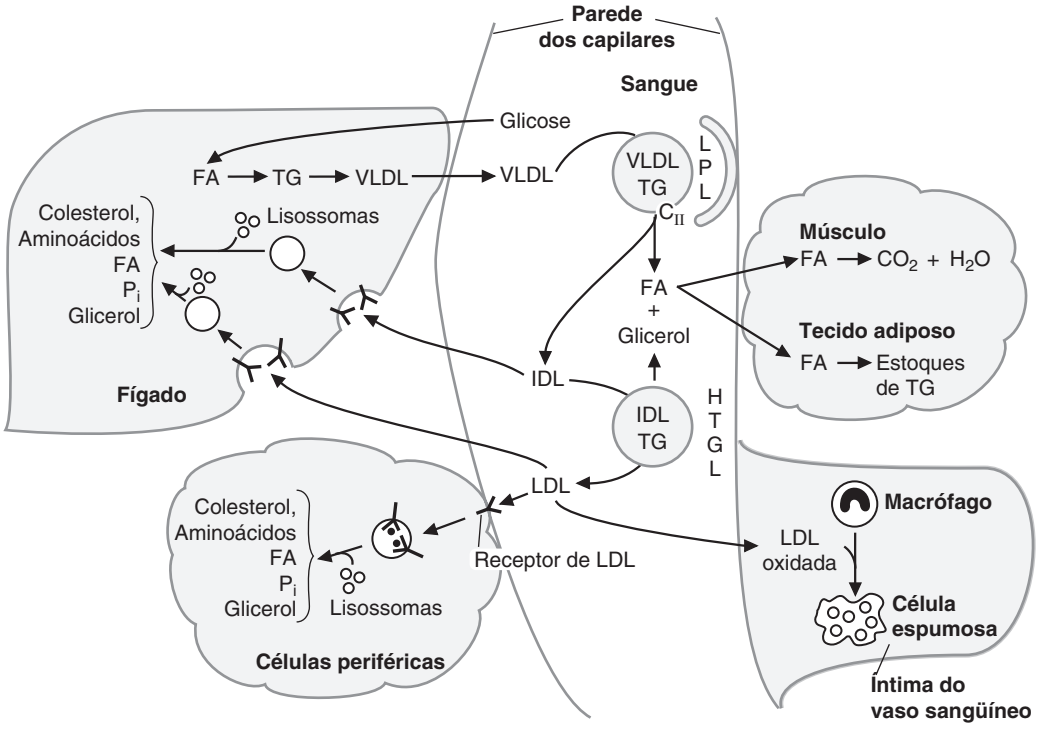


Figura 34.14 Destino da VLDL. O triacilglicerol (TG) da VLDL é degradado pela LPL formando IDL. A IDL pode ser endocitada pelo fígado por meio de processo mediado por receptor ou ser adicionalmente digerida, principalmente pela triacilglicerol-lipase hepática (HTGL), para formar LDL. Essa pode ser endocitada por processo mediado por receptor no fígado ou em células periféricas. Ela também pode ser oxidada e captada por receptores *scavenger* nos macrófagos. A via *scavenger* participa da aterosclerose. FA= ácido graxo; P_i= fosfato inorgânico.

tículas sejam captadas por endocitose para dentro do hepatócito. Os 40% de partículas de LDL restantes são levados para os tecidos extra-hepáticos, tais como células adrenocorticais e gonadais que também contêm receptores de apoB-100, permitindo a eles internalizarem partículas de LDL e utilizarem o colesterol dessas para a síntese de hormônios esteróides. Uma certa quantidade do colesterol da LDL internalizada é usada para a síntese de membrana e de vitamina D. Se um excesso de partículas de LDL está presente no sangue, essa captação específica de LDL mediada por receptor pelos tecidos hepático e não-hepáticos se torna saturada. O "excesso" de partículas de LDL é, nessas circunstâncias, mais prontamente disponível para a captação não-específica de LDL por macrófagos (células *scavenger*) presentes próximo às células endoteliais das artérias. Acredita-se que essa exposição das células endoteliais vasculares a altos níveis de LDL induza a uma resposta inflamatória por essas células, um processo que se sugere que inicie a complexa cascata da aterosclerose discutida a seguir.

D. Lipoproteína de Alta Densidade (HDL)

A quarta classe de lipoproteínas é a HDL, a qual tem vários papéis no metabolismo lipídico no corpo como um todo.

1. SÍNTESE DE HDL

As partículas de HDL podem ser geradas por uma série de mecanismos. O primeiro é a síntese de HDL nascente pelo fígado e pelo intestino como uma molécula relativamente pequena, cuja superfície, semelhante a outras lipoproteínas, contém fosfolipídeos, colesterol livre e uma variedade de apoproteínas, sendo as predominantes apoA_I, apoA_{II}, apoC_I e apoC_{II} (ver Tabela 34.3). Níveis muito baixos de triacilgliceróis e colesterol-ésteres são encontrados no núcleo central dessa versão precoce, ou nascente, de HDL.

Um segundo método para a geração de HDL é o brotamento de apoproteínas a partir de partículas de quilomícrons e VLDL quando elas são digeridas pela lipoproteína-lipase. As apoproteínas (particularmente A_I) e a superfície podem, então, acumular mais lipídeos, como descrito a seguir.

Um terceiro método para a geração de HDL é a apoproteína A_I livre, a qual pode ser desprendida de outras lipoproteínas circulantes. A A_I irá adquirir colesterol e fosfolipídeos de outras lipoproteínas e membranas celulares para formar uma partícula semelhante a HDL nascente dentro da circulação.

2. MATURAÇÃO DA HDL NASCENTE

No processo de maturação, as partículas de HDL nascente acumulam fosfolipídeos e colesterol das células que revestem os vasos sangüíneos. Quando o núcleo central da HDL nascente progressivamente se preenche com colesterol-ésteres, a HDL adquire uma forma mais globular para finalmente formar a partícula de HDL madura. A transferência de lipídeos para a HDL nascente não requer atividade enzimática.

3. TRANSPORTE REVERSO DE COLESTEROL

O principal benefício das partículas de HDL deriva de sua habilidade em remover colesterol a partir das células carregadas de colesterol e retorná-lo para o fígado, em um processo conhecido como transporte reverso do colesterol. Isso é particularmente benéfico para o tecido vascular por reduzir os níveis de colesterol celular no espaço subintimal, reduzindo a probabilidade de formação de células espumosas (*foam cells*) (macrófagos carregados de lipídeos que engolfam LDL-colesterol oxidado e representam o primeiro estágio no desenvolvimento da placa aterosclerótica) que irão se formar dentro das paredes dos vasos sangüíneos.

O transporte reverso de colesterol requer um movimento direcional do colesterol das células para as partículas de lipoproteína. As células contêm a proteína ABC1 (proteína cassete de ligação de ATP 1, do inglês ***A**TP-**b**inding **c**assete protein **1***), a qual utiliza a hidrólise do ATP para mover o colesterol do lado interno da membrana para o lado externo. Uma vez que o colesterol tenha atingido o lado externo da membrana,

a partícula de HDL pode aceitá-lo, mas se ele não for modificado dentro da partícula de HDL, pode deixá-la pela mesma rota pela qual entrou. Para aprisionar o colesterol dentro do núcleo da HDL, a partícula de HDL obtém a enzima LCAT da circulação (a LCAT é sintetizada e secretada pelo fígado). A LCAT catalisa a transferência de um ácido graxo da posição 2 da lecitina (fosfatidilcolina) da superfície fosfolipídica da partícula para o grupo 3-hidroxila do colesterol, formando um colesterol-éster. (Figura 34.15). Esse migra para o centro da partícula de HDL e não está mais livre para retornar à célula.

Níveis elevados de colesterol associado a lipoproteínas no sangue, particularmente aqueles associados à LDL, mas, também, aqueles presentes em lipoproteínas mais ricas em triacilgliceróis, estão associados à formação de placas de ateroma ricas em colesterol nas paredes dos vasos, finalmente levando à doença vascular aterosclerótica difusa, resultando em eventos cardiovasculares agudos, como infarto do miocárdio, derrame ou insuficiência vascular periférica sintomática. Portanto, acredita-se que altos níveis de HDL sejam vasoprotetores, uma vez que esses altos níveis aumentam a taxa de transporte reverso de colesterol "para fora" dos vasos sangüíneos "em direção ao" fígado ("para fora da via de perigo").

4. DESTINO DO COLESTEROL HDL

As partículas de HDL maduras podem se ligar a receptores específicos nos hepatócitos (como o receptor de apoE), mas a principal forma para a retirada da HDL do sangue é

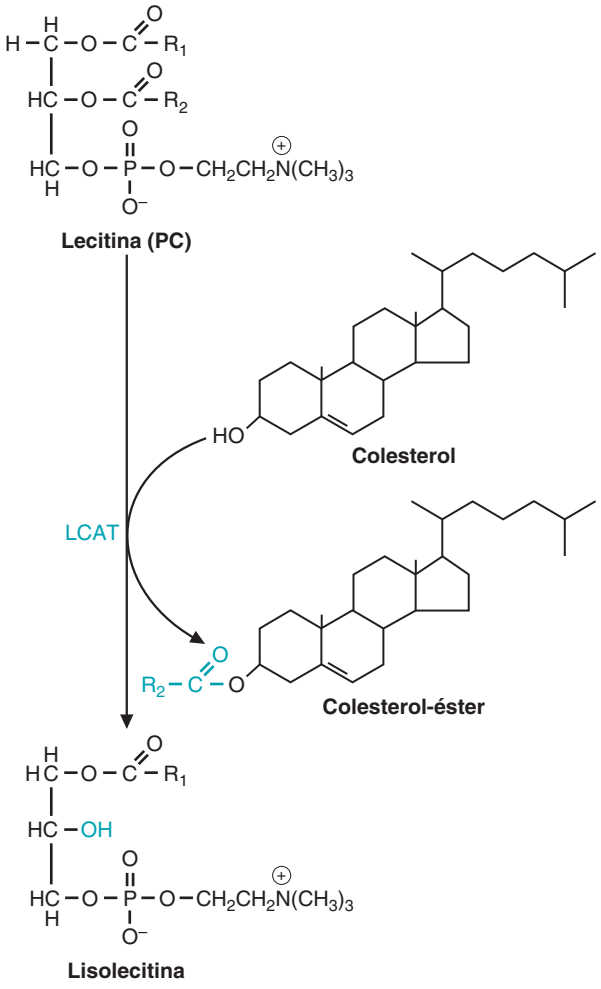


Figura 34.15 Reação catalisada pela LCAT. R1= ácido graxo saturado, R2= ácido graxo insaturado.

Dois distúrbios geneticamente determinados, a deficiência de HDL familiar e a doença de Tangier, resultam de mutações na proteína cassete de ligação de ATP 1 (ABC1). A HDL sem colesterol não pode transportar colesterol livre das células que perdem a capacidade de expressar essa proteína. Como conseqüência, o HDL é rapidamente degradado. Esses distúrbios estabeleceram o papel para a proteína ABC1 na regulação dos níveis de HDL no sangue.

Uma vez que **Ann Jeina** continuou sentindo dor no peito intermitente, apesar do bom controle de sua hipertensão e de ter emagrecido 9 kg, seu médico decidiu que um tratamento com dois fármacos para diminuir o nível de LDL-colesterol no sangue deveria ser adicionado às medidas dietéticas já adotadas. Então, foi iniciado o tratamento com colestiramina, uma resina que liga alguns dos sais biliares no lúmen intestinal, e com pravastatina, um inibidor da HMG-CoA-redutase.

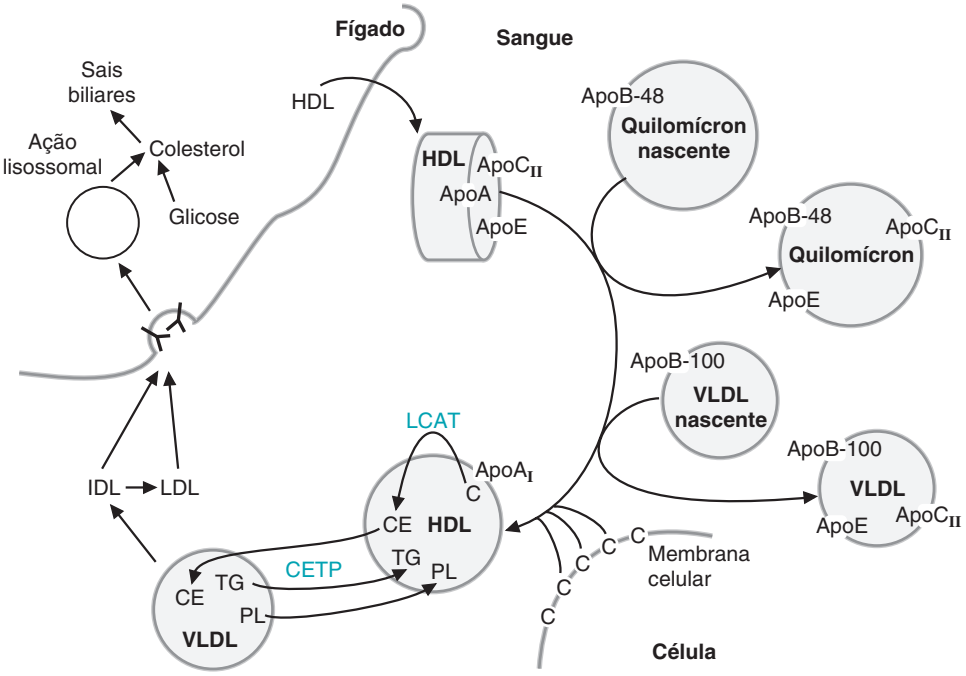


Figura 34.16 Funções e destino de HDL. A HDL nascente é sintetizada no fígado e nas células intestinais. Ela troca proteínas com quilomícrons e VLDL. A HDL adquire colesterol (C) das membranas das células, o qual é convertido em colesterol-éster (CE) pela reação da LCAT. A HDL transfere CE para a VLDL em troca de triacilglicerol (TG). A proteína transferidora de colesterol-éster (CETP) medeia essa troca. PL= fosfolipídeos.

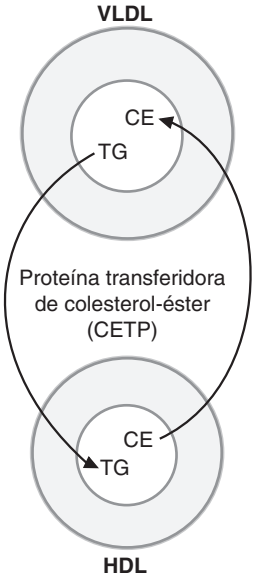


Figura 34.17 Função da proteína transferidora de colesterol-éster (CETP). A CETP transfere colesterol-ésteres (CE) da HDL para a VLDL em troca de triacilglicerol (TG).

a captação pelo receptor *scavenger* SR-B1. Esse receptor está presente em vários tipos celulares. Ele não faz endocitose *per se*, mas, uma vez que a partícula de HDL esteja ligada ao receptor, o colesterol e os colesterol-ésteres dessa partícula são transferidos para dentro das células. Quando desprovida de colesterol e de seus ésteres, a partícula de HDL se dissocia do receptor SR-B1 e entra novamente na circulação. Os receptores SR-B1 podem sofrer *upregulation* (regulação positiva) em certos tipos celulares que requerem colesterol para propósitos biossintéticos, como as células que produzem hormônios esteróides. Os receptores SR-B1 não sofrem *downregulation* (regulação negativa) quando os níveis de colesterol estão altos.

5. INTERAÇÕES DA HDL COM OUTRAS PARTÍCULAS

Além de sua capacidade para retirar o colesterol das membranas celulares, a HDL também troca apoproteínas e lipídeos com outras lipoproteínas no sangue. Por exemplo, ela transfere apoproteína E (apoE) e apoproteína C_{II} (apoC_{II}) para quilomícrons e VLDL. A apoC_{II} estimula a degradação dos triacilgliceróis de quilomícrons e VLDL pela ativação da LPL (Figura 34.16). Após a digestão dos triacilgliceróis dos quilomícrons e das VLDL, a apoE e a apoC_{II} são transferidas de volta para a HDL. Quando a HDL obtém colesterol livre das membranas celulares, esse é esterificado em seu terceiro carbono do anel A via reação da LCAT (ver Figura 34.14). A partir desse ponto, a HDL transporta o colesterol livre e o esterificado diretamente para o fígado, como descrito anteriormente, ou, por ação da CETP, transporta-os para lipoproteínas circulantes ricas em triacilgliceróis tais como VLDL e VLDL remanescentes (ver Figura 34.16). Em troca, os triacilgliceróis dessas lipoproteínas são transferidos para a HDL (Figura 34.17). Quanto maior a concentração sangüínea dessas lipoproteínas ricas em colesterol, maior a velocidade de tais trocas. Então, a via de troca pela CETP pode explicar por que, sempre que lipoproteínas ricas em triacilgliceróis estão presentes no sangue em altas concentrações, a quantidade de colesterol que chega ao fígado via VLDL e VLDL remanescentes enriquecidas por colesterol aumenta. Da mesma forma, ocorre uma redução proporcional na quantidade total de colesterol e colesterol-ésteres que são diretamente transferidos para o fígado via HDL. Partículas de HDL maduras são

designadas como HDL_3; após a reação da CETP, com a perda de colesterol e o ganho de triacilglicerol, as partículas se tornam maiores e são designadas como partículas de HDL_2 (ver Tabela 34.4).

VII. AS LIPOPROTEÍNAS ENTRAM NAS CÉLULAS POR ENDOCITOSE MEDIADA POR RECEPTOR

Como dito anteriormente, cada partícula de lipoproteína contém apoproteínas específicas em suas superfícies que agem como ligantes para receptores específicos de membrana plasmática em tecidos-alvo como, fígado, córtex adrenal, gônadas e outras células que requerem um ou mais componentes de lipoproteínas. Com exceção do receptor *scavenger* SR-B1, a interação de ligante e receptor inicia o processo de endocitose para LDL representado na Figura 34.18. Por exemplo, os receptores para LDL são encontrados em áreas específicas da membrana plasmática de células-alvo para lipoproteínas circulantes. Tais áreas são conhecidas como invaginações recobertas (*coated pits*) e contêm uma única proteína chamada clatrina. A membrana plasmática nas adjacências do complexo receptor-LDL se invagina e se funde para formar uma vesícula endocítica. Essas vesículas, então, fundem-se com lisossomas, vesículas subcelulares ácidas que contêm uma variedade de enzimas degradativas. O colesterol-éster da LDL é hidrolisado para formar colesterol livre, o qual é rapidamente reesterificado por meio da ação da ACAT. Essa reesterificação rápida é necessária para evitar os efeitos danosos de altos níveis de colesterol livre sobre as membranas celulares. O colesterol recém-esterificado contém primariamente oleato ou palmitoleato (ácidos graxos monoinsaturados), diferente daqueles dos ésteres de colesterol da LDL, os quais são ricos em linoleato, um ácido graxo poliinsaturado.

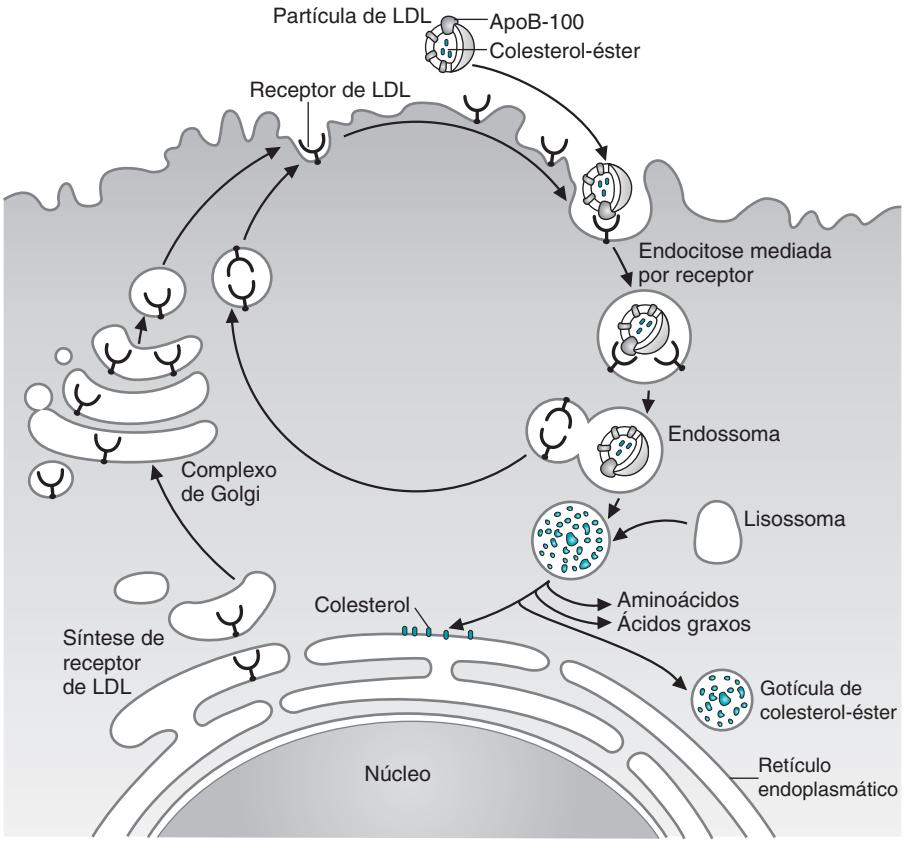


Figura 34.18 Captação de colesterol por endocitose mediada por receptor.

Da mesma forma que para a síntese e a atividade da HMG-CoA-redutase, a síntese de receptor de LDL é sujeita à inibição por *feedback* por níveis aumentados de colesterol dentro das células. Um mecanismo provável para essa regulação por *feedback* envolve uma ou mais SREBP, descritas anteriormente. Essas proteínas ou os co-fatores que são necessários para a expressão completa dos genes que codificam o receptor de LDL são também capazes de perceber a concentração de esteróis dentro da célula. Quando os níveis de esterol estão altos, o processo que leva à ligação da SREBP ao elemento regulatório de esterol desses genes é suprimido (ver Figura 34.4). A velocidade de síntese do receptor de LDL a partir do mRNA é diminuída sob essas circunstâncias. Isso, por sua vez, reduz adequadamente a quantidade de colesterol que pode entrar nessas células ricas em colesterol por endocitose mediada por receptor (*downregulation* da síntese do receptor). Quando os níveis intracelulares de colesterol diminuem, esses processos são revertidos, e as células agem para aumentar seus níveis de colesterol. Ambas as sínteses de colesterol, a partir de acetil-CoA e do receptor de LDL, são estimuladas. Um número aumentado de receptores (*upregulation* da síntese do receptor) resulta em um aumento da captação do LDL-colesterol a partir do sangue com uma subseqüente redução dos níveis de LDL-colesterol. Ao mesmo tempo, o *pool* de colesterol celular é reabastecido.

VIII. RECEPTORES DE LIPOPROTEÍNAS

O receptor de lipoproteínas mais bem caracterizado, o receptor de LDL, reconhece especificamente apoB-100 e apoE. Portanto, tal receptor liga VLDL, IDL e quilomícrons remanescentes além da LDL. A reação de ligação é caracterizada por sua saturabilidade e ocorre com alta afinidade e reduzida faixa de especificidade. Outros receptores, como proteínas relacionadas ao receptor de LDL (LRP, do inglês ***LDL r**eceptor-related **p**roteins*) e receptor *scavenger* de macrófagos (particularmente os tipos SR-A1 e SR-A2, os quais estão localizados principalmente próximos à superfície endotelial de células endoteliais vasculares), têm especificidade ampla e ligam vários outros ligantes além das lipoproteínas do sangue.

A. O Receptor de LDL

O receptor de LDL tem uma estrutura em mosaico codificada por um gene que foi montado por um processo conhecido como embaralhamento de éxon (*exon shuffling*). Ele é composto por seis regiões diferentes (Figura 34.19). A primeira região, no terminal amino, contém a região ligadora de LDL, uma seqüência de 40 resíduos rica em cisteína. Cadeias laterais ácidas nessa região ligam cálcio iônico. Quando essas cadeias laterais estão protonadas, o cálcio é liberado de seus sítios de ligação. Tal liberação leva a mudanças conformacionais que permitem que a LDL se desconecte de seu sítio de ancoragem no receptor. Pontes dissulfeto formadas a partir dos resíduos de cisteína têm uma influência estabilizadora na integridade estrutural dessa porção do receptor.

A segunda região do receptor contém domínios que são homólogos ao fator de crescimento epidérmico (EGF, do inglês ***e**pidermal **g**rowth **f**actor*), bem como um complexo consistindo em seis unidades repetitivas que se assemelham às lâminas da subunidade β da transducina, formando uma porção semelhante a uma hélice.

A terceira região do receptor de LDL contém uma cadeia de oligossacarídeos N-ligados, enquanto a quarta região contém um domínio rico em serina e treonina e que contém açúcares O-ligados. Essa região exerce um papel que promove a extensão física do receptor para fora da membrana de forma que a região ligadora de LDL esteja acessível para a molécula de LDL.

A quinta região contém 22 resíduos hidrofóbicos constituindo a unidade transmembrana do receptor, enquanto a sexta região se estende para dentro do citosol, onde ela regula a interação entre o domínio C-terminal do receptor de LDL e a invaginação recoberta contendo clatrina em que o processo de endocitose mediada por receptor é iniciado.

O número de receptores de LDL, a ligação da LDL ao seu receptor e o processo de ligação pós-receptor podem estar diminuídos por uma variedade de razões, todas as

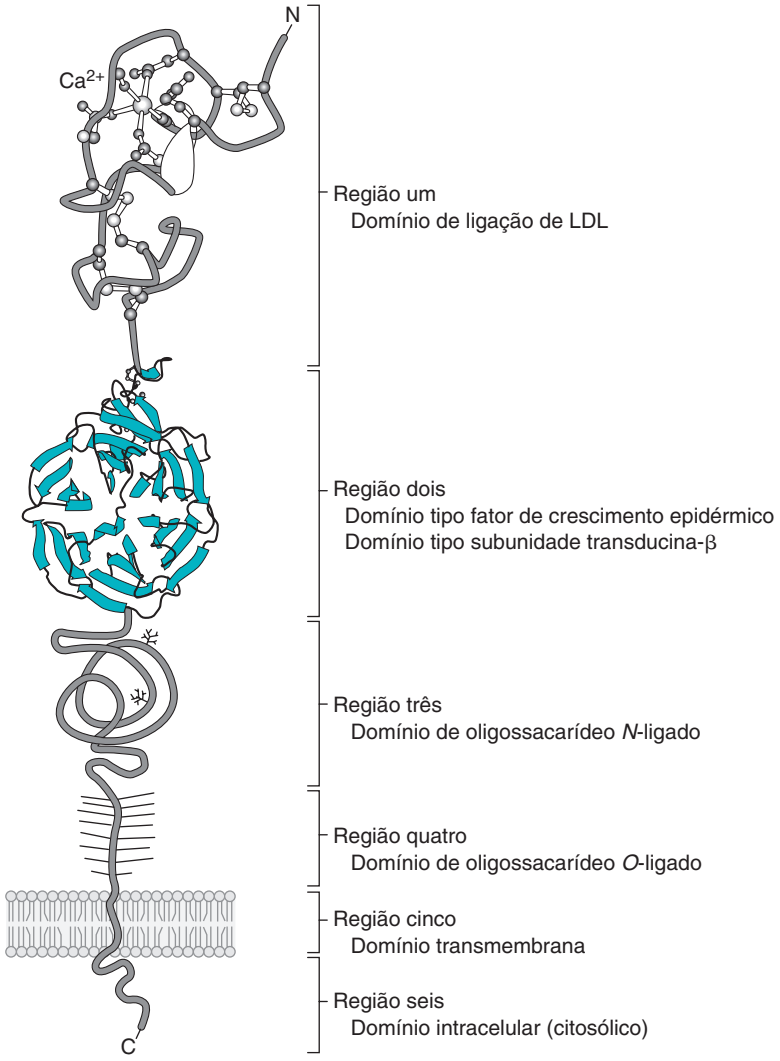


Figura 34.19 Estrutura do receptor de LDL. A proteína tem seis regiões principais.

quais podem levar a um acúmulo de LDL-colesterol no sangue e à aterosclerose prematura. Essas anormalidades podem resultar de mutações em um (heterozigose – encontrada em aproximadamente 1 em 500 pessoas) ou ambos (homozigose – encontrada em cerca de 1 em 1 milhão de pessoas) alelos para o receptor de LDL (hipercolesterolemia familiar). Os heterozigotos produzem aproximadamente metade do complemento normal dos receptores de LDL, enquanto os homozigotos praticamente não produzem a proteína do receptor de LDL (hipercolesterolemia familiar receptor-negativo). Esses últimos têm níveis de colesterol total no soro na faixa de 500 a 800 mg/dL. Em um subgrupo de pacientes com hipercolesterolemia familiar, o receptor de LDL é sintetizado normalmente e transportado para a superfície celular, mas uma substituição ou deleção de aminoácido leva a mudanças na estrutura da proteína, de forma que a ligação da LDL fica prejudicada. Como resultado, o colesterol não pode entrar nas células-alvo a partir da corrente sangüínea e, conseqüentemente, não pode regular por *feedback* negativo a sua biossíntese na célula, levando ao aumento do nível de colesterol sérico. Uma terceira forma de hipercolesterolemia familiar envolve um defeito genético no mecanismo de transporte ou de migração que normalmente distribui o receptor de LDL do seu ponto de síntese dentro da célula para a sua localização apropriada na membrana plasmática celular. Mutações genéticas podem levar ainda a outra forma de hipercolesterolemia familiar, na qual ocorre uma mudança estrutural no terminal carbóxi do receptor de LDL. Embora tais pacientes possam dispor os receptores de LDL normais



Os níveis de lipídeos no sangue de **Ann Jeina** (em mg/dL) foram:

Triacilglicerol	158
Colesterol total	420
HDL-colesterol	32
LDL-colesterol	356

Foi diagnosticada hipercolesterolemia familiar (FH, do inglês ***f**amilial **h**ipercholesterolemia*) tipo IIA, a qual é causada por um defeito no gene que codifica o receptor de LDL (ver Comentários Bioquímicos). Como resultado do defeito do receptor, a LDL não pode ser prontamente captada pelas células, e sua concentração no sangue fica elevada.

As partículas de LDL contêm uma alta porcentagem, por peso, de colesterol e colesterol-ésteres, mais do que outras lipoproteínas plasmáticas. Entretanto, os níveis de LDL-triacilglicerol são baixos, uma vez que a LDL é produzida pela digestão de triacilgliceróis de VLDL e IDL. Portanto, indivíduos com uma hiperlipoproteinemia tipo IIA apresentam níveis sangüíneos de colesterol muito altos, mas seus níveis de triacilgliceróis podem estar dentro da faixa normal ou próximos dessa (ver Tabela 34.4).

Os níveis de lipídeos no sangue de **Ivan Applebod** foram:

Triacilglicerol	295
Colesterol total	314
HDL-colesterol	24
LDL-colesterol	231

Os níveis de LDL-colesterol séricos elevados encontrados em pacientes como **Ivan Applebod**, que tem diabetes melito tipo 2, são multifatoriais. Um dos mecanismos responsáveis por esse aumento envolve a presença de níveis cronicamente elevados de glicose no sangue de diabéticos controlados de modo ineficiente. Essa hiperglicemia prolongada aumenta a taxa de ligações não-enzimáticas de glicose a várias proteínas no corpo, um processo referido como glicação ou glicosilação de proteínas.

A glicação pode afetar desfavoravelmente a estrutura ou a função de proteínas envolvidas. Por exemplo, a glicação do receptor de LDL e de proteínas da partícula da LDL pode interferir no "encaixe" normal das partículas de LDL em seus receptores específicos. Como resultado, menos LDL circulante é internalizada pelas células por endocitose mediada por receptor, e o nível sérico de LDL-colesterol aumenta.

na membrana plasmática da célula, eles não são capazes de internalizar o complexo LDL-receptor de LDL, uma vez que não podem translocar apropriadamente o complexo para dentro das invaginações recobertas contendo clatrina. O espectro de mutações do gene do receptor de LDL é apresentado na Figura 34.20.

B. Proteína Relacionada ao Receptor de LDL (LRP)

A proteína relacionada ao receptor de LDL (LRP, do inglês ***LDL r**eceptor-related **p**rotein*) é estruturalmente relacionada ao receptor de LDL, mas reconhece um amplo espectro de ligantes. Além das lipoproteínas, ela liga as proteínas sangüíneas α_2-macroglobulina (uma proteína que inibe proteases sangüíneas) e o ativador de plasminogênio tecidual (TPA, do inglês ***t**issue **p**lasminogen **a**ctivator*), bem como seus inibidores. O receptor LRP reconhece a apoE das lipoproteínas e liga os remanescentes produzidos pela digestão de triacilgliceróis de quilomícrons e VLDL pela LPL. Desse modo, acredita-se que uma de suas funções seja a retirada desses remanescentes do sangue. O receptor LRP é abundante nas membranas das células de fígado, cérebro e placenta. Ao contrário do receptor de LDL, a síntese do receptor LRP não é significativamente afetada por um aumento na concentração intracelular de colesterol. Entretanto, a insulina causa um aumento no número desses receptores na superfície celular, consistente com a necessidade de remoção de quilomícrons remanescentes, que, caso contrário, poderiam se acumular após o consumo de uma refeição.

C. Receptor *Scavenger* de Macrófago

Algumas células, particularmente os macrófagos fagocíticos, têm receptores não-específicos conhecidos como *scavengers* que ligam vários tipos de moléculas, incluindo partículas de LDL modificadas oxidativamente. Existe uma série de tipos diferentes de receptores *scavenger*. O SR-B1 é utilizado primariamente para ligação de HDL, enquanto os receptores *scavenger* expressos nos macrófagos são SR-A1 e SR-A2. Modificações na LDL com freqüência envolvem dano oxidativo, em particular de grupos acila poliinsaturados (ver Capítulo 24). Diferentemente dos receptores de LDL, os re-

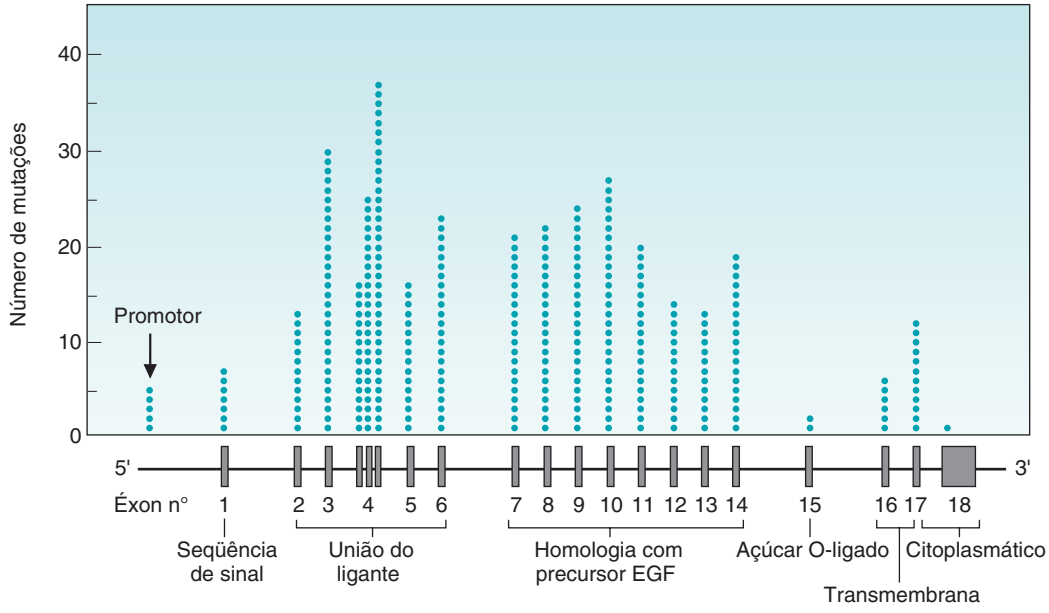


Figura 34.20 Localização de 353 mutações pontuais e pequenas deleções/inserções (< 25 pb) no gene do receptor de LDL em indivíduos com hipercolesterolemia familiar (FH). Os éxons são representados como caixas verticais, e os íntrons, como as linhas que os conectam. A figura foi obtida de Goldstein JL Hobbs HH, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. In: Scriver CR., Beaudet AL, Sly WS, Valle D, et al., eds. The metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th Ed., vol III. New York: McGraw-Hill, 2001:2863-2913.

ceptores *scavenger* não são submetidos a *downregulation*. A presença continuada de receptores *scavenger* na membrana celular permite que a célula capte LDL modificada por muito tempo após os níveis intracelulares de colesterol estarem elevados. Quando os macrófagos ficam cheios de lipídeos, eles são chamados de células espumosas (*foam cells*). Um acúmulo dessas células no espaço subendotelial dos vasos sangüíneos produz a primeira evidência grosseira de uma placa aterosclerótica em desenvolvimento, conhecida como placa de gordura.

O processo que causa a oxidação da LDL envolve radicais superóxido, óxido nítrico, peróxido de hidrogênio e outros oxidantes (ver Capítulo 24). Antioxidantes tais como vitamina E, ácido ascórbico (vitamina C) e carotenóides podem estar envolvidos na proteção da LDL contra a oxidação.

IX. ASPECTOS ANATÔMICOS E BIOQUÍMICOS DA ATEROSCLEROSE

Uma artéria normal é composta de três camadas distintas (Figura 34.21). A que está mais próxima do lúmen do vaso, a íntima, é revestida por uma monocamada de células endoteliais que são banhadas pelo sangue circulante. Justamente abaixo dessas células especializadas fica a matriz extracelular subintimal, na qual células do músculo liso vascular estão fixadas (o espaço subintimal). A camada do meio, conhecida como túnica média, é separada da íntima por uma lâmina elástica interna. A túnica média contém lâminas de células musculares lisas circundadas por uma matriz rica em elastina e colágeno. A lâmina elástica externa forma o limite entre a túnica média e a camada mais externa, a adventícia. Essa camada contém fibras nervosas e mastócitos. Essa é a origem do *vasa vasorum*, o qual supre o sangue para os dois terços externos da túnica média.

O passo inicial para o desenvolvimento de uma lesão aterosclerótica dentro da parede de uma artéria é a formação de uma placa de gordura. Essa representa um acúmulo de macrófagos carregados de lipídeos ou células espumosas no espaço subintimal. Tais placas de gordura são visíveis como uma camada linear amarelo-esbranquiçada que se torna levemente saliente para dentro do lúmen do vaso. Elas se originam quando um ou mais dos conhecidos "fatores de risco vascular para aterosclerose", todos os quais têm o potencial para lesar as células endoteliais vasculares, atingem um limiar crítico no futuro sítio das lesões. Exemplos de tais fatores de risco incluem pressão intra-arterial elevada (hipertensão arterial), níveis circulantes elevados de vários lipídeos – tais como LDL, quilomícrons remanescentes e VLDL remanescentes – ou baixos níveis de HDL circulante, tabagismo, elevação crônica dos níveis de glicose no sangue, altos níveis circulantes do octapeptídeo vasoconstritor angiotensina II, entre outros. O insulto resultante às células endoteliais pode fazer com que essas

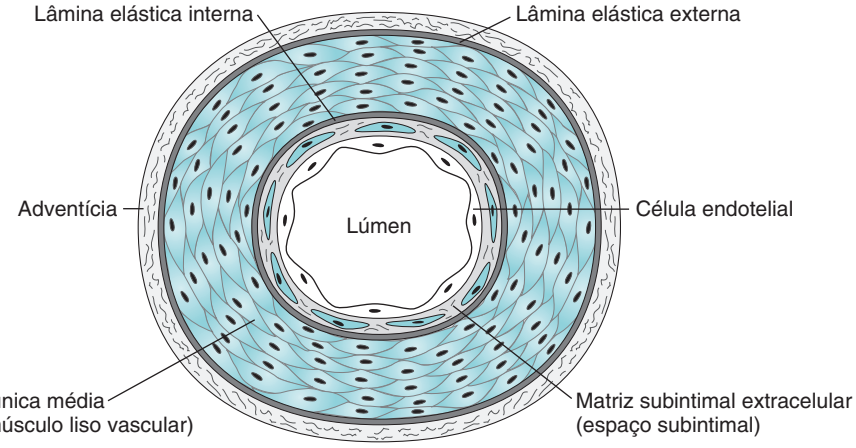


Figura 34.21 As diferentes camadas da parede arterial.

Além da terapia dietética utilizada na redução de seus níveis de colesterol no sangue, **Ann Jeina** foi tratada com pravastatina, um inibidor da HMG-CoA-redutase. Os inibidores de HMG-CoA-redutase diminuem a taxa de síntese de colesterol nas células. Quando os níveis de colesterol celulares diminuem, a síntese de receptores de LDL aumenta. Quando o número de receptores na superfície da célula aumenta, a captação de LDL é aumentada. Conseqüentemente, o nível de LDL-colesterol no sangue diminui.

A HDL é considerada como sendo o "colesterol bom", uma vez que recebe o colesterol dos tecidos periféricos, tais como as células nas paredes dos vasos sangüíneos. Esse colesterol é convertido em colesterol-éster, e parte desse é transferida para a VLDL pela CETP, retornando para o fígado por IDL e LDL. O colesterol restante é transferido como parte da molécula de HDL diretamente para o fígado, o qual reutiliza-o na síntese de VLDL, converte-o em sais biliares ou excreta-o diretamente para dentro da bile. A HDL, portanto, tende a diminuir os níveis de colesterol no sangue. Níveis menores de colesterol no sangue estão correlacionados com menores taxas de morte por aterosclerose.

Em pacientes como **Ann Jeina** e **Ivan Applebod**, os quais têm níveis elevados de VLDL ou de LDL, os níveis de HDL são freqüentemente baixos. Tais pacientes são predispostos à aterosclerose e sofrem de uma alta incidência de ataques cardíacos e derrames.

Exercícios e administração de estrógenos aumentam os níveis de HDL. Essa é uma das razões pelas quais o exercício é freqüentemente recomendado para auxiliar na prevenção e no tratamento de doenças cardíacas, e a terapia de reposição de estrógenos (ERT, do inglês ***e**strogen **r**eplacement **t**herapy*) é muitas vezes prescrita para mulheres pós-menopausa. Antes da menopausa, a incidência de ataques cardíacos é relativamente menor em mulheres, mas, após a menopausa, esse risco aumenta para o mesmo encontrado em homens com idades de 65 ou 70 anos. O consumo moderado de etanol (álcool) também tem sido correlacionado com o aumento dos níveis de HDL. Estudos recentes sugerem que a quantidade benéfica de etanol pode ser muito baixa, cerca de dois copos de vinho por dia, e que os efeitos benéficos atribuídos ao etanol podem resultar de outros componentes do vinho e de bebidas alcoólicas. Apesar das evidências de que a terapia de reposição de estrógenos pós-menopausa diminui os níveis circulantes de LDL e aumenta os de HDL, dados recentes sugerem que a ERT pode, na realidade, aumentar a taxa de doença vascular aterosclerótica nas mulheres que a utilizam. Como resultado, as indicações de ERT estão agora limitadas ao tratamento de "ondas de calor" intoleráveis ou secura vaginal.

células secretem moléculas de adesão que se ligam a monócitos circulantes e diminuem marcadamente sua taxa de movimentação de volta ao endotélio. Essas células monocíticas, quando suficientemente lentas, acumulam-se e têm acesso a espaços físicos que existem entre as células endoteliais. Tais acúmulos de células monocíticas assemelham-se à resposta inflamatória clássica à injúria. Essas mudanças têm levado a sugestão de que a aterosclerose é, de fato, um distúrbio inflamatório e, conseqüentemente, pode ser prevenido ou atenuado pelo uso de agentes antiinflamatórios, tais como ácido acetilsalicílico (p. ex., Aspirina®) e inibidores da HMG-CoA-redutase (estatinas), os quais têm mostrado tanto suprimir a cascata inflamatória como inibir a ação da HMG-CoA-redutase.

As células monocíticas são transformadas em macrófagos que migram através dos espaços entre as células endoteliais. Elas entram no espaço subintimal sob a influência de citocinas quimioatraentes (p. ex., a quimiocina proteína quimioatraente de macrófago I) secretadas pelas células vasculares em resposta à exposição a ácidos graxos oxidativamente modificados dentro das lipoproteínas.

Os macrófagos podem replicar e exibir uma expressão aumentada de receptores que reconhecem lipoproteínas oxidativamente modificadas. Diferentemente da classe de receptores de LDL no fígado e em várias células não-hepáticas, esses receptores ligados aos macrófagos são de alta capacidade e de baixa especificidade (receptores *scavenger*). Eles ligam e internalizam ácidos graxos oxidativamente modificados dentro de LDL para se tornarem células espumosas subintimais, como descrito anteriormente. Quando essas células espumosas se acumulam, elas deformam a superfície do endotélio, gerando espaçamentos microscópicos entre as células endoteliais, de modo que tais células espumosas e a matriz extracelular subjacente fiquem expostas para o sangue. Essas áreas expostas servem como sítios para adesão e agregação plaquetária. As plaquetas ativadas secretam citocinas que perpetuam esse processo e aumentam o potencial para a formação local de trombos (coágulos). Quando a placa madura se desenvolve, uma capa fibrosa se forma sobre seu "topo" em expansão, o qual, então, torna-se saliente para dentro do lúmen vascular, ocluindo-o parcialmente. As células musculares lisas vasculares agora migram da túnica média para o espaço subintimal e secretam material adicional da matriz da placa. As células do músculo liso também secretam metaloproteinases, as quais diminuem a espessura da capa fibrosa próximo ao "cotovelo" na periferia da placa. Esse afinamento da capa fibrosa progride até que ela se rompa, permitindo que o conteúdo da placa entre em contato físico com elementos pró-coagulantes presentes na circulação. Isso leva à formação aguda de trombos. Se esses ocluem completamente o restante do lúmen do vaso, pode ocorrer um infarto dos tecidos distais à oclusão (isto é, um infarto agudo do miocárdio) (Figura 34.22). A maior parte das placas que se rompem também contêm áreas focais de calcificação, as quais parecem ser o resultado da indução do mesmo grupo de genes daqueles que promovem a formação do osso. Os indutores desse processo incluem tanto esteróides oxidados quanto o fator de crescimento e transformação β (TGF-β, do inglês ***t**ransforming **g**rowth **f**actor* β) derivado de certas células vasculares.

Finalmente, altas forças de cisalhamento (*shear forces)* intraluminais se desenvolvem nas áreas afinadas e desgastadas da capa fibrosa da placa, induzindo os macrófagos a secretarem metaloproteinases adicionais que degradam ainda mais a matriz da capa arterial-fibrosa. Isso contribui favorecendo a ruptura da placa e a formação de trombos (ver Figura 34.22). A conseqüência é um evento isquêmico macrovascular tal como um infarto agudo do miocárdio (IAM) ou um acidente vascular cerebral (AVC) agudo.

A lipoproteína(a) é essencialmente uma partícula de LDL que está ligada covalentemente à apoproteína(a). Essa é denominada "lipoproteína a pequeno", para evitar confusão com a apoproteína A, encontrada na HDL. A estrutura da apoproteína(a) é muito similar àquela do plasminogênio, um precursor da plasmina-protease que degrada a fibrina, o principal componente dos coágulos sangüíneos. A lipoproteína(a), entretanto, não pode ser convertida em plasmina ativa. Existem estudos mostrando que altas concentrações de lipoproteína(a) estão correlacionadas com um risco aumentado de doença arterial coronariana, mesmo em pacientes nos quais o perfil lipídico é, por outro lado, normal.

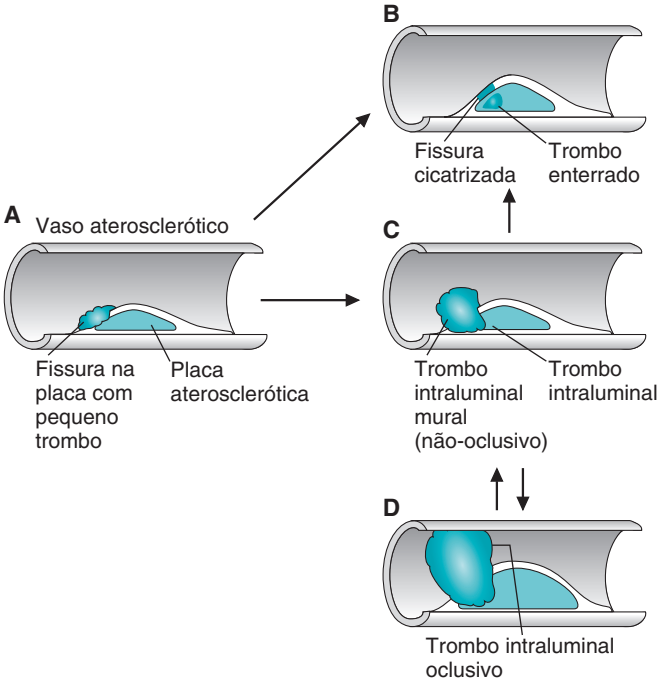


Figura 34.22 Evolução de uma placa aterosclerótica. A cápsula da placa se erosa próximo ao "cotovelo" da placa criando uma fissura precoce (A), a qual pode cicatrizar conforme a placa aumenta de tamanho (B) ou pode crescer como trombos dilatados, tendo uma porção intraluminal e uma intra-intimal (C). Se a fissura não é apropriadamente vedada, o trombo pode crescer e ocluir completamente o lúmen do vaso (D), causando um infarto agudo dos tecidos após o ponto de oclusão do vaso.

X. HORMÔNIOS ESTERÓIDES

O colesterol é o precursor de todas as cinco classes de hormônios esteróides: glicocorticóides, mineralocorticóides, andrógenos, estrógenos e progestinas. Esses hormônios são sintetizados no córtex adrenal, nos ovários, nos testículos e no corpo lúteo ovariano. Os hormônios esteróides são transportados pelo sangue a partir de seus locais de síntese para seus órgãos-alvo, onde, devido à sua hidrofobicidade, atravessam a membrana celular e se ligam a receptores específicos no citoplasma ou no núcleo. Os receptores ligados, então, ligam-se ao DNA para regular a transcrição gênica (ver Capítulo 16, Seção III.C.2 e Figura16.13). Devido à sua hidrofobicidade, os hormônios esteróides devem formar complexos com uma proteína sérica. A albumina sérica pode agir como um carreador não-específico para hormônios esteróides, mas existem, também, carreadores específicos. O colesterol usado para a síntese de hormônios esteróides é tanto sintetizado nos tecidos a partir de acetil-CoA quanto extraído do *pool* intracelular de colesterol-éster ou captado pela célula na forma de lipoproteínas contendo colesterol (internalizado pelo receptor de LDL ou absorvido pelo receptor SR-B1). De forma geral, os glicocorticóides e as progestinas contêm 21 carbonos, os andrógenos contêm 19, e os estrógenos, 18. O complemento específico de enzimas presentes nas células de um determinado órgão determina quais hormônios o órgão pode sintetizar.

As reações oxidativas que levam à síntese e à secreção de glicocorticóides como cortisol são estimuladas pelo hormônio adrenocorticotrófico (ACTH, do inglês ***a**drenal **c**orticotrophic **h**ormone*). O papel do cortisol como um hormônio liberado pelo estresse é discutido no Capítulo 43.

Mineralocorticóides, como a aldosterona, são também sintetizados no córtex adrenal e secretados em resposta a angiotensina II ou III, elevando os níveis de potássio no sangue ou causando hiponatremia (baixos níveis de íons sódio no sangue). A aldosterona estimula a recaptação de sódio no rim, nas glândulas sudoríparas e salivares e em outros tecidos, com um resultante aumento do volume do fluido extracelular e, con-



Vera Leizd consultou o seu ginecologista, o qual confirmou que seus problemas foram provavelmente o resultado de uma produção excessiva de andrógenos (virilização) e solicitou estudos no sangue e na urina para determinar se o córtex adrenal de Vera e seus ovários foram os causadores de sua síndrome de virilização.

seqüentemente, da pressão sangüínea. As angiotensinas são produzidas em resposta a uma redução no volume do fluido extracelular, a qual pode ocorrer como um resultado de sudorese excessiva, vômitos persistentes sem reidratação suficiente ou sangramentos sem adequada reposição de sangue.

Os andrógenos, como a testosterona, são sintetizados nas células de Leydig dos testículos e, em menor proporção, nos ovários e são secretados em resposta ao hormônio luteinizante (LH, do inglês ***l**uteinizing **h**ormone*). Nos homens, a testosterona é comumente convertida em diidrotestosterona, uma forma de alta afinidade do hormônio, dentro de tecidos-alvos específicos. Essa forma ativa do hormônio estimula a produção de proteínas do esperma nas células de Sertoli e o desenvolvimento das características sexuais secundárias.

Os estrógenos, como o 17β-estradiol, são sintetizados no folículo ovariano e no corpo lúteo, a partir dos quais sua secreção é estimulada pelo hormônio folículo estimulante (FSH, do inglês ***f**ollicle-**s**timulanting **h**ormone*). Nas mulheres, o 17-β-estradiol regula por *feedback* negativo a síntese e a secreção de gonadotrofinas da pituitária, como o FSH. Os estrógenos e a progesterona preparam o endométrio uterino para a implantação do ovo fertilizado e, entre outras ações, promovem a diferenciação da glândula mamária.

Os progestógenos, como a progesterona, são sintetizados no corpo lúteo, e sua secreção é estimulada pelo LH. As ações da progesterona foram descritas anteriormente.

A biossíntese de glicocorticóides e mineralocorticóides (no córtex da adrenal) e a de esteróides sexuais (no córtex adrenal e nas gônadas) requerem quatro enzimas de citocromo P450 (ver Capítulo 24). Essas monoxigenases estão envolvidas na transferência de elétrons a partir do NADPH, através de intermediários de proteínas de transferência de elétrons, para o oxigênio molecular, o qual, então, oxida vários dos carbonos do anel do colesterol.

O colesterol é convertido em progesterona nos dois primeiros passos da síntese de todos os hormônios esteróides. A enzima de clivagem de cadeia lateral de citocromo $P450_{SCC}$ (anteriormente referida como uma colesterol desmolase) está localizada na membrana mitocondrial interna e remove seis carbonos da cadeia lateral do colesterol, formando pregnenolona, a qual tem 21 carbonos (Figura 34.23). O próximo passo, a conversão de pregnenolona em progesterona, é catalisado pela 3β-hidroxiesteróide-desidrogenase, uma enzima que não é um membro da família do citocromo P450. Outros hormônios esteróides são produzidos a partir de progesterona por reações que envolvem membros da família de P450. Quando se discute a síntese de hormônios esteróides, observa-se como certas enzimas são utilizadas em mais do que uma via. Defeitos em tais enzimas podem levar a anormalidades múltiplas na síntese de esteróides, as quais, por sua vez, resultam em uma variedade de fenótipos anormais.



O citocromo $P450_{C11}$, uma outra enzima localizada na membrana mitocondrial, catalisa a β-hidroxilação em C11. Hidroxilações em C17 e C21 são catalisadas por duas enzimas localizadas nas membranas do retículo endoplasmático ($P450_{C17}$ para 17α-hidroxilação e $P450_{C21}$ para 21-hidroxilação).

A. Síntese de Cortisol

A via biossintética adrenocortical que leva à síntese de cortisol ocorre na camada média do córtex adrenal, conhecida como zona fasciculada. O colesterol livre é transportado por uma proteína carreadora intracelular para a membrana mitocondrial interna das células (Figura 34.24), na qual a cadeia lateral é clivada para formar pregnenolona. Essa retorna ao citosol, onde se forma a progesterona.

Nas membranas do retículo endoplasmático, a enzima $P450_{C17}$ catalisa a hidroxilação de C17 de progesterona ou pregnenolona e pode também catalisar a clivagem do carbono 2 da cadeia lateral desses compostos no C17 (atividade liase C17-C20). Essas duas funções distintas da mesma enzima permitem que prossigam paralelamente duas vias de síntese adicional de esteróides: os esteróides 17-hidroxilados que retêm suas cadeias laterais são precursores do cortisol (C21), enquanto aqueles cuja cadeia lateral foi clivada (esteróides C19) são os precursores de andrógenos (hormônios sexuais masculinos) e estrógenos (hormônios sexuais femininos).

Na via de síntese de cortisol, a 17-hidroxilação de progesterona produz 17α-hidroxiprogesterona, a qual, junto com a progesterona, é transportada para o retículo

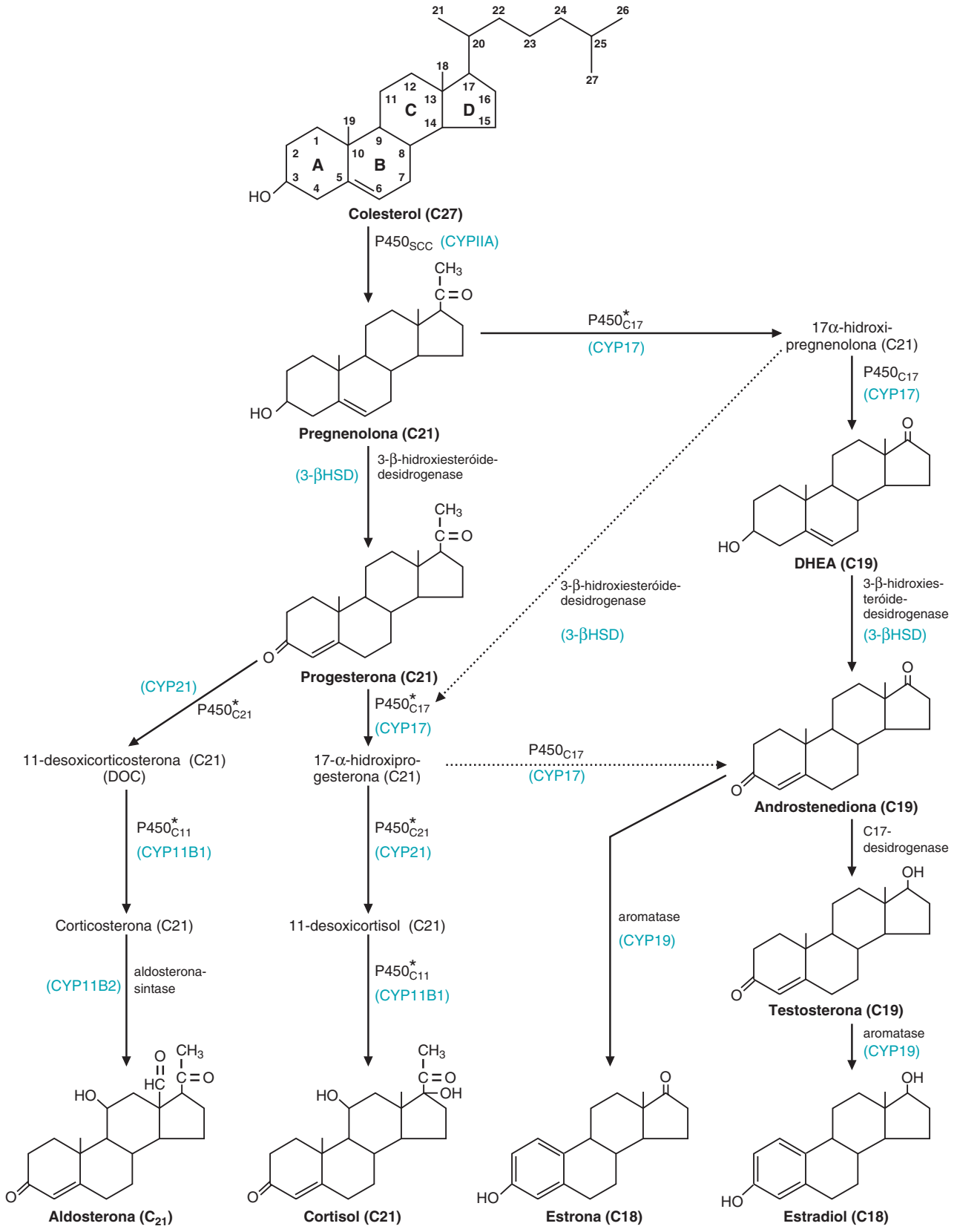


Figura 34.23 Síntese de hormônios esteróides. Os anéis do precursor, o colesterol, estão marcados com letras. A diidrotestosterona é produzida a partir da testosterona por redução da ligação dupla carbono-carbono do anel A. As mudanças estruturais entre o precursor e o hormônio final estão apontadas em azul. DHEA = deidroepiandrosterona. As linhas tracejadas indicam vias alternativas para as principais vias indicadas. As enzimas marcadas com asterisco são aquelas que podem estar defeituosas na condição conhecida como hiperplasia adrenal congênita.

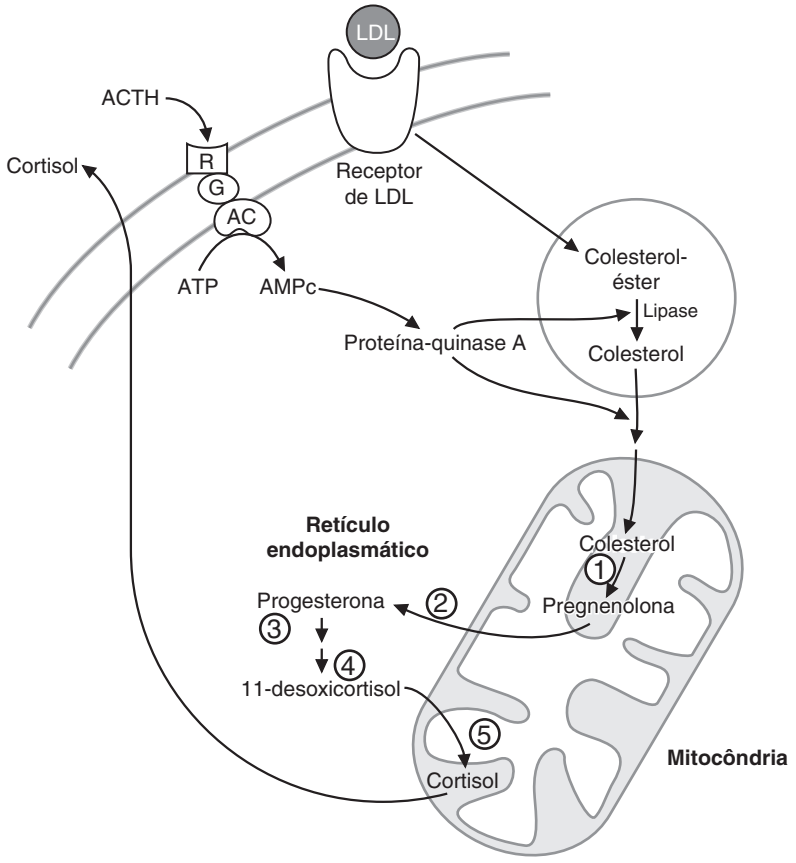


Figura 34.24 Rota celular para a síntese de cortisol. O colesterol é sintetizado a partir da acetil-CoA ou derivado da lipoproteína de baixa densidade (LDL), a qual sofre endocitose e é digerida por enzimas lisossomais. O colesterol é estocado nas células do córtex adrenal como colesterol-ésteres. O ACTH sinaliza à célula para converter colesterol em cortisol. 1 = colesterol-desmolase (envolvida na clivagem da cadeia lateral); 2 = 3β-hidroxiesteróide-desidrogenase; 3 = 17α-hidroxilase; 4 = 21-hidroxilase; 5 = 11β-hidroxilase.

endoplasmático liso. Nesse local, a enzima $P450_{C21}$ (21α-hidroxilase) ligada à membrana catalisa a hidroxilação de C21 da 17α-hidroxiprogesterona para formar 11-desoxicortisol (e de progesterona para formar desoxicorticosterona [DOC], um precursor do mineralocorticóide aldosterona; ver Figura 34.23).

O passo final na síntese do cortisol requer o transporte de 11-desoxicortisol de volta para a membrana mitocondrial interna, onde o $P450_{C11}$ (11β-hidroxilase) recebe elétrons a partir de intermediários de proteínas transportadoras de elétrons (adrenodoxina, a qual, quando oxidada, é reduzida pela adrenodoxina-redutase). A enzima, então, transfere esses equivalentes redutores via oxigênio para 11-desoxicortisol para a hidroxilação em C11 e formação de cortisol. A velocidade de biossíntese do cortisol e de outros esteróides da adrenal é dependente da estimulação das células corticais adrenais pelo hormônio adrenocorticotrófico (ACTH).

B. Síntese de Aldosterona

A síntese do potente mineralocorticóide aldosterona na zona glomerulosa do córtex da adrenal também inicia com a conversão do colesterol em progesterona (ver Figuras 34.23 e 34.24). A progesterona é, então, hidroxilada no C21, uma reação catalisada pelo $P450_{C21}$, para produzir DOC. O sistema de enzima $P450_{C11}$, então, catalisa as reações que convertem DOC em corticosterona. O passo final na síntese de aldosterona,

catalisado pelo sistema aldosterona P450, envolve a oxidação da corticosterona a 18-hidroxicorticosterona, a qual é oxidada a aldosterona.

O estímulo primário para a produção de aldosterona é o octapeptídeo angiotensina II, embora a hipercalemia (níveis de potássio no sangue maiores do que o normal) ou a hiponatremia (níveis de sódio no sangue menores do que o normal) possam, também, estimular diretamente a síntese da aldosterona. O ACTH tem uma ação permissiva na produção de aldosterona. Isso permite que as células respondam muito favoravelmente ao seu estímulo primário, a angiotensina II.

C. Síntese de Andrógenos Adrenais

A biossíntese de andrógenos adrenais ocorre a partir da clivagem da cadeia lateral do carbono 2 da 17-hidroxipregnenolona no C17 para formar o andrógeno adrenal de 19 carbonos deidroepiandrosterona (DHEA) e seu derivado sulfatado (DHEAS) na zona reticulada do córtex da adrenal (ver Figura 34.23). Esses compostos, os quais são andrógenos fracos, representam uma porcentagem significativa da produção total de esteróides pelo córtex adrenal normal e são os principais andrógenos sintetizados pela glândula adrenal.

A androstenediona, um outro andrógeno adrenal fraco, é produzida quando o carbono 2 da cadeia lateral da 17α-hidroxiprogesterona é clivado pela atividade C17-C20-liase do $P450_{C17}$. Esse andrógeno é convertido em testosterona principalmente nos tecidos extra-adrenais. Embora o córtex adrenal produza muito pouco estrógeno, os andrógenos adrenais fracos podem ser convertidos em estrógenos nos tecidos periféricos, particularmente no tecido adiposo (Figura 34.25).

D. Síntese de Testosterona

O hormônio luteinizante (LH) da pituitária anterior estimula a síntese de testosterona e de outros andrógenos pelas células de Leydig do testículo humano. Das muitas vias, as que levam à síntese de andrógenos nos testículos são similares àquelas descritas para o córtex adrenal. No testículo humano, a via predominante que leva à síntese de testosterona é através de pregnenolona para 17α-hidroxipregnenolona, dessa para DHEA (a via Δ^5) e, então, de DHEA para androstenediona e a partir dessa para testosterona (ver Figura 34.23). Assim como para todos os esteróides, o passo limitante de velocidade na produção de testosterona é a conversão de colesterol em pregnenolona. O LH controla a velocidade de clivagem da cadeia lateral do colesterol, no carbono 21, para formar pregnenolona, e, então, regula a velocidade de síntese de testosterona.

A hiperplasia adrenal congênita (CAH, do inglês ***c**ongenital **a**drenal **h**yperplasia*) é um grupo de doenças causadas por uma deficiência determinada geneticamente em uma variedade de enzimas necessárias para a síntese de cortisol. A deficiência mais comum é a da 21α-hidroxilase, atividade que é necessária para converter progesterona em 11-desoxicorticosterona e 17α-hidroxiprogesterona em 11-desoxicortisol. Portanto, essa deficiência reduz a produção de aldosterona e de cortisol, sem afetar a produção de andrógenos. Se a deficiência enzimática for severa, os precursores para a produção de aldosterona e cortisol são desviados para a síntese de andrógenos, produzindo uma superabundância de andrógenos, o que leva à masculinização pré-natal no sexo feminino e virilização pós-natal no sexo masculino. Outra deficiência enzimática nesse grupo de doenças é a da 11β-hidroxilase, a qual resulta em um acúmulo de 11-desoxicorticosterona. Um excesso desse mineralocorticóide leva à hipertensão (por meio da ligação do 11-desoxicorticosterona ao receptor de aldosterona). Nessa forma de CAH, também é acumulado 11-desoxicortisol, mas sua atividade biológica é mínima, e isso resulta em nenhum sinal e sintomas clínicos específicos. A via de andrógenos não é afetada, e os níveis aumentados de ACTH podem aumentar os níveis de andrógenos da adrenal no sangue. Uma terceira deficiência enzimática possível é a da 17α-hidroxilase. Um defeito nessa enzima leva a um excesso de aldosterona e à hipertensão; entretanto, uma vez que a síntese de andrógeno adrenal requer essa enzima, não ocorre virilização em tais pacientes.

A hiperplasia ou tumores do córtex adrenal que produzem excesso de aldosterona resultam em uma condição conhecida como aldosteronismo primário, o qual é caracterizado pelo aumento da retenção de sódio e água, resultando em hipertensão.

Embora a aldosterona seja o principal mineralocorticóide em humanos, a produção excessiva de um mineralocorticóide mais fraco, o DOC, o que ocorre em pacientes com uma deficiência de 11-hidroxilase (a enzima $P450_{C11}$), pode levar a sinais e sintomas clínicos de excesso de mineralocorticóide mesmo quando a secreção de aldosterona é suprimida nesses pacientes.

A androstenediona pode ser adquirida em lojas de suplementos alimentares sob o nome de Andros, o qual é alardeado por melhorar a *performance* atlética por meio de sua capacidade de se converter em testosterona. Seu uso foi banido pela maioria dos principais esportes, embora em 1998 tenha sido considerado um suplemento legal no *baseball*. Durante aquele ano, o suplemento recebeu uma grande publicidade, quando foi utilizado por um atleta que quebrou o recorde de *home run* da liga principal.

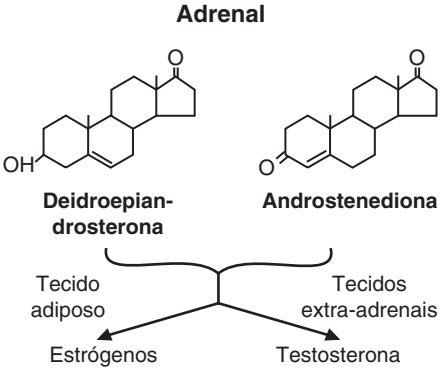


Figura 34.25 Andrógenos adrenais. Esses andrógenos fracos são convertidos em testosterona ou estrogênios em outros tecidos.

Biologicamente, a testosterona é o andrógeno circulante mais potente. Cerca de 50% da testosterona no sangue em uma mulher normal são produzidos igualmente nos ovários e no córtex das adrenais. A metade restante é derivada da androstenediona ovariana e adrenal, a qual, após secreção no sangue, é convertida em testosterona em tecido adiposo, músculo, fígado e pele. O córtex adrenal, entretanto, é a principal fonte do andrógeno relativamente fraco, o deidroepiandrosterona (DHEA). A concentração sérica de seu metabólito estável (o DHEAS) é usada para uma medida de produção de andrógeno adrenal em pacientes hiperandrogênicos com crescimento excessivo difuso de pêlos sexuais secundários, por exemplo, pêlos faciais, bem como nas axilas, na região suprapúbica, no peito e nas extremidades superiores.

Q: Os resultados dos testes de sangue de **Vera Leizd** mostraram que seu nível de testosterona estava normal, mas seu nível sérico de deidroepiandrosterona-sulfato (DHEAS) estava significativamente elevado. Quais tecidos foram provavelmente a fonte de andrógenos que causou o hirsutismo (um padrão masculino de crescimento de pêlos sexuais secundários) de Vera?

O ergosterol é a pró-vitamina da vitamina D2, a qual difere do 7-deidrocolesterol e da vitamina D3, por ter somente uma ligação dupla entre C22 e C23 e um grupo metila em C24, respectivamente. A vitamina D2 é o constituinte em várias preparações vitamínicas comerciais e em leite e pão irradiados. O potencial antiraquitismo de D2 e D3 em humanos é igual, mas ambas devem se converter em 25-(OH)-colecalciferol e, finalmente, na forma ativa calcitriol [1,25-$(OH)_2$D3] para ter atividade biológica.

O raquitismo é um distúrbio de crianças causado por uma deficiência de vitamina D. Baixos níveis de cálcio e fósforo no sangue estão associados às deformidades de esqueleto nesses pacientes.

Nas células-alvo, a ligação dupla no anel A da testosterona é reduzida por meio da ação da 5α-redutase, formando o hormônio ativo diidrotestosterona (DHT, do inglês ***dih****ydrot****e****stosterona*).

E. Síntese de Estrógenos e Progesterona

A produção ovariana de estrógenos, progestinas (compostos relacionados a progesterona) e andrógenos requer a atividade da família de citocromo P450 de enzimas oxidativas utilizada para a síntese de outros hormônios esteróides. Os estrógenos ovarianos são esteróides C18 com um grupo hidroxila fenólico em C3 e um grupo hidroxila (estradiol) ou um grupo cetona (estrona) em C17. Embora os principais compartimentos de produção de esteróides do ovário (célula granulosa, célula da teca, célula do estroma e células do corpo lúteo) tenham todos os sistemas enzimáticos necessários para a síntese de múltiplos esteróides, as células granulosas secretam principalmente estrógenos, as células da teca e do estroma secretam principalmente andrógenos, e as células do corpo lúteo, principalmente progesterona.

A célula granulosa do ovário, em resposta à estimulação pelo hormônio folículo estimulante (FSH) da glândula pituitária anterior e por meio da atividade catalítica da aromatase P450, converte testosterona em estradiol, o estrógeno ovariano predominante e mais potente (ver Figura 34.23). De modo similar, a androstenediona é convertida em estrona no ovário, embora o seu principal local de produção, a partir de androstenediona, sejam tecidos extra-ovarianos, principalmente músculo esquelético e tecido adiposo.

XI. SÍNTESE DE VITAMINA D

A vitamina D é a única que pode tanto ser obtida a partir da dieta (como vitamina D2 ou D3) quanto sintetizada a partir de um precursor de colesterol, um processo que requer reações na pele, no fígado e no intestino. Os calciferóis, incluindo diversas formas de vitamina D, são uma família de esteróides que têm influência sobre a homeostase do cálcio (Figura 34.26). O colecalciferol (vitamina D3) requer a luz ultravioleta para sua produção a partir de 7-deidrocolesterol presente em tecidos cutâneos (pele) em animais ou a partir de ergosterol em plantas. Essa irradiação cliva a ligação carbono-carbono em C9-C10 e abre o anel B para formar colecalciferol, um precursor inativo de 1,25-$(OH)_2$-colecalciferol (calcitriol). O calcitriol é a forma biologicamente ativa mais potente de vitamina D (ver Figura 34.26).

A formação de calcitriol a partir de colecalciferol se inicia no fígado e se completa no rim, onde a via é regulada. Nesse processo de ativação, o carbono 25 da vitamina D2 ou D3 é hidroxilado nos microssomas do fígado para formar 25-hidroxicolecalciferol (calcidiol). O calcidiol vai para o rim ligado à globulina ligadora de vitamina D (transcalciferina). No túbulo contorcido proximal do rim, uma oxidase de função mista, a qual requer O_2 molecular e NADPH como co-fatores, hidroxila o carbono 1 no anel A para formar calcitriol. Essa etapa é estreitamente regulada e é o passo limitante na produção do hormônio ativo.

O 1,25-$(OH)_2$D3 (calcitriol) é aproximadamente 100 vezes mais potente do que o 25-(OH)D3 em suas ações, contudo, o 25-(OH)D3 está presente no sangue em concentrações que podem ser 100 vezes maiores, o que sugere que ele tenha algum papel na homeostase de fósforo e cálcio.

As formas biologicamente ativas de vitamina D são hormônios esteróis e, de forma semelhante a outros esteróis, difundem-se passivamente através da membrana plasmática. No intestino, no osso e no rim, os esteróis, então, movem-se pra dentro do núcleo e se ligam a receptores específicos para vitamina D3. Esse complexo ativa os genes que codificam proteínas mediadoras da ação da vitamina D3. Nas células da mucosa intestinal, por exemplo, é ativada a transcrição de genes que codificam proteínas transportadoras de cálcio. Tais proteínas são capazes de carregar Ca^{2+} (e fósforo) absorvido do lúmen intestinal para dentro das células, tornando-o disponível para a conseqüente passagem para a circulação.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Ann Jeina apresenta características típicas de pacientes com níveis séricos de triacilglicerol essencialmente normais e níveis séricos de colesterol total elevados que estão repetidamente no 1% superior da população geral (p. ex., 325 a 500 mg/dL). Quando anormalidades similares de lipídeos estão presentes em outros membros da família em um padrão de herança autossômico dominante e não estão presentes causas secundárias para essas alterações de lipídeos (p. ex., hipotireoidismo), a "hipercolesterolemia familiar (FH), tipo IIA" é a mais provável causa dessa dislipidemia hereditária.

A FH é um distúrbio genético causado por uma anormalidade em um ou mais alelos responsáveis pela formação ou integridade funcional de receptores de LDL de alta afinidade na membrana plasmática de células que normalmente iniciam a internalização de LDL circulante e outras lipoproteínas sangüíneas. Heterozigotos para FH (1 em 500 da população) têm aproximadamente metade da quantidade ou da capacidade funcional normais de tais receptores, enquanto homozigotos (1 em 1 milhão da população) têm essencialmente receptores para LDL não-funcionais. O paciente raro com a forma homozigótica de FH tem uma elevação mais extrema do colesterol total e do LDL-colesterol séricos do que o heterozigótico e, como resultado, tem uma predisposição forte para doença arterial coronariana prematura.

A hipercolesterolemia crônica não apenas pode causar a deposição de lipídeos dentro dos tecidos vasculares levando à aterosclerose, como pode também causar a deposição de lipídeos na pele e nos olhos. Quando isso ocorre na parte medial das pálpebras superiores e inferiores, é chamado de xantelasma. Depósitos similares conhecidos como xantomas podem ocorrer na íris do olho (*arcus lipidalis*), bem como nos tendões das mãos (*knucklepads* ou coxim interfalangeano) e nos tendões de Aquiles.

Embora estejam sendo realizados estudos clínicos com terapia dirigida para inserção de genes de receptor de LDL competente nas células de pacientes homozigóticos para FH, a abordagem atual no heterozigótico é tentar aumentar farmacologicamente a taxa de síntese de receptores de LDL nas células.

Ann Jeina foi tratada com colestiramina, uma resina que liga parte dos sais biliares no intestino, fazendo com que esses sais ligados à resina sejam eliminados nas fezes em vez de serem reciclados para o fígado. O fígado deve, então, sintetizar mais sais biliares, o que diminui o *pool* intra-hepático de colesterol livre. Como resultado, a síntese de receptor de LDL hepático é induzida, e mais LDL circulante é captado pelo fígado.

Inibidores da HMG-CoA-redutase, como a pravastatina, também estimulam a síntese adicional de receptores de LDL, mas fazem isso pela inibição da HMG-CoA-redutase, a enzima limitante de velocidade de síntese de colesterol. O declínio subseqüente do *pool* intracelular de colesterol livre também estimula a síntese de receptores de LDL adicionais, os quais reduzem os níveis circulantes de LDL-colesterol por aumentar a endocitose mediada por receptores de partículas de LDL.

A combinação de dieta rigorosa com terapia farmacológica dupla, dirigida para diminuição dos níveis de colesterol no corpo, é geralmente muito efetiva para corrigir

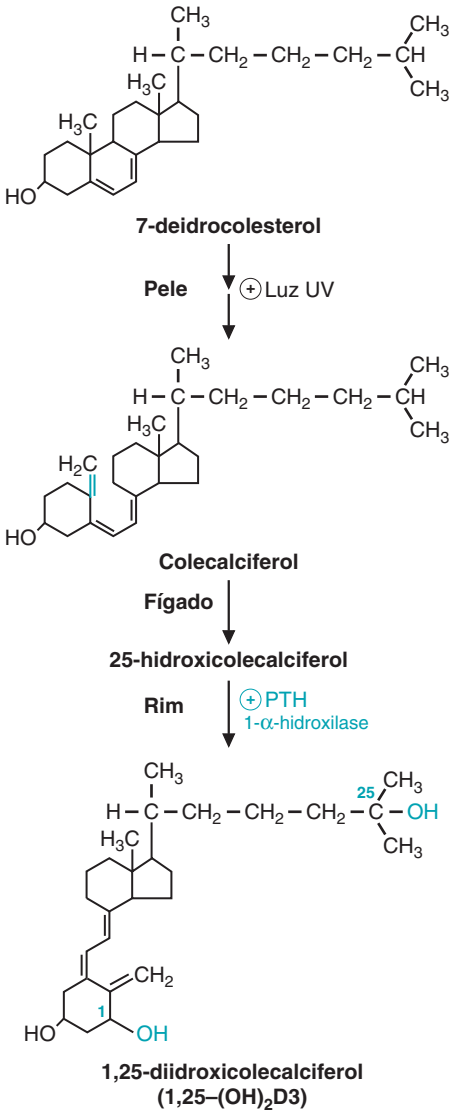


Figura 34.26 Síntese de vitamina D ativa. O [1,25-$(OH)_2$D3] é produzido a partir de 7-deidrocolesterol, um precursor do colesterol. Na pele, a luz ultravioleta (UV) produz colecalciferol, o qual é hidroxilado na posição 25 no fígado e na posição 1 no rim para formar o hormônio ativo.

Ann Jeina foi tratada com uma estatina (pravastatina) e colestiramina, um seqüestrador de ácido biliar. Com a introdução do bloqueador de absorção de colesterol, o ezetimibe, o uso de colestiramina com seu alto nível de efeitos colaterais gastrintestinais foi cancelado. O ezetimibe reduz a porcentagem de absorção de colesterol livre presente no lúmen do intestino e, por isso, a quantidade de colesterol disponível ao enterócito para ser empacotado nos quilomícrons. Isso, por sua vez, reduz a quantidade de colesterol que retorna ao fígado nos quilomícrons remanescentes. O resultado é uma redução no *pool* de colesterol nos hepatócitos. Essa redução induz a síntese de um número aumentado de receptores de LDL pelas células do fígado. Como conseqüência, a capacidade do fígado de aumentar a captação hepática de LDL da circulação leva a uma diminuição dos níveis séricos de LDL.

R: O hirsutismo de **Vera Leizd** foi, mais provavelmente, resultante de um problema em seu córtex adrenal que causou a produção excessiva de DHEA.

a anormalidade de lipídeos e, espera-se, o risco associado de doença cardiovascular aterosclerótica em pacientes com hipercolesterolemia familiar heterozigótica.

O colesterol das lipoproteínas de baixa densidade é o alvo primário da terapia para baixar o colesterol, pois evidência epidemiológica e experimental sugere fortemente um benefício em baixar LDL-colesterol sérico na prevenção de doença cardiovascular aterosclerótica. Evidência similar para a elevação de níveis subnormais de HDL-colesterol sérico é menos conclusiva, mas adequada para apoiar tais esforços, particularmente em pacientes de alto risco, tais como **Ivan Applebod**, que apresentam múltiplos fatores de risco cardiovascular. A terapia de primeira linha nessa tentativa é não-farmacológica e inclui medidas como aumentar o exercício aeróbico, perder peso – em pacientes com sobrepeso –, evitar ingestão excessiva de álcool, reduzir a ingestão de açúcar refinado e parar de fumar. Se esses esforços falharem, a terapia com fármacos para aumentar os níveis séricos de HDL-colesterol deve ser considerada.

O Sr. Applebod, até agora, não obteve sucesso em suas tentativas de fazer dieta e exercício. Seu nível de LDL-colesterol é 231 mg/dL. De acordo com a Tabela 34.1, ele é um candidato para a terapia nutricional mais rigorosa e para o tratamento medicamentoso. O Sr. Applebod poderia receber um inibidor da HMG-CoA-redutase como a pravastatina e, talvez, uma resina ligadora de sal biliar como a colestiramina. Outros fármacos hipolipidemiantes, como os derivados do ácido fíbrico e ezetimibe, os quais também diminuem os níveis de triacilglicerol e potencialmente aumentam os níveis de HDL, devem ser considerados (Tabela 34.5).

Vera Leizd nasceu com genótipo e fenótipo femininos normais, teve um desenvolvimento sexual feminino normal, início espontâneo da puberdade e menstruações regulares, embora em pouca quantidade, até a idade de 20 anos. Então, ela desenvolveu amenorréia secundária (parada das menstruações) e evidência de excesso de hormônio masculino com início de virilização (masculinização).

O diagnóstico diferencial incluiu uma fonte ovariana *versus* uma supra-renal de excesso de esteróides androgênicos. Um teste de triagem para determinar se a fonte de excesso de hormônios masculinos é o córtex adrenal ou o ovário envolve a medida da

Tabela 34.5 Mecanismo(s) de Ação e Eficácia de Agentes Hipolipidemiantes

		Porcentagem de Mudança no Nível de Lipídeos Séricos (monoterapia)			
Agente	**Mecanismo de ação**	**Colesterol total**	**LDL-colesterol**	**HDL-colesterol**	**Triacilgliceróis**
Estatinas	Inibem a atividade da HMG-CoA-redutase	↓ 15-60%	↓ 20-60%	↑ 5-15%	↓ 10-40%
Resinas de ácidos biliares	Aumentam a excreção fecal de sais biliares	↓ 15-20%	↓ 10-25%	↑ 3-5%	Variável, dependendo do nível de triacilgliceróis no pré-tratamento (pode aumentar)
Niacina	Ativa a LPL; reduz a produção hepática de VLDL; reduz o catabolismo de HDL	↓ 22-25%	↓ 10-25%	↑ 15-35%	↓ 20-50%
Fibratos	Antagonizam o PPAR-α causando um aumento na atividade da LPL, uma diminuição na produção da apoproteína C_{III} e um aumento na produção da apoproteína A_I	↓ 12-15%	Variável, dependendo dos níveis de outros lipídeos no pré-tratamento	↑ 5-15%	↓ 20-50%
Ezetimibe	Reduz a absorção intestinal do colesterol livre a partir do lúmen intestinal	↓ 10-15%	↓ 15-20%	↑ 1-3%	↓ 5-8% se os triacilgliceróis estão altos pré-tratamento

Abreviações: LPL = lipoproteína-lipase; LDL = lipoproteínas de baixa densidade; HDL = lipoproteínas de alta densidade; triacilgliceróis = triglicerídeos; PPAR= receptor de proliferação ativada de peroxissomas. (Adaptada de Circulation 2002; 106:3145-3457.)

concentração de deidroepiandrosterona-sulfato (DHEAS) no plasma da paciente, pois o córtex adrenal produz a maioria do DHEA, e o ovário, pouco ou nenhum. O nível plasmático de DHEAS de Vera estava moderadamente elevado, identificando seus córtices adrenais como a provável fonte de sua síndrome virilizante.

Se o excesso de produção de androgênios não for o resultado de um tumor adrenal, mas o resultado de um defeito na rota da produção de cortisol, o tratamento simples é administrar glicocorticóides por via oral. A base teórica para tal tratamento pode ser mais bem compreendida revisando-se a Figura 34.23. Se **Vera Leizd** tivesse uma deficiência parcial geneticamente determinada no sistema de enzima $P450_{C11}$, necessário para converter 11-desoxicortisol em cortisol, seu nível de cortisol sangüíneo cairia. Devido ao mecanismo de *feedback* positivo normal, um nível subótimo de cortisol no sangue induziria a hipófise anterior a produzir mais ACTH. Esse não apenas estimularia a rota do cortisol a aumentar a síntese de cortisol a níveis normais, como, no processo, também induziria a produção aumentada de androgênios adrenais, como DHEA e DHEAS. Os níveis aumentados de androgênios adrenais (embora androgênios relativamente fracos) causariam graus variáveis de virilização, dependendo da gravidade da deficiência da enzima. A administração de um glicocorticóide por via oral suprimiria o nível alto de secreção de ACTH pela glândula hipófise anterior que ocorre em resposta a níveis reduzidos de cortisol secretado pelo córtex adrenal. O tratamento com prednisona (um glicocorticóide sintético), portanto, prevenirá a superprodução induzida por ACTH de androgênios adrenais. Contudo, quando a secreção de ACTH retorna ao normal, a síntese endógena de cortisol cai abaixo do normal. A prednisona administrada faz com que a atividade total de glicocorticóide no sangue retorne para os níveis fisiológicos. Os níveis de androgênios adrenais no sangue de Vera retornaram ao normal após várias semanas de terapia com prednisona (um glicocorticóide sintético). Como resultado, suas menstruações finalmente reiniciaram, e suas características virilizantes lentamente desapareceram.

Como os sintomas de Vera iniciaram na vida adulta, sua hiperplasia adrenal geneticamente determinada é chamada de forma "não-clássica" ou "atípica" do distúrbio. A deficiência mais grave da enzima leva à doença "clássica", a qual está associada a uma produção fetal excessiva de androgênios adrenais intra-útero e, portanto, manifesta-se ao nascimento, freqüentemente com genitália externa ambígua e características virilizantes em neonato feminino.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



Defeitos no gene do receptor de LDL são os responsáveis por níveis sangüíneos elevados de LDL e, portanto, de colesterol, na FH. Mais de 300 mutações foram encontradas no gene do receptor de LDL, afetando todos os estágios de produção e funcionamento do receptor.

O gene do receptor de LDL, o qual contém 18 éxons e tem 45 quilobases (kb) de comprimento, está localizado no braço curto do cromossomo 19. Os éxons compartilham seqüências para o componente C9 do complemento (uma proteína envolvida na resposta imunológica), e o domínio oligossacarídeo N-ligado é homólogo aos genes para o precursor de EGF e também para três proteases do sistema de coagulação sangüínea, os fatores IX e X e a proteína C (ver Capítulo 45). O gene do receptor de LDL codifica uma glicoproteína que contém 839 aminoácidos.

Os heterozigotos para FH têm um alelo normal e um mutante. Suas células produzem aproximadamente metade da quantidade normal de receptor e captam a LDL a cerca de metade da taxa normal. Os homozigotos têm dois alelos mutantes, os quais podem ser idênticos ou diferentes. Eles produzem muito pouco receptor funcional.

As mutações genéticas são principalmente deleções, mas inserções ou duplicações também ocorrem, bem como mutações pontuais *missense* e *nonsense* (ver Figura 34.20). Quatro classes de mutações foram identificadas. A primeira classe envolve alelos "nulos", que não conduzem a síntese de nenhuma proteína ou conduzem a síntese

de uma proteína que não pode ser precipitada por anticorpos para o receptor de LDL. Na segunda classe, os alelos codificam proteínas, mas elas não podem ser transportadas para a superfície da célula. A terceira classe de alelos mutantes codifica proteínas que atingem a superfície da célula, mas não podem ligar LDL normalmente. Finalmente, a quarta classe codifica proteínas que atingem a superfície e ligam LDL, mas falham em agrupar e internalizar as partículas de LDL. O resultado de cada uma dessas mutações é a elevação dos níveis sangüíneos de LDL, uma vez que as células não podem captar essas partículas em um taxa normal.

Leituras Sugeridas

Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, et al., eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th Ed., vol III. New York: McGraw-Hill, 2001:2863-2913.

Jeon H, Meng W, Takagi J, Eck MG, Springer TA, Blacklow SC. Implications for familial hypercholesterolemia from the structure of the LDL receptor YWTD-EGF domain pair. Nature Struct Biol 2001;8:499-504.

Nimpf J, Schneider WJ. From cholesterol transport to signal transduction: Low density lipoprotein receptor, very low density lipoprotein receptor, and apolipoprotein E receptor-2. Biochim Biophys Acta 2000; 1529:287-298.

Yokoyama S. Release of cellular cholesterol molecular mechanism for cholesterol homeostasis in cells and in the body. Biochim Biophys Acta 2000; 1529:231-244.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 34

1. Qual dos seguintes passos na biossíntese de colesterol é o passo responsável limitante da velocidade?

   (A) A condensação de acetoacetil-CoA com uma molécula de acetil-CoA para produzir β-hidroxi-β-metilglutaril-CoA (HMG-CoA).
   (B) A redução de HMG-CoA a mevalonato.
   (C) A conversão de mevalonato em dois isoprenos ativados.
   (D) A formação de farnesil-pirofosfato.
   (E) A condensação de seis unidades isoprenos ativas para formar esqualeno.

2. Qual das seguintes afirmações está correta, considerando-se os passos finais da biossíntese do colesterol, quando o esqualeno é finalmente convertido em lanosterol?

   (A) Todos os esteróis têm três anéis unidos (o núcleo esteróide) e são álcoois com um grupo hidroxila em C3.
   (B) A ação da esqualeno-monoxigenase oxida o carbono 14 da cadeia do esqualeno, formando um epóxido.
   (C) A esqualeno-monoxigenase é considerada uma oxidase de função mista, uma vez que ela catalisa uma reação na qual somente um dos átomos de oxigênio do O_2 é incorporado no substrato orgânico.
   (D) A esqualeno-monoxigenase utiliza nucleotídeos de flavina reduzidos [p. ex., FAD(2H)] como o co-substrato na reação.
   (E) O esqualeno é ligado aos carbonos 1 e 30 para formar a estrutura de anéis unidos do esterol.

3. Dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de doença cardiovascular aterosclerótica (ASCVD, do inglês ***a****therosclerotic* ***c****ardiovascular* ***d****isease*), como estilo de vida sedentário, obesidade, tabagismo, diabetes melito, hipertensão e hiperlipidemia, qual deles, se presente, é o único fator de risco que requer como meta terapêutica para seu LDL-colesterol sérico níveis < 100 mg/dL para um determinado paciente sem uma história de infarto do miocárdio?

   (A) Obesidade
   (B) Tabagismo
   (C) Diabetes melito
   (D) Hipertensão
   (E) Estilo de vida sedentário

4. Qual das seguintes apoproteínas age como um co-fator ativador da enzima lipoproteína lipase (LPL)?

   (A) $ApoC_{III}$
   (B) $ApoC_{II}$
   (C) ApoB-100
   (D) ApoB-48
   (E) ApoE

5. Qual das seguintes seqüências dispõe as lipoproteínas na ordem da mais densa para a menos densa?

   (A) HDL/VLDL/quilomícrons/LDL
   (B) HDL/LDL/VLDL/quilomícrons
   (C) LDL/quilomícrons/HDL/VLDL
   (D) VLDL/quilomícrons/LDL/HDL
   (E) LDL/quilomícrons/VLDL/HDL

35 Metabolismo dos Eicosanóides

*Os **eicosanóides**, os quais incluem as **prostaglandinas** (PG), os **tromboxanos** (TX) e os **leucotrienos** (LT), estão entre os mais potentes reguladores de função celular na natureza e são produzidos por quase todas as células no corpo. Eles agem, principalmente, como hormônios "locais", afetando as células que os produzem ou as células vizinhas de tipo diferente.*

*Os eicosanóides participam de muitos processos no corpo, particularmente da **resposta inflamatória** que ocorre após **infecção** ou **injúria**. A resposta inflamatória é a soma de esforços do corpo para destruir os organismos invasores e para reparar o dano. Isso exclui o controle da hemorragia por meio da formação do coágulo sangüíneo. No processo de proteger o corpo de uma variedade de insultos, a resposta inflamatória pode produzir **sintomas** como **dor**, **intumescimento** e **febre**. Uma expressão exagerada ou inapropriada da resposta inflamatória normal pode ocorrer em indivíduos que apresentam reações **alérgicas** ou **hipersensibilidade**.*

*Além de participar na resposta inflamatória, os eicosanóides também regulam a **contração do músculo liso** (particularmente no intestino e no útero). Eles aumentam a **excreção** de **água** e **sódio** pelo rim e estão envolvidos na **regulação** da **pressão sangüínea**. Freqüentemente, servem como moduladores; alguns eicosanóides estimulam, e outros inibem o mesmo processo. Por exemplo, alguns servem como constritores, e outros, como dilatadores dos vasos sangüíneos. Eles também estão envolvidos na regulação da **broncoconstrição** e da **broncodilatação**.*

Os eicosanóides são derivados de ácidos graxos poliinsaturados que contêm 20 átomos de carbono, os quais são encontrados em membranas celulares esterificados a fosfolipídeos de membrana. O ácido araquidônico, derivado da dieta ou sintetizado a partir do linoleato, é o composto a partir do qual a maioria dos eicosanóides é produzida no corpo. Os compostos que servem como sinais para a produção dos eicosanóides se ligam a receptores de membrana celular e ativam fosfolipases que clivam os ácidos graxos poliinsaturados dos fosfolipídeos das membranas celulares (Figura 35.1).

*O ácido araquidônico é metabolizado enzimaticamente por três vias principais. As duas vias mais estudadas são a da **cicloxigenase** (a qual produz prostaglandinas e tromboxanos) e a da **lipoxigenase** (a qual produz leucotrienos). A via do **citocromo P450** produz eicosanóides com funções fisiológicas não tão bem-definidas. Os **isoprostanos** são uma classe relativamente nova de eicosanóides derivados de reações não-enzimáticas catalisadas por radicais livres. Os isoprostanos são similares às prostaglandinas em estrutura e podem participar das respostas inflamatórias e na injúria tecidual mediada por radicais livres. No tecido cerebral, o ácido araquidônico pode ser ligado à etanolamina para gerar **anandamida**. Esse composto pode se ligar e ativar receptores canabinóides com ações similares àquelas da Δ^9-tetraidrocanabinol (THC).*

*Muitos eicosanóides têm uma **meia-vida muito curta**, em média de poucos minutos ou menos. Eles são rapidamente inativados e excretados.*

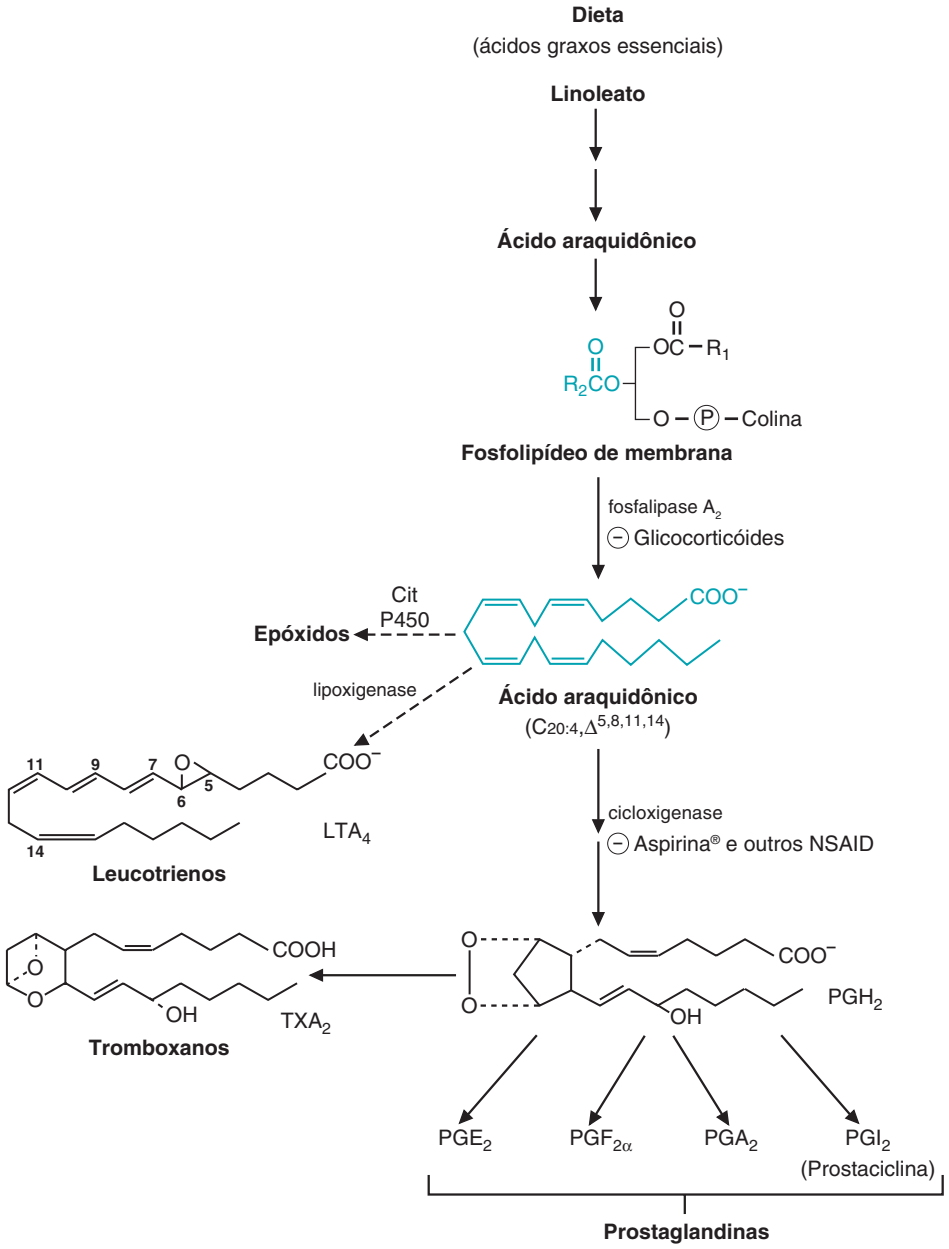


Figura 35.1 Visão geral do metabolismo de eicosanóides. Os eicosanóides são produzidos a partir de ácidos graxos liberados dos fosfolipídeos de membrana. Em seres humanos, o ácido araquidônico é o principal precursor dos eicosanóides, os quais incluem as prostaglandinas, os leucotrienos e os tromboxanos. ⊖ = inibe; Cit = citocromo.

SALA DE ESPERA

Desde sua admissão no hospital por um infarto agudo do miocárdio, **Ann Jeina** tem tomado o seqüestrador de sais biliares colestiramina e o inibidor da HMG-CoA-redutase pravastatina para diminuir seus níveis sangüíneos de colesterol (ver Capítulo 34). Ela também toma 160 mg de ácido acetilsalicílico (AAS®, Aspirina®) todos os dias. Na sua mais recente consulta ao cardiologista, ela perguntou

se deveria continuar tomando Aspirina®, já que não sentia mais dor no peito. Foi lhe dito que o uso de Aspirina®, em seu caso, não era para aliviar a dor, mas para reduzir o risco de um segundo ataque cardíaco, e que ela deveria continuar tomando esse fármaco pelo resto de sua vida, a menos que uma complicação, como sangramento gastrintestinal, ocorresse como resultado do uso.

Eicosa é a palavra grega para o número 20. Os eicosanóides são sintetizados a partir de ácidos graxos poliinsaturados com 20 átomos de carbono.

Emma Wheezer ficou melhor com relação à sua função respiratória desde sua hospitalização anterior por ataque asmático agudo. Ela tem sido mantida com duas aplicações em *spray* de acetonida de triancinolona, um potente corticosteróide inalatório, três vezes por dia, e não necessitou de esteróides sistêmicos por meses. A intolerância à glicose precipitada por doses intravenosas e orais altas do glicocorticóide sintético dexametasona, durante sua hospitalização anterior, melhorou após a interrupção desse fármaco. Emma foi ao seu médico porque está preocupada que a febre de baixo grau e a tosse que desenvolveu nas últimas 36 horas possam disparar outro ataque agudo de asma.

A composição da dieta afeta o conteúdo de ácidos graxos dos fosfolipídeos de membrana. Indivíduos que consomem alimentos com alto teor de ácidos graxos saturados apresentam um conteúdo elevado desses compostos em seus lipídeos de membrana. Do mesmo modo, indivíduos que consomem um alto conteúdo de ácidos graxos insaturados apresentam um alto conteúdo desses ácidos graxos nos seus lipídeos de membranas.

As deficiências dietéticas de ácidos graxos essenciais são raras. Entretanto, alguns casos foram relatados em pacientes submetidos à nutrição parenteral total (NPT). Embora o sintoma mais óbvio seja uma dermatite vermelha escamosa, as deficiências de ácidos graxos essenciais também resultam na diminuição da disponibilidade de precursores para a síntese de eicosanóides.

I. FONTE DOS EICOSANÓIDES

O mais abundante e, portanto, o mais comum precursor dos eicosanóides é o ácido araquidônico (ácido eicosatetraenóico, ω6, 20:4, $\Delta^{5,8,11,14}$), um ácido graxo poliinsaturado com 20 carbonos e 4 ligações duplas (ver Figura 35.1). Ele é esterificado a fosfolipídios localizados na bicamada lipídica que constitui a membrana plasmática da célula. Devido ao fato de o ácido araquidônico não poder ser sintetizado *de novo* no corpo, a dieta deve conter esse ácido ou outros ácidos graxos a partir dos quais ele possa ser produzido. O principal precursor da dieta para a síntese do ácido araquidônico é o ácido graxo essencial linoleato, o qual está presente em óleos vegetais (ver Capítulo 33).

O ácido araquidônico presente nos fosfolipídeos de membrana é liberado da bicamada lipídica como conseqüência da ativação das fosfolipases A_2 e C ligadas à membrana (ver Figuras 33.31 e 35.2). Essa ativação ocorre quando uma variedade de estímulos (agonistas), tais como a histamina e as citocinas, interage com um receptor específico de membrana plasmática na superfície da célula-alvo. A fosfolipase A_2 é

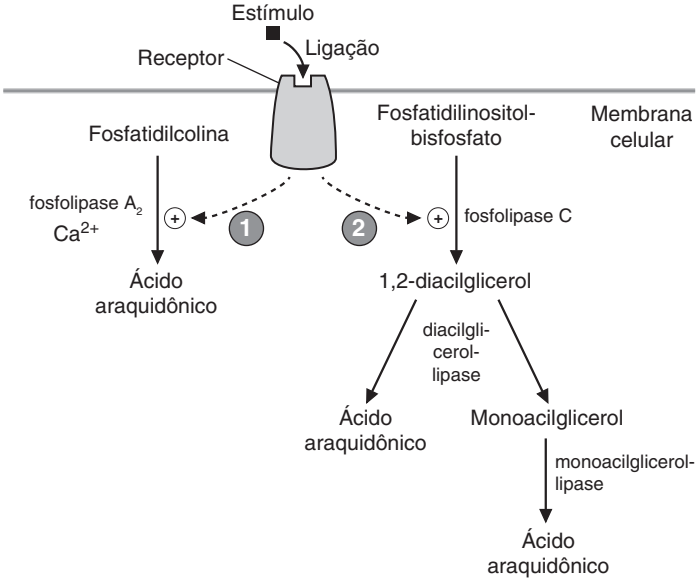


Figura 35.2 Liberação de ácido araquidônico dos lipídeos de membrana. A ligação de um estímulo a seus receptores ativa as rotas 1 e 2.

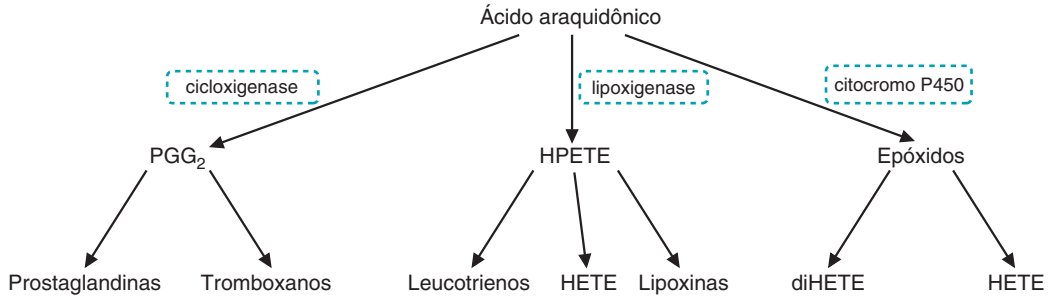


Figura 35.3 Rotas para o metabolismo do ácido araquidônico.

específica para a posição sn-2 de fosfoacilgliceróis, o sítio de ligação do ácido araquidônico à molécula de glicerol. A fosfolipase C hidrolisa o inositol fosforilado dos glicerofosfolipídeos de inositol, formando um diacilglicerol que contém ácido araquidônico, o qual é, subseqüentemente, liberado pela ação de outras lipases.

II. VIAS PARA A SÍNTESE DE EICOSANÓIDES

O ácido araquidônico, após ser liberado para o citosol, é convertido em eicosanóides por uma variedade de enzimas com atividades que variam entre tecidos. Essa variação explica por que algumas células, como aquelas no endotélio vascular, sintetizam prostaglandinas E_2 e I_2 (PGE_2 e PGI_2), enquanto outras, como as plaquetas, sintetizam principalmente tromboxano A_2 (TXA_2) e ácido 12-hidroxieicosatetraenóico (12-HETE).

As três vias principais para o metabolismo do ácido araquidônico ocorrem em vários tecidos (Figura 35.3). A primeira delas, a via da cicloxigenase, leva à síntese de prostaglandinas e tromboxanos. A segunda, a via das lipoxigenases, produz leucotrienos, HETEs e lipoxinas. A terceira via, catalisada pelo sistema citocromo P450, é responsável pela síntese dos epóxidos, HETEs e diHETEs.

A. Via da Cicloxigenase: Síntese de Prostaglandinas e Tromboxanos

1. ESTRUTURAS DAS PROSTAGLANDINAS

As prostaglandinas são ácidos graxos que contêm 20 átomos de carbono, incluindo um anel interno de cinco carbonos. Além desse anel, cada prostaglandina biologicamente ativa tem um grupo hidroxila no carbono 15, uma ligação dupla entre os carbonos 13 e 14 e vários substituintes no anel (Figura 35.4).

A nomenclatura para as prostaglandinas (PG) envolve o uso de letras maiúsculas (PGE), um número arábico subscrito (PGE_1) e, para a família da PGF, uma letra grega subscrita (p. ex., $PGF_{2\alpha}$). A letra maiúscula, nesse caso o "F", refere-se aos substituintes do anel mostrados na Figura 35.5.

A subscrição que segue a letra maiúscula (PGF_1) se refere à série 1, 2 ou 3 das PG, a qual é determinada pelo número de ligações insaturadas presentes na porção linear da cadeia de hidrocarboneto (Figura 35.6). As ligações duplas no anel interno não estão incluídas. As prostaglandinas pertencentes à série 1 possuem uma ligação dupla (entre os carbonos 13 e 14). A série 2 possui duas ligações duplas (entre os carbonos 13 e 14 e 5 e 6), e a série 3 possui três ligações duplas (entre os carbonos 13 e 14, 5 e 6 e 17 e 18). As ligações duplas entre os carbonos 13 e 14 são *trans*; as outras, *cis*.

A letra grega subscrita, encontrada somente na série F, refere-se à posição do grupo hidroxila no carbono 9. Esse grupo hidroxila existe principalmente na posição α, na qual se encontra abaixo do plano do anel, assim como o grupo hidroxila no carbono 11 (ver Figuras 35.4 e 35.5).

A inflamação que envolve as camadas mucosa e muscular lisa do trato respiratório tem um papel importante no desenvolvimento do broncoespasmo asmático agudo em pacientes como **Emma Wheezer**. A dexametasona e outros glicocorticóides potentes são capazes de prevenir ou suprimir essa inflamação.

Em parte, os glicocorticóides agem por meio da inibição do recrutamento de leucócitos e de monócitos-macrófagos para as áreas afetadas. Eles também limitam a habilidade dessas células em elaborar uma variedade de fatores quimiostáticos e outras substâncias, como certos eicosanóides, os quais aumentam o processo inflamatório. Os glicocorticóides, por exemplo, suprimem a transcrição e a tradução da forma indutível da enzima cicloxigenase, a COX-2. Eles também induzem a síntese de uma proteína ou família de proteínas (lipocortinas ou macrocortinas) que inibem a atividade da fosfolipase A_2. Como resultado, ocorre uma diminuição na síntese de prostaglandinas e leucotrienos, e a resposta inflamatória no tecido brônquico é reduzida (ver Figura 35.1 e 35.2).

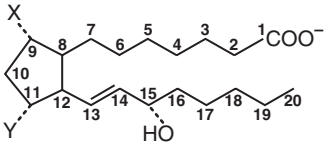


Figura 35.4 Aspectos estruturais comuns das prostaglandinas biologicamente ativas. Esses compostos têm 20 carbonos e um grupamento carboxil no carbono 1. Os carbonos de 8 a 12 formam um anel de 5 elementos com substituintes (geralmente um grupo hidroxila ou ceto) nos carbonos 9 (X) e 11 (Y). O carbono 15 contém um grupo hidroxila, e uma ligação dupla *trans* conecta os carbonos 13 e 14. Ligações duplas também podem estar presentes entre os carbonos 5 e 6 e 17 e 18 (ver Figura 35.6).

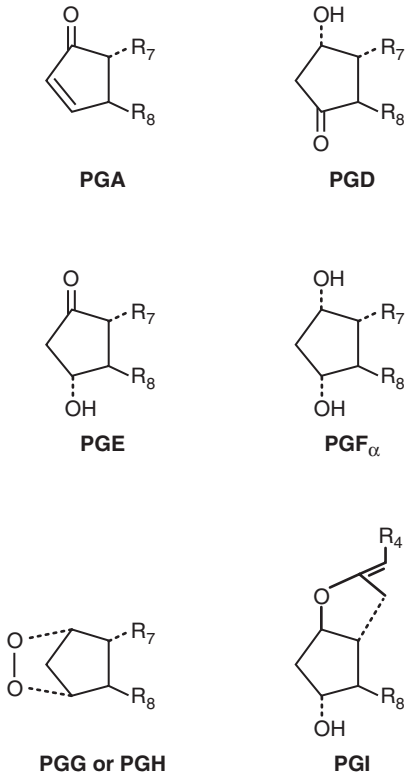


Figura 35.5 Substituintes do anel das prostaglandinas (PG). A letra após PG representa a configuração do anel e seus substituintes. R_4, R_7 e R_8 representam a cadeia aberta da molécula. R_4 contém 4 carbonos (incluindo o grupo carboxila). R_7 e R_8 contêm 7 e 8 carbonos, respectivamente, e correspondem às séries 1, 2 ou 3 mostradas na Figura 35.6. Note que as prostaciclinas (PGI) contêm dois anéis.

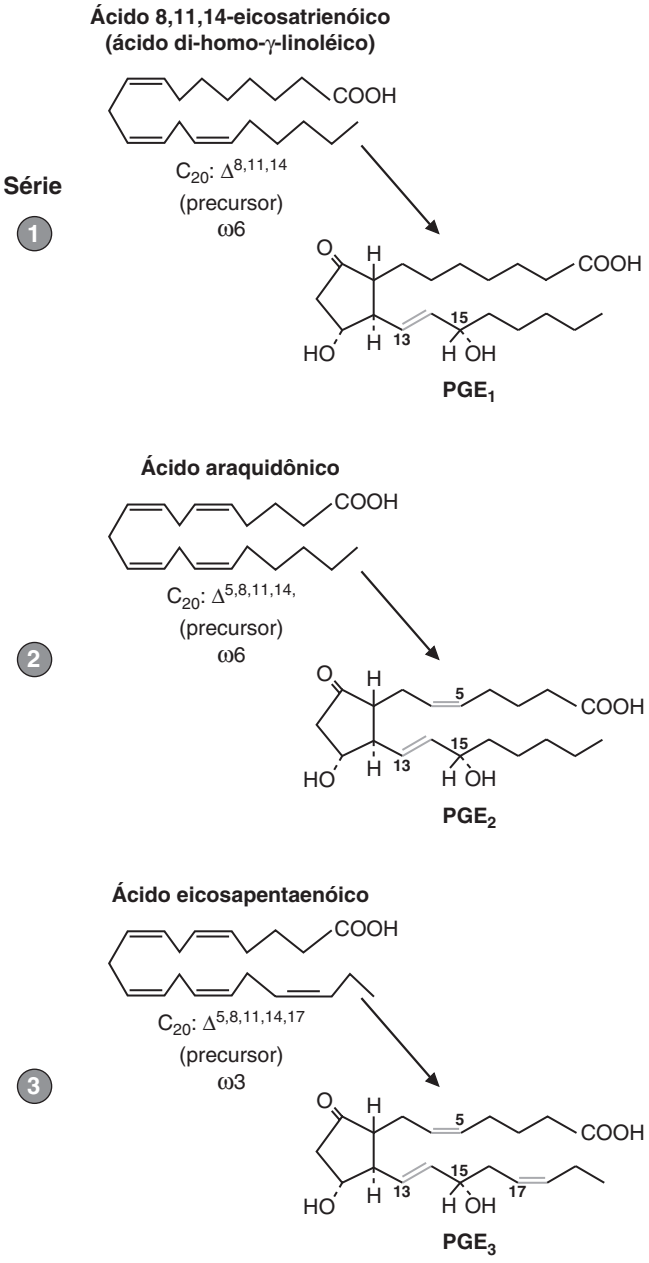


Figura 35.6 Prostaglandinas das séries 1, 2 e 3 e seus precursores. O numeral (subscrito no nome do composto) se refere ao número de ligações duplas da porção aberta da cadeia das prostaglandinas. A ligação dupla *trans* está na posição 13, e as ligações duplas *cis,* nas posições 5 e 17. O grupo hidroxila no carbono 15 é requerido para a atividade biológica.

2. ESTRUTURA DOS TROMBOXANOS

Os tromboxanos, derivados do ácido araquidônico pela via da cicloxigenase, são extremamente semelhantes em estrutura com as prostaglandinas, exceto porque eles contêm um anel com seis elementos que inclui um átomo de oxigênio (Figura 35.7). O tromboxano mais comum, TXA_2, contém um átomo de oxigênio adicional ligado aos carbonos 9 e 11 do anel.



Os tromboxanos foram assim denominados devido à sua ação na produção de coágulo sangüíneo (trombos).

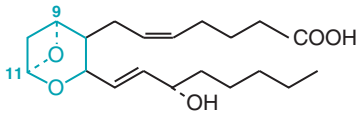
3. BIOSSÍNTESE DAS PROSTAGLANDINAS E DOS TROMBOXANOS

Somente a biossíntese daquelas prostaglandinas derivadas do ácido araquidônico (p. ex., da série 2, como PGE_2, PGI_2 e TXA_2) são descritas, pois as derivadas do ácido eicosatrienóico (da série 1) ou do ácido eicosapentaenóico (da série 3) estão presentes em muito baixas quantidades em seres humanos com uma dieta normal (ver Figura 35.6).

As reações bioquímicas que levam à síntese de prostaglandinas e tromboxanos estão ilustradas na Figura 35.8. O passo inicial, que é catalisado por uma cicloxigenase, forma o anel de cinco elementos e adiciona quatro átomos de oxigênio (dois entre os carbonos 9 e 11 e dois no carbono 15) para formar um endoperóxido instável, a PGG_2. O grupo hidroperoxi no carbono 15 é rapidamente reduzido a um grupo hidroxila por uma peroxidase para formar um outro endoperóxido, a PGH_2.

O próximo passo é tecido-específico (ver Figura 35.8). Dependendo do tipo celular envolvido, a PGH_2 pode ser reduzida à PGE_2 ou à PGD_2 por isomerases específicas (PGE-sintase e PGD-sintase). A PGE_2 pode ser novamente reduzida pela PGE 9-ceto-redutase para formar $PGF_{2\alpha}$. A $PGF_{2\alpha}$ também pode ser formada diretamente do PGH_2 pela ação de uma endoperóxido-redutase. Algumas das principais funções das prostaglandinas estão listadas na Tabela 35.1.

A PGH_2 pode ser convertida em tromboxano TXA_2, uma reação catalisada pela TXA-sintase (ver Figura 35.8), a qual está presente em altas concentrações nas plaquetas. No endotélio vascular, entretanto, a PGH_2 é convertida em prostaglandina PGI_2 (prostaciclina) pela PGI-sintase (ver Figura 35.8). O TXA_2 e a PGI_2 têm im-



Tromboxano A_2 (TXA_2)

Figura 35.7 O anel de tromboxano. Diferentemente das prostaglandinas, que possuem um anel de 5 carbonos, os tromboxanos possuem um anel de 6 elementos (mostrado em azul) contendo um átomo de oxigênio. Os substituintes estão ligados ao anel nos carbonos 9 e 11. No caso do TXA_2 (mostrado acima), um átomo de oxigênio conecta os carbonos 9 e 11.

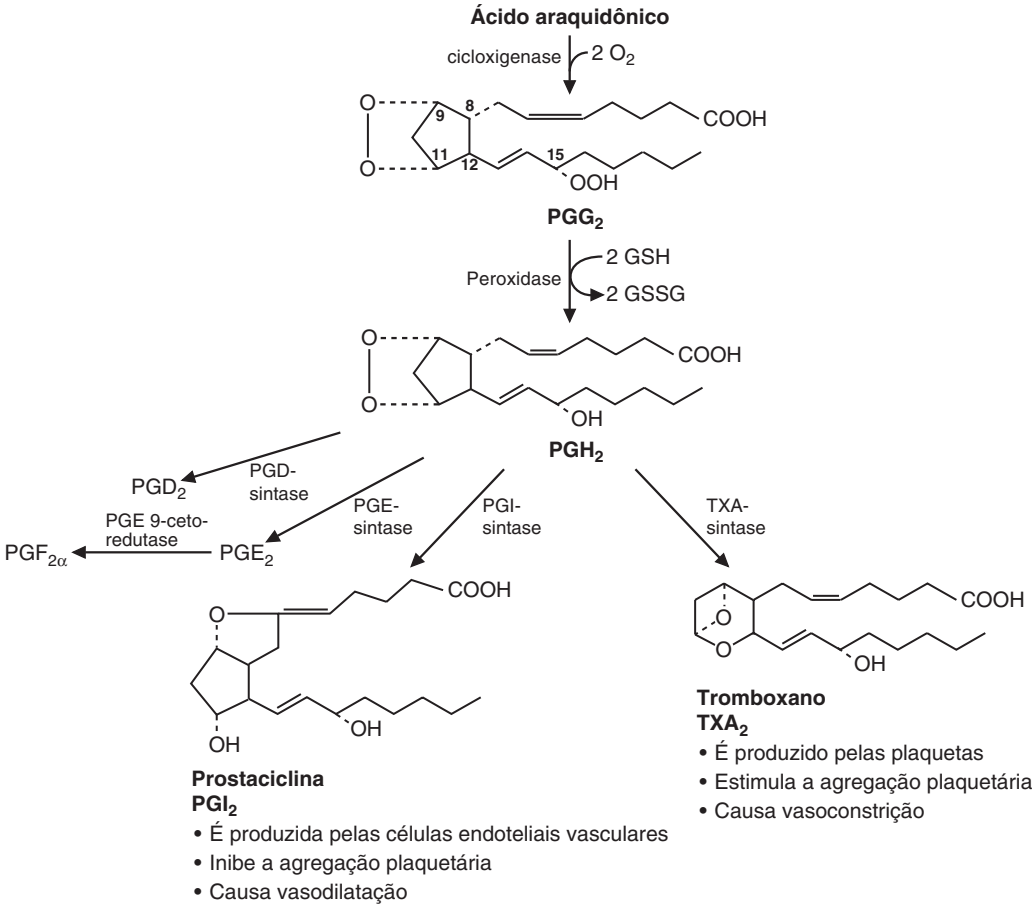


Figura 35.8 Formação de prostaglandinas (incluindo a prostaciclina PGI_2) e do tromboxano TXA_2 a partir de ácido araquidônico. A conversão do ácido araquidônico em PGH_2 é catalisada pela prostaglandina-endoperóxido-sintase, uma enzima ligada à membrana, a qual possui atividade de cicloxigenase e peroxidase. O agente redutor é a glutationa (GSH), que é oxidada a GSSG.

O eicosanóide predominante nas plaquetas é o TXA_2, um potente vasoconstritor e um estimulador da agregação plaquetária. Essa última ação inicia a formação do trombo nos locais de injúria vascular, bem como nas vizinhanças de uma placa aterosclerótica rompida no lúmen dos vasos, como as artérias coronárias. Tais trombos podem causar a oclusão total súbita do lúmen, causando o dano isquêmico agudo aos tecidos distais ao bloqueio (infarto agudo do miocárdio).

O ácido acetilsalicílico, pela acetilação covalente do sítio ativo da cicloxigenase, bloqueia a produção de TXA_2 a partir de seu principal precursor, o ácido araquidônico. Devido a essa deficiência hemostática leve, baixas doses de Aspirina® têm sido efetivas em prevenir o infarto agudo do miocárdio (ver Comentários Clínicos). Para **Ivan Applebod** (que apresenta sintomas de doença cardíaca coronariana), a Aspirina® é utilizada para prevenir o primeiro ataque cardíaco (prevenção primária); para **Ann Jeina** e **Cora Nari** (que já tiveram ataques cardíacos), para prevenir o segundo ataque cardíaco (prevenção secundária).

As dietas que incluem peixes de água gelada (p. ex., salmão, cavala, truta de água doce, arenque), as quais possuem um alto teor de ácidos graxos poliinsaturados, ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosaexaenóico (DHA) (ver Capítulo 33), resultam em um alto conteúdo desses ácidos graxos nos fosfolipídeos de membrana. Tem sido sugerido que tais dietas são efetivas em prevenir a doença cardíaca, em parte porque elas levam à formação de mais TXA_3 em relação a TXA_2. O TXA_3 é menos efetivo em estimular a agregação plaquetária do que o seu correspondente na série 2, o TXA_2.

Tabela 35.1 Algumas Funções das Prostaglandinas

PGI_2, PGE_2 e PGD_2
Aumentam
Vasodilatação
AMPc
Diminuem
Agregação plaquetária
Agregação leucocitária
[a]IL-1 e IL-2
Proliferação de célula T
Migração linfocitária
$PGF_{2\alpha}$
Aumenta
Vasoconstrição
Broncoconstrição
Contração da musculatura lisa

[a] IL = interleucina, uma citocina que aumenta a atividade de muitas células no sistema imunológico.

Tabela 35.2 Algumas Funções do Tromboxano A_2

Aumenta
Vasoconstrição
Agregação plaquetária
Proliferação linfocitária
Broncoconstrição

portantes efeitos biológicos antagônicos sobre os tônus vasomotor e muscular liso e sobre a agregação plaquetária. Algumas das funções conhecidas dos tromboxanos estão listadas na Tabela 35.2.

Na década de 1990, descobriu-se que a enzima cicloxigenase existia em duas isoformas distintas, designadas como COX-1 e COX-2. A COX-1 é considerada a forma constitutiva da enzima, expressa amplamente em quase todos os tecidos, e está envolvida na produção de prostaglandinas e tromboxanos para funções fisiológicas "normais". A COX-2 é a isoforma indutível da enzima e é regulada por uma variedade de citocinas e fatores de crescimento. O mRNA da COX-2 e os níveis de proteína são geralmente baixos na maioria dos tecidos sadios, mas são expressados em altas concentrações nos tecidos inflamados.

Devido à importância das prostaglandinas em mediar a resposta inflamatória, os fármacos que bloqueiam a síntese de prostaglandinas devem aliviar a dor. A enzima cicloxigenase é inibida por todas as drogas antiinflamatórias não-esteróides (NSAID), como a Aspirina® (ácido acetilsalicílico), a qual transfere um grupo acetila para a enzima, inativando-a irreversivelmente (Figura 35.9). Outras NSAID (p. ex., acetaminofen e ibuprofeno) agem como inibidoras reversíveis da cicloxigenase. O acetaminofen é o principal ingrediente do Tylenol®, e o ibuprofeno é o principal ingrediente em outras NSAID, como Motrin®, Nuprin® e Advil® (ver Figura 35.9). Embora essas drogas tenham alguma seletividade relativa em inibir a COX-1 ou a COX-2, elas blo-

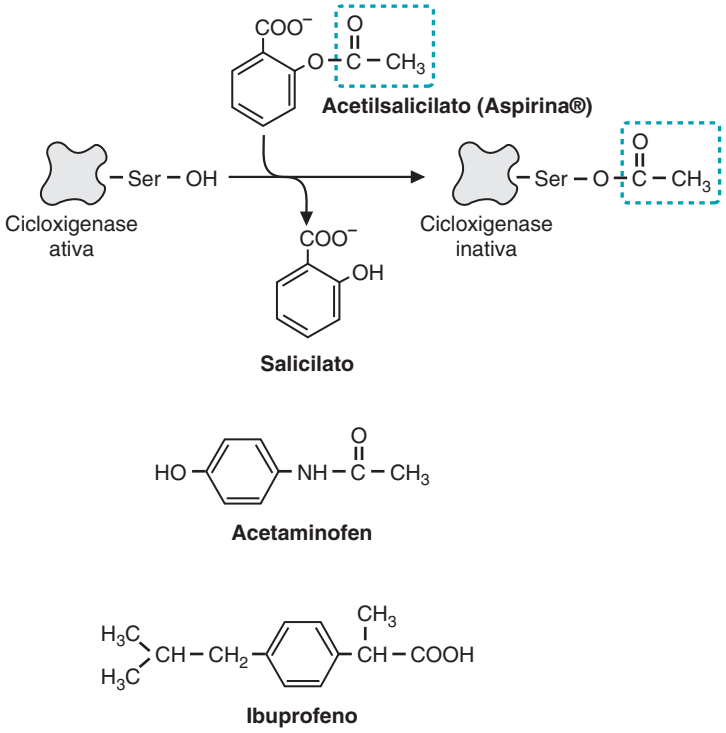


Figura 35.9 Ação da Aspirina® e de outras drogas antiinflamatórias não-esteróides.

queiam a atividade de ambas as isoformas. Esses achados forneceram o impulso para o desenvolvimento de inibidores seletivos da COX-2, os quais são propostos para atuar como potentes agentes antiinflamatórios pela inibição da atividade da COX-2, sem os efeitos colaterais gastrintestinais e antiplaquetários comumente associados ao uso de NSAID. Acredita-se que esses efeitos adversos das NSAID são resultantes da inibição da COX-1. Exemplos desses recentes inibidores seletivos da COX-2 são o celecoxib (Celebrex®) e o rofecoxib (Vioxx®).

4. INATIVAÇÃO DAS PROSTAGLANDINAS E DOS TROMBOXANOS

As prostaglandinas e os tromboxanos são rapidamente inativados. Suas meias-vidas ($t_{1/2}$) estão na faixa de segundos a minutos. As prostaglandinas são inativadas pela oxidação do grupo 15-hidroxila, crucial para sua atividade, a uma cetona. A ligação dupla no carbono 13 é reduzida. Subseqüentemente, ocorrem tanto a β-oxidação quanto a ω-oxidação de porções abertas da molécula, produzindo ácidos dicarboxílicos que são excretados na urina. O TXA_2 ativo é rapidamente metabolizado ao TXB_2 pela clivagem da ponte de oxigênio entre os carbonos 9 e 11 para formar dois grupamentos hidroxil. O TXB_2 não tem atividade biológica.

B. Via da Lipoxigenase: Síntese de Leucotrienos, HETE e Lipoxinas

Além de ser um substrato para a via da cicloxigenase, o ácido araquidônico também atua como tal para a via da lipoxigenase. As enzimas de lipoxigenase catalisam a incorporação de uma molécula de oxigênio no carbono de uma das várias ligações duplas do ácido araquidônico, formando um grupo hidroperóxi (-OOH) nessas posições. Com essa oxigenação, a ligação dupla se isomeriza a uma posição do carbono removido do grupo hidroperóxi e é transformada da configuração *cis* para a *trans* (Figura 35.10). O grupo hidroperóxi instável é, então, convertido em um grupo hidróxi mais estável.

As lipoxigenases podem agir nos carbonos 5, 12 ou 15. O tipo de lipoxigenase varia de tecido para tecido. Os leucócitos polimorfonucleares, por exemplo, contêm

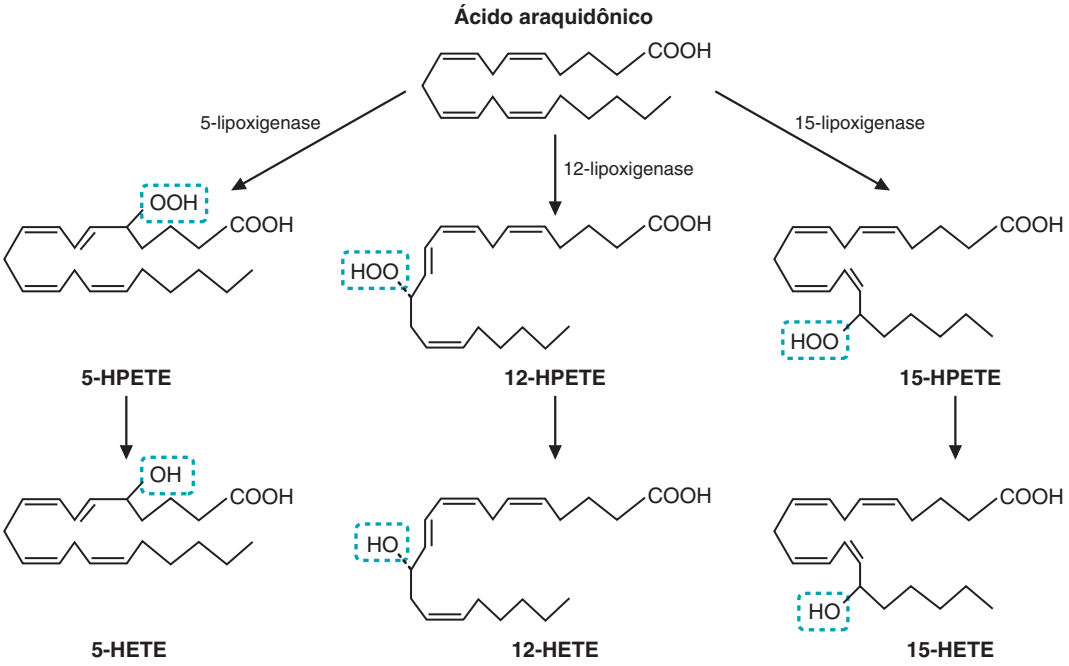


Figura 35.10 Ações das lipoxigenases na formação de HPETE e HETE. As lipoxigenases adicionam grupos hidroperóxi nas posições 5, 12 ou 15 com rearranjamento das ligações duplas. Os HPETE são instáveis e são rapidamente reduzidos para formar os HETE, ou são convertidos em leucotrienos e lipoxinas (ver Figuras 35.11 e 35.12).

Os leucotrienos foram assim denominados porque são sintetizados nos leucócitos e contêm uma estrutura de trieno típica, ou seja, três ligações duplas em série (nesse caso, nas posições 7, 9 e 11) (ver Figura 35.11).

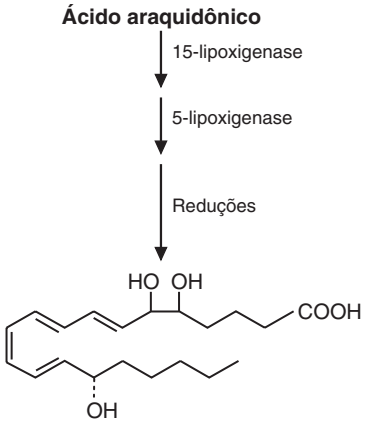


Figura 35.12 Formação de lipoxinas. Esses compostos contêm três grupos hidroxila.

principalmente a 5-lipoxigenase, as plaquetas são ricas em 12-lipoxigenase, e os leucócitos eosinófilos contêm principalmente a 15-lipoxigenase.

1. SÍNTESE DE LEUCOTRIENOS

Como mostrado na Figura 35.11, a síntese dos leucotrienos começa com a formação dos ácidos hidroperoxi-eicosatetraenóicos (HPETE). Esse produto é reduzido aos metabólitos hidroxi correspondentes, HETE (ver Figura 35.10), ou é metabolizado para formar leucotrienos ou lipoxinas (ver Figuras 35.11 e 35.12). Os principais leucotrienos são produzidos pela 5-lipoxigenase.

Em leucócitos e mastócitos, o 5-HPETE é convertido em um epóxido, o leucotrieno A_4 (LTA_4). O número 4 subscrito se refere à presença de quatro ligações duplas no leucotrieno. Três das ligações duplas (7, 9 e 11) são conjugadas, ou seja, formam um trieno.

Outros leucotrienos funcionais são formados a partir do LTA_4 por uma das duas vias. Na primeira, o LTA_4 é convertido em LTB_4, um derivado de 5,12-diidroxi. A segunda via metabólica envolve a adição da glutationa reduzida ao carbono 6 para formar LTC_4, uma reação catalisada pela glutationa-*S*-transferase. O glutamato é removido a partir da porção glutationa do LTC_4 pela ação da γ-glutamil-transpeptidase para formar LTD_4. Uma dipeptidase, então, cliva o resíduo de glicina do LTD_4 para formar LTE_4 (ver Figura 35.11). As principais funções de alguns dos leucotrienos são listadas na Tabela 35.3.

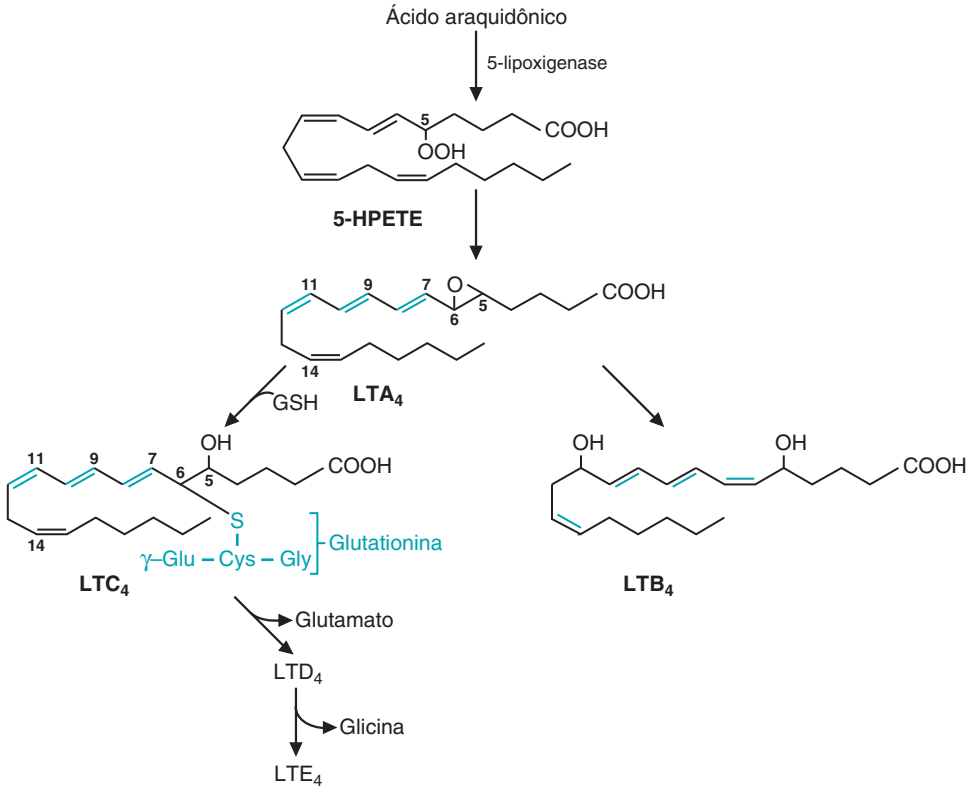


Figura 35.11 Formação de leucotrienos e dos derivados de leucotrienos e glutationa (GSH). HPETE = ácidos hidroperoxieicosatetraenóicos; LT = leucotrieno (assim, LTA_4 é o leucotrieno A_4).

2. SÍNTESE E AÇÕES DAS LIPOXINAS

As lipoxinas são formadas pela ação da 15-lipoxigenase seguida pela ação da 5-lipoxigenase sobre o ácido araquidônico. Uma série de reduções dos grupos hidroperoxis resultantes leva à formação de derivados triidroxis do ácido araquidônico conhecidos como lipoxinas (ver Figura 35.12). Em leucócitos, as lipoxinas induzem a quimiotaxia e estimulam a produção de ânion superóxido.

C. Via do Citocromo P450: Síntese e Ações de Epóxidos, HETE e diHETE

O terceiro mecanismo para a oxigenação do ácido araquidônico envolve a via da citocromo P450. A atividade das monoxigenases nesse sistema microssomal produz epóxidos, certas formas de HETEs (p. ex., derivados de ω-hidroxi) e formas de diol (diHETE) (Figura 35.13). As atividades biológicas desses compostos incluem ações nos sistemas ocular, vascular, endócrino e renal. Algumas dessas ações são atribuídas à inibição da Na^+,K^+-ATPase. O papel fisiológico desses compostos permanece desconhecido.

D. Síntese de Isoprostanos

Os isoprostanos são derivados do ácido araquidônico pela peroxidação lipídica, iniciada pelos radicais livres. Não existe mecanismo enzimático para a sua produção. O ácido araquidônico, sendo ainda um componente de um fosfolipídeo, sofre um dano causado por radicais livres, e, então, a fosfolipase A_2 remove o eicosanóide alterado do fosfolipídeo e o libera na circulação (Figura 35.14). O nível de isoprostanos na urina pode ser usado como uma medida de estresse oxidativo de um paciente e é um marcador biológico útil para pacientes que sofrem de estresse oxidativo causado por uma variedade de doenças. Surpreendentemente, essas moléculas alteradas de ácido araquidônico também têm atividade biológica quando medidas em culturas de células; não se sabe se níveis intracelulares alcançam concentrações altas o suficiente para promover esses efeitos biológicos. O isoprostano mais bem estudado é similar à $PGF_{2\alpha}$ e tem efeitos semelhantes à $PGF_{2\alpha}$ em cultura de células (ver Tabela 35.1).

E. Síntese de Endocanabinóides

Os endocanabinóides são ligantes endógenos do receptor canabinóide, com efeitos principalmente no sistema nervoso. A anandamida foi o primeiro ligante isolado e identificado. Ela é sintetizada nos neurônios a partir da fosfatidiletanolamina, como descrito na Figura 35.15. A via biossintética é única em transferir um grupo ácido araquidônico da posição 2 para o grupo amino livre na etanolamina, e, então, uma única fosfolipase D é utilizada para clivar a etanolamina modificada do fosfolipídeo. A síntese de anandamida é regulada, em parte, por agonistas que causam o influxo de cálcio para dentro das células nervosas. Uma vez liberada, a anandamida age como um mensageiro retrógrado, ligando-se aos receptores na membrana pré-sináptica que alteram o influxo de íons de tal forma que a liberação de neurotransmissores do neurônio pré-sináptico pode ser aumentada, e um efeito analgésico é obtido. A anandamida é degradada pela enzima ácido-graxo-amida-hidrolase, a qual quebra a anandamida em ácido araquidônico e etanolamina. A enzima hidrolase é alvo de investigação farmacológica, já que a inibição da sua ação irá prolongar o efeito analgésico induzido pela anandamida.

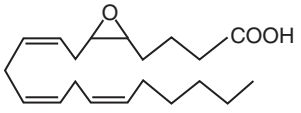
III. MECANISMO DE AÇÃO DOS EICOSANÓIDES

Os eicosanóides têm uma ampla variedade de efeitos fisiológicos que são geralmente iniciados pela interação do eicosanóide com um receptor específico localizado na membrana plasmática de uma célula-alvo (Tabela 35.4). Essa ligação eicosanóide-

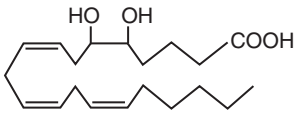
Tabela 35.3 Algumas Funções dos Leucotrienos

LTB_4
Aumenta
Permeabilidade vascular
Proliferação de célula T
Agregação leucocitária
INF-γ
IL-1
IL-2
LTC_4 e LTD_4
Aumentam
Broncoconstrição
Permeabilidade vascular
INF-γ

Abreviaturas: INF = interferon; IL = interleucina.



Epóxido (5,6-EET)



Diidróxido (5,6-diHETE)

Figura 35.13 Exemplos de compostos produzidos a partir do ácido araquidônico pela via do citocromo P450.



É importante lembrar que o estresse oxidativo resulta da formação de espécies reativas de oxigênio ou nitrogênio que não foram completamente neutralizadas pelos antioxidantes (ver Capítulo 24). O aumento nas espécies reativas de oxigênio e nitrogênio provoca modificações em proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos. Muitas doenças neurodegenerativas (como a doença de Alzheimer, a de Parkinson e a de Lou Gehrig) apresentam, em comum, o aumento do estresse oxidativo.

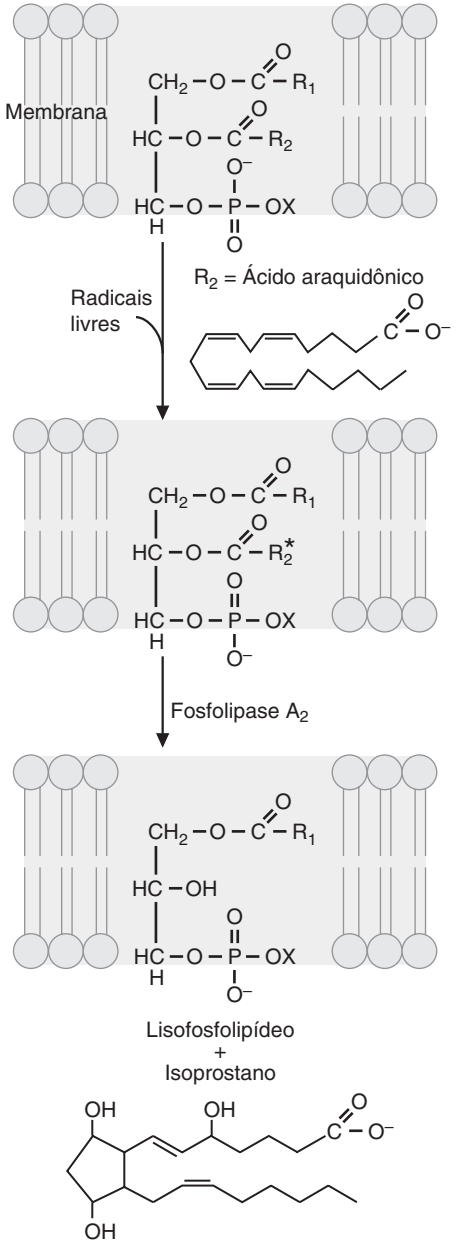


Figura 35.14 Formação de um isoprostano. O dano causado por radical livre no resíduo do ácido araquidônico na posição 2 de um fosfolipídeo forma um isoprostano, o qual é, então, removido do fosfolipídeo danificado pela fosfolipase A_2. O isoprostano mostrado na figura é um exemplo dos muitos que podem ser produzidos.

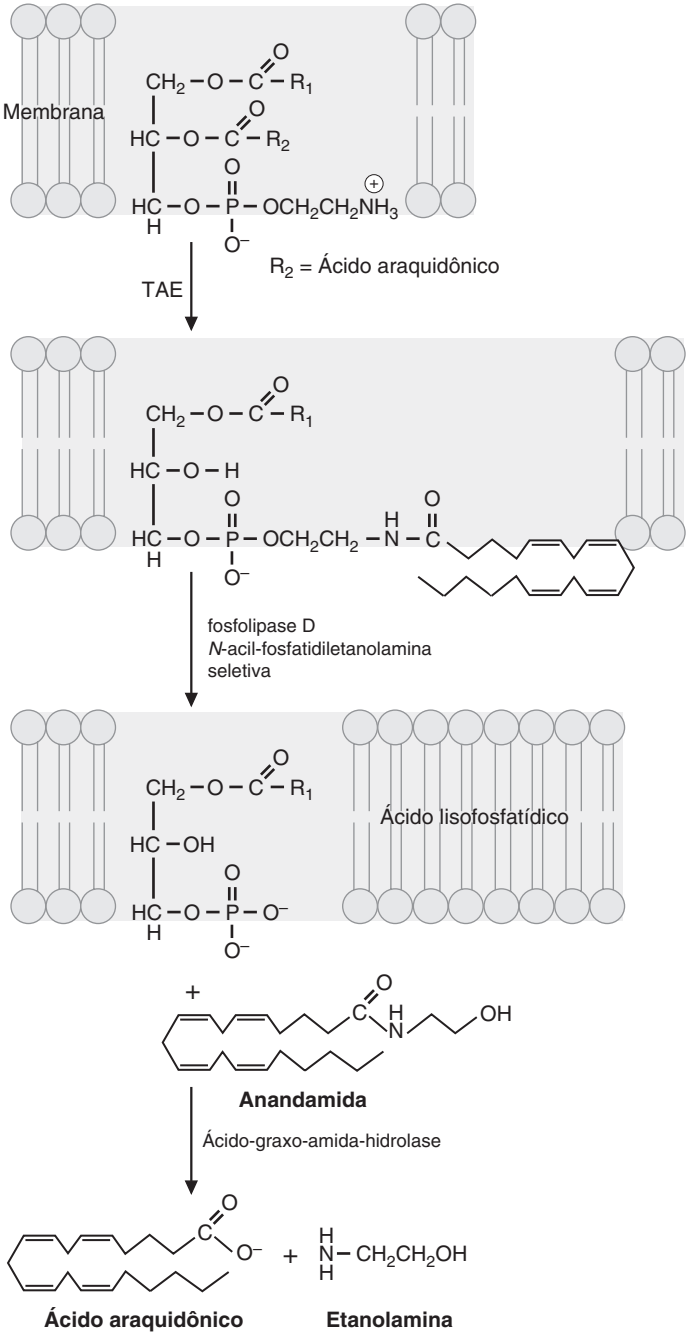


Figura 35.15 Síntese e degradação da anandamida. TAE = transacilase.

Tabela 35.4 Receptores de Prostaglandinas e Tromboxanos

Receptor	Tipo de Ligante	Ligado à Proteína G	Resposta ao AMPc	Resposta ao Cálcio
DP	Série PGD	Sim	Aumenta	Nenhuma
EP1	Série PGE	Sim	Nenhuma	Aumenta
EP2	Série PGE	Sim	Aumenta	Nenhuma
EP3	Série PGE	Sim	Diminui	Nenhuma
EP4	Série PGE	Sim	Aumenta	Nenhuma
FP	Série PGF	Sim	Nenhuma	Aumenta
IP	Série PGI	Sim	Aumenta	Nenhuma
TP	Tromboxano A	Sim	Nenhuma	Aumenta

receptor tanto ativa o sistema adenilato-ciclase-AMPc-proteína quinase A (séries de PGE, PGD e PGI) quanto causa um aumento nos níveis de cálcio no citosol das células-alvo ($PGF_{2\alpha}$, TXA_2, endoperóxidos e leucotrienos).

Em alguns sistemas, os eicosanóides parecem modular o grau de ativação da adenilato-ciclase em resposta a outros estímulos. Nesses casos, o eicosanóide pode se ligar a uma subunidade regulatória da proteína de ligação de GTP (proteínas G) dentro da membrana plasmática da célula-alvo (ver Capítulo 11). Se o eicosanóide se liga à subunidade estimulatória, o efeito do estímulo é amplificado; se, ao contrário, ele se liga à subunidade inibitória, a resposta celular para o estímulo é reduzida. Mediante essas influências sobre a ativação da adenilato-ciclase, os eicosanóides contribuem para a regulação de funções celulares.

Alguns dos efeitos biológicos de certos eicosanóides ocorrem como resultado de uma ação parácrina ou autócrina. Uma das ações parácrinas é a contração das células musculares lisas vasculares causada pelo TXA_2 liberado das plaquetas circulantes (vasoconstrição). Uma das ações autócrinas dos eicosanóides é exemplificada pela agregação plaquetária induzida pelo TXA_2 produzido pelas próprias plaquetas.

Os eicosanóides influenciam as funções celulares de quase todos os tecidos do corpo. Certos sistemas de órgãos são afetados mais do que outros.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Na presença de ácido acetilsalicílico, a cicloxigenase é irreversivelmente inativada por acetilação. Novas moléculas de cicloxigenase não são produzidas nas plaquetas, pois essas células não têm núcleo e, portanto, não podem sintetizar novos mRNA. Assim, a inibição da cicloxigenase por ácido acetilsalicílico persiste pelo tempo de vida da plaqueta (7 a 10 dias). Quando o ácido acetilsalicílico é tomado diariamente em doses entre 81 e 325 mg, as novas plaquetas são afetadas à medida que são produzidas. Doses mais altas não melhoram a eficácia, mas aumentam os efeitos colaterais, como sangramento gastrintestinal e facilidade de formar hematomas.

Pacientes com doença coronariana aterosclerótica estabelecida ou suspeita, como **Ann Jeina**, **Cora Nari** e **Ivan Applebod**, beneficiam-se da ação de baixa-dose de ácido acetilsalicílico (aproximadamente 162 mg/dia), a qual produz um defeito leve na hemostasia. Essa ação do ácido acetilsalicílico auxilia a prevenir a formação de trombo na área de uma placa aterosclerótica em locais críticos da árvore vascular.

Os corticosteróides reduzem a inflamação, em parte, por meio de seu efeito inibitório sobre a fosfolipase A_2. Além disso, atualmente acredita-se que a supressão da indução da COX-2 seja um mecanismo antiinflamatório primário da ação de glicocorticóides. Apesar do valor inquestionável da terapia com glicocorticóide em uma variedade de doenças associadas à inflamação aguda dos tecidos, a supressão da resposta inflamatória com doses farmacológicas de corticosteróides é potencialmente perigosa. O aparecimento súbito de intolerância temporária à glicose quando **Emma Wheezer** foi tratada com altas doses de dexametasona, um esteróide gliconeogênico (glicocorticóide), é apenas um dos muitos efeitos adversos potenciais dessa classe de medicamentos quando administrados de forma sistêmica em doses farmacológicas por um período longo de tempo. Os esteróides inaláveis, ao contrário, apresentam efeitos sistêmicos muito menores, pois sua absorção através da mucosa brônquica para a circulação é muito limitada. Essa propriedade permite que eles sejam utilizados por períodos prolongados no tratamento da asma. O fato de que a inalação permite o acesso direto do agente no local primário da inflamação colabora para sua efetividade no tratamento desses pacientes.

Embora o conhecimento sobre as ações biológicas dos eicosanóides endógenos seja incompleto, diversas ações estão bem estabelecidas, o que permite a sua aplicação em uma variedade de situações clínicas ou doenças. Por exemplo, as drogas que são análogas a PGE_1 e PGE_2 suprimem a ulceração gástrica, em parte por inibir a secreção do ácido clorídrico na célula da mucosa do estômago. Análogos da PGE_1 são usados no tratamento da impotência sexual. Homens com certas formas de impotência sexual podem auto-injetar esses agentes dentro do corpo cavernoso do pênis para induzir imediata, mas temporária, tumescência peniana. A ereção dura de uma a três horas. A ação estimulatória da PGE_2 e da $PGF_{2\alpha}$ sobre a contração da musculatura uterina tem levado ao uso dessas prostaglandinas para induzir o parto e para controlar a hemorragia do pós-parto. A PGE_1 também é utilizada como terapia paliativa em recém-nascidos com defeitos cardíacos congênitos para manter a desobstrução dos ductos arteriosos até que a cirurgia possa ser realizada. Análogos da PGE_1 têm se mostrado efetivos no tratamento da hipertensão pulmonar primária.



Embora desconfortáveis, a dor, o intumescimento e a febre, que fazem parte da resposta inflamatória, servem como um importante sinal de alerta de que o hospedeiro está sendo ameaçado, e algumas contra-ações específicas devem ser tomadas contra o agente ou processo agressor. Embora o uso de fármacos antiinflamatórios possa trazer alívio aos sintomas, ele diminui em parte a eficiência do hospedeiro em responder ao agente causador.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



A inflamação é a resposta do corpo à infecção ou à injúria e é direcionada a destruir os agentes infecciosos e reparar as áreas danificadas. Ela causa vasodilatação, aumentando o suprimento de sangue para a região afetada. Os capilares se tornam mais permeáveis, de maneira que o fluido, as moléculas grandes e as células brancas sangüíneas possam atravessá-los, deixando o sangue e se dirigindo para o tecido. Os glóbulos brancos (particularmente neutrófilos e monócitos) movem-se por quimiotaxia para o local danificado. Vermelhidão (rubor), aquecimento (calor), intumescimento (tumor) e dor (algesia) estão associados ao processo inflamatório. A vermelhidão e o calor são causados pelo aumento no fluxo sangüíneo, o intumescimento é o resultado do aumento no movimento do fluido e das células brancas sangüíneas para dentro da área inflamada, e a dor é causada pela liberação de compostos químicos e pela compressão de nervos nas proximidades do processo inflamatório.

Os mediadores químicos da inflamação geralmente são produzidos pela ativação do complemento (uma família de proteínas sangüíneas que são clivadas para formar fragmentos ativos) ou da cascata da coagulação sangüínea (ver Capítulo 45). Esses processos causam a liberação de histamina dos mastócitos e a produção de cininas pela clivagem de cininogênios. Entre outras funções, a histamina e as cininas aumentam a permeabilidade vascular. Elas estimulam a síntese de eicosanóides que agem na motilidade e no metabolismo das células brancas sangüíneas e causam a agregação de plaquetas para impedir a hemorragia. Algumas das prostaglandinas agem nos centros termorregulatórios do cérebro, produzindo febre. As citocinas também são liberadas e estimulam a proliferação de células envolvidas na resposta imunológica.

Leituras Sugeridas

Brash AR. Lipoxygenases: occurrence, functions, catalysis, and acquisition of substrate. J Biol Chem 1999;274:23679-23682.

Dimarzo V, Bisogno T, and DePetrocellis L. Anandamide: some like it hot. Trends Pharm Sci 2001:22:346-349.

Halushka PV. Prostaglandins and related compounds. In: Goldman L and Bennett JC, eds. Cecil Textbook of Medicine. Philadelphia: WB Saunders, 2000:1189-1194.

Marnett LJ, Rowlinson SW, Goodwin DC, Kalgutkar AS, Lanzo CA. Arachidonic acid oxygenation by COX-1 and COX-2: Mechanisms of catalysis and inhibition. J Biol Chem 1999;274: 22903-22906.

Morrow JD, Roberts LJ II. Lipid-derived autacoids. In: Hardman JG, Limbird LE, eds. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. New York: McGraw-Hill, 2001: 669-680.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 35

1. Em seres humanos, as prostaglandinas são derivadas principalmente de qual composto?

   (A) Glicose
   (B) Acetil-CoA
   (C) Ácido araquidônico
   (D) Ácido oléico
   (E) Leucotrienos

2. Qual das seguintes reações será inibida pelo ácido acetilsalicílico?

   (A) Ácido araquidônico → tromboxanos
   (B) Ácido araquidônico → leucotrienos
   (C) Ácido araquidônico → fosfolipídeos
   (D) Ácido linoléico → ácido araquidônico
   (E) Acetil-CoA → ácido linoléico

3. Qual das seguintes drogas leva à modificação covalente e à inativação das enzimas COX-1 e COX-2?

   (A) Aspirina®
   (B) Tylenol®
   (C) Celebrex®
   (D) Vioxx®
   (E) Advil®

4. O tromboxano A_2, encontrado em altas concentrações nas plaquetas, ajuda no reparo de feridas pela indução de qual das seguintes atividades?

   (A) Inibe a expressão gênica da COX-2
   (B) Inibe a expressão gênica da COX-1
   (C) Vasoconstrição
   (D) Vasodilatação
   (E) Broncodilatação

5. Certas prostaglandinas, quando se ligam aos seus receptores, induzem um aumento nos níveis intracelulares de cálcio. Qual das seguintes enzimas inicia o sinal que leva ao aumento no cálcio intracelular?

   (A) Proteína-quinase A
   (B) Fosfolipase C
   (C) Fosfolipase A_2
   (D) Proteína-quinase C
   (E) Cicloxigenase

36 Integração do Metabolismo de Carboidratos e Lipídeos

O propósito deste capítulo é resumir e integrar as principais rotas de utilização de carboidratos e gorduras como substratos energéticos. Será priorizada a revisão dos mecanismos regulatórios que determinam o fluxo de metabólitos no estado alimentado e de jejum, integrando as rotas que foram descritas separadamente nos metabolismos de carboidratos e lipídeos. A próxima seção aborda os mecanismos pelos quais as rotas do metabolismo de nitrogênio são coordenadas com o metabolismo de lipídeos e carboidratos.

Para as espécies sobreviverem, é necessário estocar comida em excesso da alimentação e usar esses estoques quando se está em jejum. Os mecanismos regulatórios direcionam os compostos através de rotas metabólicas envolvidas no armazenamento e na utilização de substratos energéticos. Esses mecanismos são controlados por ***hormônios****, pela* ***concentração de substratos energéticos disponíveis*** *e pelas* ***necessidades energéticas*** *do corpo.*

Mudanças nos níveis hormonais, na concentração dos substratos energéticos e nos requerimentos de energia afetam a atividade de enzimas-chave nas principais rotas do metabolismo. ***Enzimas*** *intracelulares são geralmente reguladas por* ***ativação e inibição****, por* ***fosforilação e desfosforilação*** *(ou outras modificações covalentes), por* ***indução e repressão*** *da síntese e por* ***degradação****. A ativação e a inibição de enzimas causam mudanças imediatas no metabolismo. A fosforilação e a desfosforilação de enzimas afetam o metabolismo um pouco menos rapidamente. A indução e a repressão da síntese de enzimas são processos bem mais lentos, em geral afetando o fluxo metabólico em um período de horas. A degradação de enzimas diminui a quantidade disponível para catalisar reações.*

As rotas do metabolismo têm ***múltiplos pontos de controle*** *e* ***múltiplos reguladores*** *em cada ponto de controle. A função desses mecanismos complexos é produzir uma resposta gradual a um estímulo e dar sensibilidade a múltiplos estímulos, de tal forma que um balanço exato é mantido entre o fluxo através de um passo (ou uma série de passos) e a necessidade ou o uso para o produto. A piruvato-desidrogenase é um exemplo de uma enzima que tem mecanismos regulatórios múltiplos. Não obstante os níveis de insulina, a enzima não pode se tornar completamente ativada na presença de produtos ou ausência de substratos.*

Os principais hormônios que regulam as rotas do metabolismo de substratos energéticos são a ***insulina*** *e o* ***glucagon****. No fígado, todos os efeitos do glucagon são revertidos pela insulina, e algumas das rotas que a insulina ativa são inibidas por glucagon. Assim, as rotas do metabolismo de carboidratos e lipídeos são geralmente reguladas por mudanças na* ***razão insulina/glucagon****.*

Embora o ***glicogênio*** *seja uma forma crucial de armazenamento de substrato energético – pois os níveis de glicose sangüíneos devem ser cuidadosamente mantidos –, os* ***triacilgliceróis*** *do tecido adiposo são, quantitativamente, o principal estoque de substrato energético em seres humanos. Após uma refeição, tanto a glicose quanto a gordura da dieta são armazenadas no tecido adiposo como triacilglicerol. Esse substrato energético é liberado durante o jejum, quando fornece a principal fonte de energia para os tecidos do corpo. A quantidade de tempo que se pode sobreviver sem comida depende principalmente do tamanho dos estoques de gordura do corpo.*

SALA DE ESPERA

Dois meses após sua cirurgia para remover um tumor benigno de células β secretoras de insulina do pâncreas, **Bea Selmass** estava, novamente, fazendo corridas leves. Ela tinha perdido os 3,6 Kg que ganhou nas seis semanas anteriores à sua cirurgia. Como não ocorreram mais episódios hipoglicêmicos, não havia a necessidade de ingestão freqüente de alimentos com carboidratos para prevenir os sintomas adrenérgicos e neuroglicopênicos que ela apresentava quando seu tumor estava secretando quantidades excessivas de insulina.

Poucos meses após sua última hospitalização, **Di Abietes** foi novamente trazida para a emergência do hospital em cetoacidose diabética (DKA). Amostras de sangue para glicose e eletrólitos foram coletadas repetidamente durante as primeiras 24 horas. O laboratório do hospital informou que o soro em cada uma dessas amostras parecia opalescente em vez de apresentar sua aparência normal clara ou transparente. Essa opalescência resulta da dispersão da luz causada pela presença de níveis elevados de lipoproteínas ricas em triacilglicerol no sangue.

Quando **Ann Sulin** inicialmente apresentou diabetes melito tipo 2, aos 39 anos de idade, ela estava cerca de 13,6 Kg acima de seu peso ideal. Seus níveis de glicose sérica foram acompanhados de anormalidades em seu perfil lipídico após 14 horas de jejum. Os níveis de colesterol sérico total, de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e de triacilglicerol estavam elevados, e o nível de colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL) estava abaixo da faixa normal.

I. REGULAÇÃO DO METABOLISMO DE CARBOIDRATOS E LIPÍDEOS NO ESTADO ALIMENTADO

A. Mecanismos que Afetam a Síntese de Glicogênio e Triacilglicerol no Fígado

Após uma refeição, o fígado sintetiza glicogênio e triacilglicerol. O nível de glicogênio armazenado no fígado pode aumentar de aproximadamente 80 g após um jejum noturno até um limite de cerca de 200 a 300 g. Embora o fígado sintetize triacilglicerol, ele não o armazena, mas o "empacota" na lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL, do inglês ***v**ery-**l**ow-**d**ensity **l**ipoprotein*) e a secreta para o sangue. Os ácidos graxos dos triacilgliceróis da VLDL secretada pelo fígado são armazenados como triacilgliceróis no tecido adiposo. Esse tecido tem uma capacidade quase infinita de armazenar gordura, limitada principalmente pela habilidade do coração em bombear sangue através dos capilares da massa adiposa em expansão. Embora a gordura seja estocada por todo o corpo, ela tende a se acumular em lugares onde não há muita interferência com a mobilidade: no abdômen, no quadril, nas coxas e nas nádegas.

Tanto a síntese de glicogênio hepático quanto a conversão da glicose da dieta a triacilglicerol (lipogênese) pelo fígado são reguladas por mecanismos que envolvem enzimas-chave nessas rotas.

1. GLICOQUINASE

Após uma refeição, a glicose pode ser convertida em glicogênio ou em triacilglicerol no fígado. Para ambos os processos, ela é primeiramente convertida em glicose-6-fosfato pela glicoquinase, uma enzima hepática que possui um K_m alto para glicose (Figura 36.1). Devido à sua baixa afinidade para a glicose, essa enzima é mais ativa no

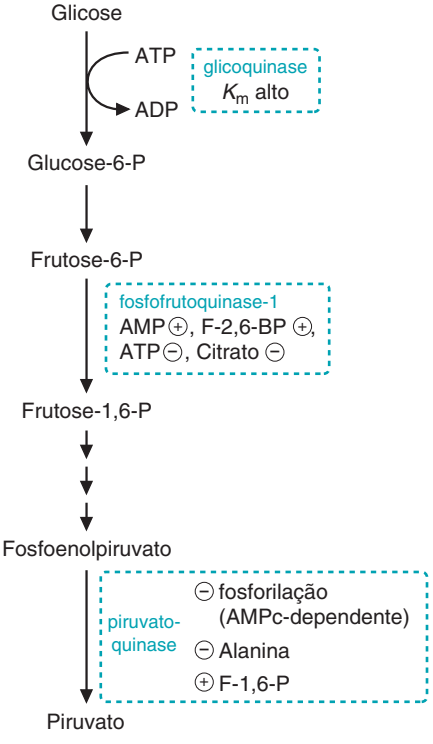


Figura 36.1 Regulação da glicoquinase, da PFK-1 e da piruvato-quinase no fígado.

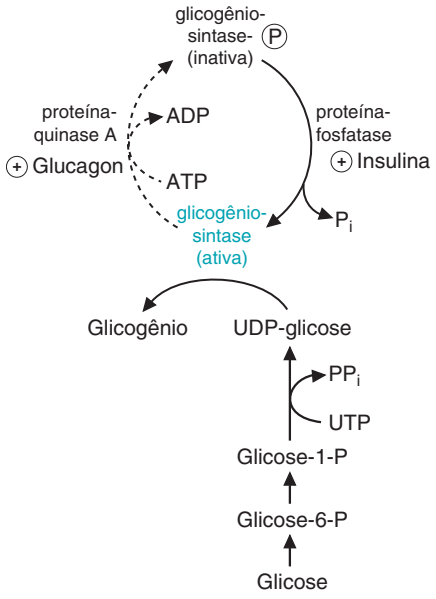


Figura 36.2 Regulação da glicogênio-sintase. Essa enzima é fosforilada por uma série de quinases que começa pela proteína-quinase AMPc-dependente, em condições de jejum. Ela é desfosforilada e ativa após uma refeição, e o glicogênio é armazenado. P = fosfato; + = ativado por; – = inibido por.

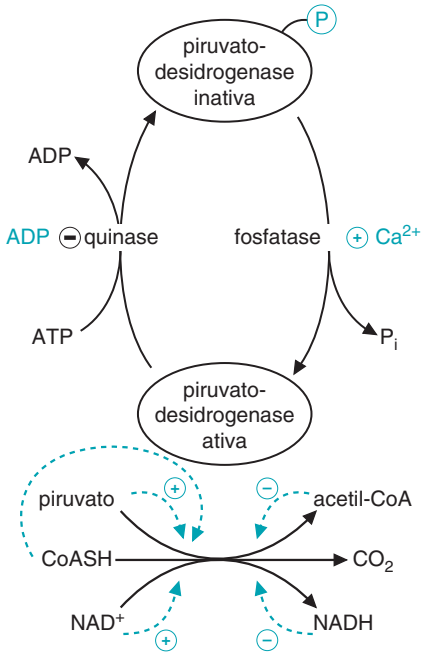


Figura 36.3 Regulação da piruvato-desidrogenase (PDH). Uma quinase associada ao complexo PDH fosforila e inativa a enzima.

estado alimentado, quando a concentração de glicose é particularmente alta, isso porque a veia porta hepática carrega os produtos digestivos diretamente do intestino para o fígado. A síntese da glicoquinase também é induzida pela insulina (que está elevada após uma refeição) e reprimida pelo glucagon (que está elevado durante o jejum). Em concordância com a função do fígado de manter os níveis de glicose no sangue, esse sistema é configurado de tal forma que o fígado pode metabolizar a glicose somente quando os níveis de açúcar estão altos, e não quando estão baixos.

2. GLICOGÊNIO-SINTASE

Na conversão de glicose-6-fosfato a glicogênio, a enzima-chave regulatória é a glicogênio-sintase. Ela é ativada pela desfosforilação que ocorre quando a insulina está elevada e o glucagon está diminuído (Figura 36.2) e pelo nível aumentado de glicose.

3. FOSFOFRUTOQUINASE-1 E PIRUVATO-QUINASE

Para a lipogênese, a glicose-6-fosfato é convertida por meio da glicólise em piruvato. A fosfofrutoquinase-1 (PFK-1, do inglês ***p**hospho**f**ructo**k**inase-1*) e a piruvato-quinase são as enzimas-chave que regulam essa rota no fígado. No estado alimentado, a PFK-1 é ativada alostericamente por frutose-2,6-bisfosfato e por monofosfato de adenosina (AMP, do inglês ***a**denosine **m**ono**p**hosphate*) (ver Figura 36.1). A fosfofrutoquinase-2, a enzima que produz o ativador frutose-2,6-bisfosfato, está desfosforilada e ativa após uma refeição (ver Capítulo 22). A piruvato-quinase também está ativada por desfosforilação, que é estimulada pelo aumento da razão insulina/glucacon no estado alimentado (ver Figura 36.1).

4. PIRUVATO-DESIDROGENASE E PIRUVATO-CARBOXILASE

A conversão de piruvato em ácidos graxos requer uma fonte de acetil-CoA no citosol. O piruvato pode ser convertido em acetil-CoA somente na mitocôndria, assim, ele entra na mitocôndria e forma acetil-CoA pela reação da piruvato-desidrogenase (PDH). Essa enzima está desfosforilada e mais ativa quando o seu suprimento de substratos e de difosfato de adenosina (ADP, do inglês ***a**denosine **di**phosphate*) é alto, seus produtos são utilizados, e a insulina está presente (Figura 36.3).

O piruvato também é convertido em oxaloacetato. A enzima que catalisa essa reação, a piruvato-carboxilase, é ativada por acetil-CoA. Como o acetil-CoA não pode atravessar diretamente a membrana mitocondrial para formar ácidos graxos no citosol, ele se condensa com o oxaloacetato, produzindo citrato. O citrato que não for necessário para a atividade do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA, do inglês ***tric**arboxylic **a**cid*) atravessa a membrana e entra no citosol.

Como os ácidos graxos são produzidos sob condições de alta energia, a razão $NADH/NAD^+$ alta na mitocôndria inibe a isocitrato-desidrogenase, o que leva ao acúmulo de citrato dentro da matriz mitocondrial. Conforme o citrato se acumula, ele é exportado para o citosol para doar carbonos para a síntese de ácidos graxos.

5. CITRATO-LIASE, ENZIMA MÁLICA E GLICOSE-6-FOSFATO-DESIDROGENASE

No citosol, o citrato é clivado pela citrato-liase, uma enzima induzível, para formar oxaloacetato e acetil-CoA (Figura 36.4). O acetil-CoA é usado para a biossíntese de ácido graxo e para a síntese de colesterol, rotas que são ativadas pela insulina. O oxaloacetato é reciclado a piruvato via malato-desidrogenase citosólica e enzima málica, que são induzíveis. A enzima málica gera NADPH para as reações do complexo ácido graxo-sintase. O NADPH também é produzido por duas enzimas da via da pentose-fosfato (ver Capítulo 29), a glicose-6-fosfato-desidrogenase e a 6-fosfogluconato-desidrogenase. A glicose-6-fosfato-desidrogenase também é induzida pela insulina.

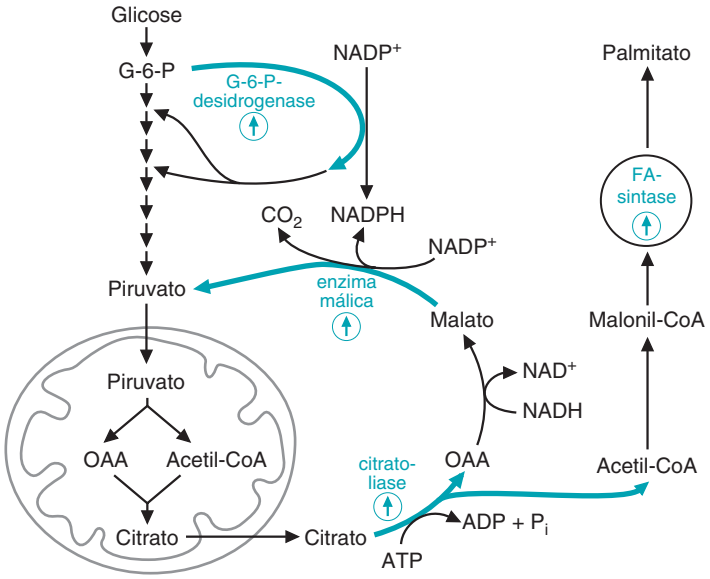


Figura 36.4 Regulação de citrato-liase, enzima málica, glicose-6-fosfato-desidrogenase e ácido graxo-sintase. A citrato-liase, que fornece acetil-CoA para a biossíntese de ácidos graxos, as enzimas que fornecem NADPH (enzima málica, glicose-6-fosfato-desidrogenase), bem como a ácido graxo-sintase, são induzíveis (↑).

6. ACETIL-COA-CARBOXILASE

O acetil-CoA é convertido em malonil-CoA, que fornece as unidades de 2 carbonos para o alongamento da cadeia acil em crescimento no complexo ácido-graxo-sintase. A acetil-CoA-carboxilase, a enzima que catalisa a conversão de acetil-CoA em malonil-CoA, é controlada por três dos principais mecanismos que regulam a atividade enzimática (Figura 36.5). Ela é ativada por citrato, que faz com que a enzima se polimerize, e

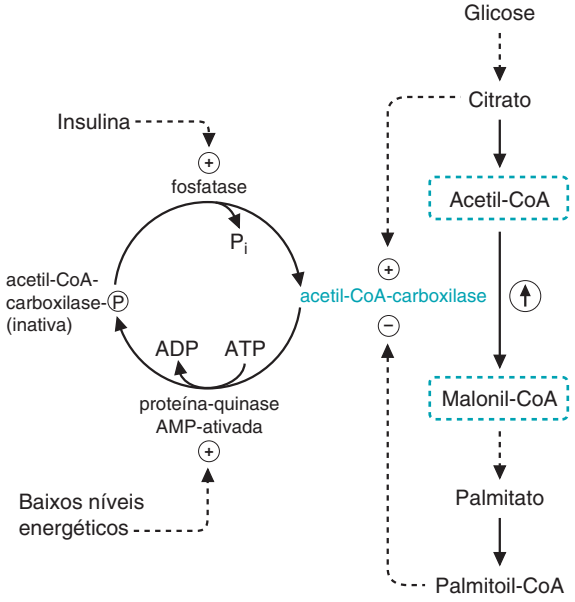


Figura 36.5 Regulação da acetil-CoA-carboxilase (AcC). A AcC é regulada por ativação e inibição, por fosforilação (mediada pela proteína-quinase AMP-ativada) e desfosforilação (via uma fosfatase insulino-estimulada) e por indução e repressão. Ela está ativa no estado alimentado.

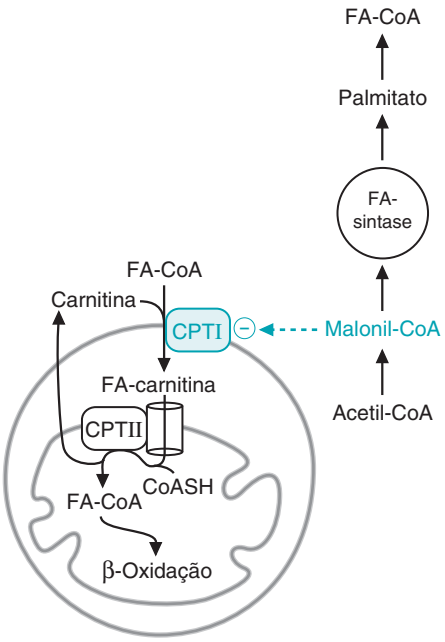


Figura 36.6 Inibição do transporte dos ácidos graxos (FA, do inglês ***fatty acid***) para dentro da mitocôndria pela malonil-CoA. No estado alimentado, a malonil-CoA (substrato para a síntese de ácidos graxos produzida pela acetil-CoA-carboxilase) está elevada. Ela inibe a CPTI, prevenindo o transporte de ácidos graxos de cadeia longa para dentro da mitocôndria. Portanto, o substrato não é disponibilizado para a β-oxidação e a síntese de corpos cetônicos.

Q: Por que Ann Sulin tem hipertrigliceridemia?

Di Abietes tem diabetes melito insulino-dependente (tipo 1), uma doença associada a uma deficiência ou ausência severa da produção de insulina pelas células β do pâncreas. Um dos efeitos da insulina é estimular a produção de LPL. Devido aos baixos níveis de insulina, **Di Abietes** tende a apresentar níveis baixos dessa enzima. A hidrólise dos triacilgliceróis nos quilomícrons e nas VLDL está diminuída e resulta em hipertrigliceridemia.

é inibida por acil-CoA de cadeia longa. Uma fosfatase estimulada pela insulina ativa a enzima por desfosforilação. A terceira maneira pela qual essa enzima é regulada é por indução: a quantidade da enzima aumenta no estado alimentado.

O malonil-CoA, produto da reação da acetil-CoA-carboxilase, fornece os carbonos para a síntese de palmitato no complexo ácido-graxo-sintase. O malonil-CoA também inibe a carnitina:palmitoiltransferase I (CPTI, também conhecida como carnitina: aciltransferase I), a enzima que prepara o acil-CoA de cadeia longa para o transporte para dentro da mitocôndria (Figura 36.6). No estado alimentado, quando a acetil-CoA-carboxilase está ativa e os níveis de malonil-CoA estão elevados, os ácidos graxos recém-sintetizados são convertidos em triacilgliceróis para armazenamento mais do que são transportados para dentro da mitocôndria para oxidação e formação de corpos cetônicos.

7. COMPLEXO ÁCIDO-GRAXO-SINTASE

Em um indivíduo bem-alimentado, a quantidade do complexo ácido-graxo-sintase está aumentada (ver Figura 36.4). Os genes que produzem esse complexo enzimático são induzidos por aumentos na razão insulina/glucagon. A quantidade do complexo aumenta lentamente após poucos dias de uma dieta rica em carboidratos.

A glicose-6-fosfato-desidrogenase, que gera NADPH na rota da pentose-fosfato, e a enzima málica, que produz NADPH, também estão induzidas pelo aumento da insulina.

O palmitato produzido pelo complexo sintase é convertido em palmitil-CoA e alongado e dessaturado para formar outras moléculas de acil-CoA que são convertidas em triacilgliceróis, os quais são empacotados e secretados para dentro do sangue como VLDL.

B. Mecanismos que Afetam o Destino dos Quilomícrons e VLDL

Os triacilgliceróis das lipoproteínas em quilomícrons e VLDL são hidrolisados a ácidos graxos e glicerol pela lipoproteína-lipase (LPL, do inglês ***lipoprotein lipase***), uma enzima presa às células endoteliais dos capilares no músculo e no tecido adiposo. A enzima encontrada no músculo, particularmente no músculo cardíaco, tem um K_m baixo para essas lipoproteínas sangüíneas, portanto, ela age mesmo quando tais lipoproteínas estão presentes em concentrações muito baixas no sangue. Os ácidos graxos entram nas células musculares e são oxidados para a produção de energia. A enzima encontrada no tecido adiposo tem um K_m maior e está na sua atividade máxima após uma refeição quando os níveis de lipoproteínas no sangue estão elevados.

C. Mecanismos que Afetam o Armazenamento de Triacilgliceróis no Tecido Adiposo

A insulina estimula as células adiposas a sintetizar e secretar a LPL, que hidrolisa os triacilgliceróis do quilomícron e da VLDL. A apoproteína C_{II}, doada aos quilomícrons e à VLDL pela HDL, ativa a LPL (Figura 36.7).

Os ácidos graxos liberados dos quilomícrons e da VLDL pela LPL são armazenados como triacilgliceróis nas células adiposas. O glicerol liberado pela LPL não é utilizado pelas células adiposas, porque elas não possuem a glicerol-quinase, entretanto, pode ser utilizado pelas células hepáticas, pois essas contêm glicerol-quinase. No estado alimentado, as células hepáticas convertem o glicerol à porção glicerol dos triacilgliceróis da VLDL, que é secretada pelo fígado para distribuir os triglicerídeos recém-sintetizados para os tecidos.

A insulina provoca o aumento do número de transportadores de glicose na membrana dos adipócitos. A glicose entra nessas células e é oxidada, produzindo energia e fornecendo o glicerol-3-fosfato para a síntese de triacilglicerol (via o intermediário da glicólise diidroxiacetona-fosfato).

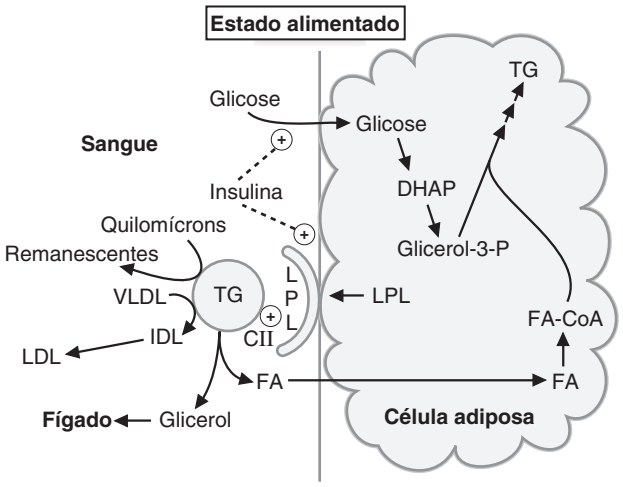


Figura 36.7 Regulação do armazenamento de triacilgliceróis (TG) no tecido adiposo. A insulina estimula a secreção de LPL a partir das células adiposas e o transporte de glicose para dentro dessas células. A $ApoC_{II}$ ativa a LPL. FA = ácidos graxos.

II. REGULAÇÃO DO METABOLISMO DE CARBOIDRATOS E DE LIPÍDEOS DURANTE O JEJUM

A. Mecanismos no Fígado que Servem para Manter os Níveis de Glicose Sangüínea

Durante o jejum, a razão insulina/glucagon diminui. O glicogênio hepático é degradado para produzir glicose sangüínea, pois as enzimas de degradação do glicogênio estão ativadas pela fosforilação direcionada pelo AMPc (Figura 36.8). O glucagon estimula a adenilato-ciclase a produzir AMPc, que ativa a proteína-quinase A. A proteína-quinase A fosforila a fosforilase-quinase, que, então, fosforila e ativa a glicogênio-fosforilase. A proteína-quinase A também fosforila, mas, nesse caso, **in**ativa a glicogênio-sintase.

A gliconeogênese está estimulada porque a síntese da fosfoenolpiruvato-carboxiquinase, da frutose-1,6-bisfosfatase e da glicose-6-fosfatase está induzida e porque há um aumento da disponibilidade de precursores. A frutose-1,6-bisfosfatase também está ativada, pois os níveis do seu inibidor, a frutose-2,6-bisfosfato, estão baixos (Figura 36.9). Durante o jejum, a atividade das enzimas correspondentes da glicólise está diminuída.

B. Mecanismos que Afetam a Lipólise no Tecido Adiposo

Durante o jejum, conforme os níveis sangüíneos de insulina caem e os níveis de glucagon aumentam, o nível de AMPc aumenta nas células adiposas. Conseqüentemente, a proteína-quinase A é ativada e provoca a fosforilação da lipase hormônio-sensível (HSL, do inglês ***h**ormone-**s**ensitive **l**ipase*). A forma fosforilada dessa enzima é ativa e cliva os ácidos graxos dos triacilgliceróis (Figura 36.10). Outros hormônios (p. ex., adrenalina, hormônio adrenocorticotrófico [ACTH, do inglês ***a**drenocortico**t**ropic **h**ormone*], hormônio do crescimento) também ativam essa enzima (ver Capítulo 43). A gliceroneogênese e a ressíntese de triglicerídeos pelo adipócito regulam a taxa de liberação dos ácidos graxos durante o jejum.

C. Mecanismos que Afetam a Produção de Corpos Cetônicos pelo Fígado

Conforme os ácidos graxos são liberados do tecido adiposo durante o jejum, eles vão pelo sangue ligados à albumina. Esses ácidos graxos são oxidados por vários tecidos, particularmente o músculo. No fígado, são transportados para dentro da mitocôndria,

R: **Ann Sulin** tem diabetes melito tipo 2. Ela produz insulina, mas seu tecido adiposo é resistente aos efeitos dessa. Portanto, seu tecido adiposo não produz tanta LPL quanto uma pessoa normal, que é uma das razões por que as VLDL e os quilomícrons permanecem elevados em seu sangue.

Vinte a trinta por cento dos pacientes com insulinoma ganham peso em função de sua síndrome. **Bea Selmass** ganhou 3,6 Kg em seis semanas antes de sua cirurgia. Embora fosse impelida pelos níveis altos de insulina tanto a armazenar quanto a utilizar substrato energético mais eficientemente, ela poderia não ter ganhado peso, se não tivesse consumido mais calorias do que necessitava para gasto energético diário durante sua doença (ver Capítulo 1). Bea consumiu calorias extras na forma de carboidratos, principalmente como doces e açúcar de mesa, para evitar os sintomas da hipoglicemia.

A indução da síntese de enzimas requer a ativação de fatores de transcrição. Um dos fatores que é ativado é a proteína CREB (do inglês ***c**AMP **r**esponse **e**lement **b**inding protein*), a proteína de ligação do elemento de resposta à AMPc. A CREB é fosforilada e ativada pela proteína-quinase AMPc-dependente, a qual é ativada pela estimulação do glucagon ou da adrenalina. Um segundo grupo de fatores de transcrição ativados são as C/EPBs (CCAAT/ proteínas de ligação de amplificadores, do inglês ***C**CAAT/ **e**nhancer **b**inding **p**roteins*), embora a regulação de suas atividades esteja ainda em investigação.

Di Abietes sofre de hiperglicemia porque seus níveis de insulina tendem a ser baixos, e os de glucagon, a ser altos. Suas células musculares e adiposas não captam glicose em uma taxa normal, e ela produz glicose por glicogenólise e gliconeogênese. Como resultado, seus níveis de glicose sangüínea estão elevados.

Ann Sulin está em um estado metabólico similar. Entretanto, nesse caso, ela produz insulina, mas seus tecidos são resistentes às suas ações.

Q: O nível de triacilglicerol sérico de **Ann Sullin** poderia estar elevado?

R: Como o tecido adiposo de indivíduos com diabetes melito tipo 2 é relativamente resistente à inibição da HSL pela insulina e sua estimulação pela LPL, o nível de triacilglicerol sérico de **Ann Sullin** poderia estar elevado pelas mesmas razões que causam a hipertrigliceridemia em **Di Abietes**.

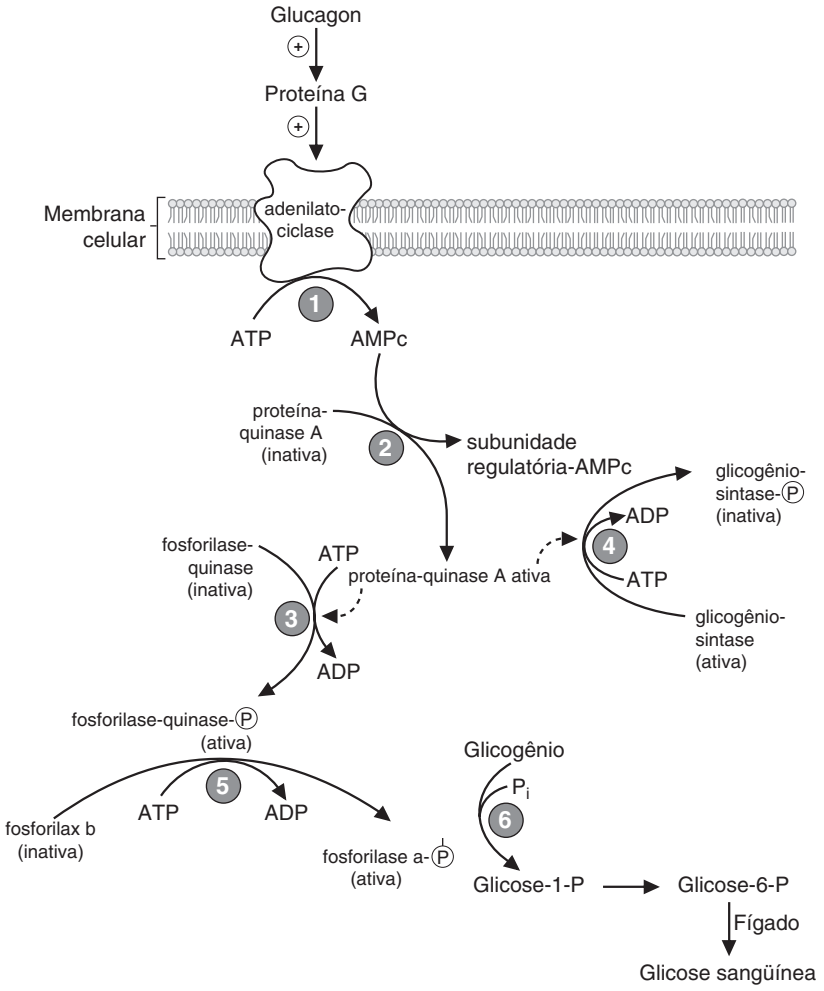


Figura 36.8 Regulação das enzimas de degradação de glicogênio no fígado. 1. O glucagon (ou adrenalina) liga-se ao seu receptor na membrana celular, inicialmente ativando uma proteína G, que ativa a adenilato-ciclase. 2. Conforme os níveis de AMPc aumentam, subunidades inibitórias são removidas da proteína-quinase A, que agora fosforila a fosforilase-quinase (passo 3). 4. A proteína-quinase AMPc-dependente também fosforila a glicogênio-sintase, inativando a enzima. 5. A fosforilase-quinase fosforilada fosforila a glicogênio-fosforilase. 6. A glicogênio-fosforilase fosforilada catalisa a fosforólise do glicogênio, produzindo glicose-1-fosfato. Esses eventos ocorrem durante o jejum e produzem glicose para manter o nível de glicose sangüínea relativamente constante.

A insulina normalmente inibe a lipólise por diminuir a atividade lipolítica da HSL nos adipócitos. Indivíduos como **Di Abietes**, que apresentam deficiência de insulina, têm um aumento na lipólise e um aumento subseqüente na concentração de ácidos graxos livres no sangue. O fígado utiliza alguns desses ácidos graxos para sintetizar triacilgliceróis, que, então, são utilizados na produção hepática de VLDL, a qual não é armazenada no fígado, mas secretada no sangue, aumentando sua concentração sérica. Di também apresenta baixos níveis de LPL devido aos baixos níveis de insulina. Sua hipertrigliceridemia, portanto, é o resultado tanto da superprodução de VLDL pelo fígado quanto da quebra diminuída de triacilglicerol da VLDL para armazenamento nas células adiposas.

O soro começa a parecer turvo quando o nível de triacilglicerol alcança 200 mg/dL. Conforme o nível de triacilglicerol aumenta, o grau de opalescência sérica aumenta proporcionalmente.

pois a acetil-CoA-carboxilase está inativa, os níveis de malonil-CoA estão baixos, e a CPTI (carnitina:aciltransferase I) está ativa (ver Figura 36.6). O acetil-CoA, produzido pela β-oxidação, é convertido em corpos cetônicos. Os corpos cetônicos são utilizados como fonte de energia por muitos tecidos (Tabela 36.1) para poupar o uso de glicose e a necessidade de degradação de proteínas musculares para fornecer os precursores da gliconeogênese. Os altos níveis de acetil-CoA no fígado (derivados da oxidação de gorduras) inibem a piruvato-desidrogenase (que previne que o piruvato seja convertido em acetil-CoA) e ativam a piruvato-carboxilase, que produz oxaloacetato para a gliconeogênese. O oxaloacetato não se condensa com o acetil-CoA para formar citrato por dois motivos. O primeiro é que, sob tais condições (uma taxa alta de oxidação de gorduras nas mitocôndrias hepáticas), os níveis de energia na matriz mitocondrial são altos, isto é, existem altos níveis de NADH e ATP presentes. Os altos níveis de NADH inibem a isocitrato-desidrogenase. Como resultado, o citrato acumula e inibe a citrato-sintase de produzir mais citrato. O segundo motivo para que a síntese de citrato seja

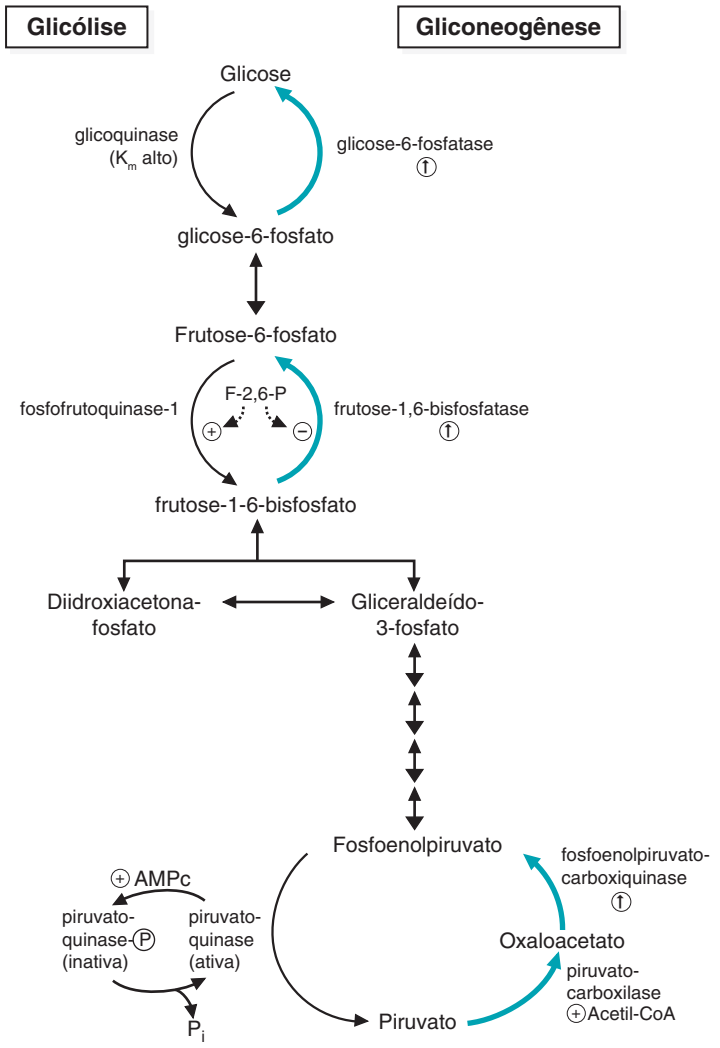


Figura 36.9 Regulação da gliconeogênese e da glicólise durante o jejum. As enzimas gliconeogênicas fosfoenolpiruvato-carboxiquinase, frutose-1,6-bisfosfatase e glicose-6-fosfatase estão induzidas. A frutose-1,6-bisfosfatase também está ativa, pois, durante o jejum, o nível de seu inibidor, a frutose-2,6-bisfosfato, está baixo. As enzimas correspondentes da glicólise não são muito ativas durante o jejum. A taxa da glicoquinase está baixa porque ela tem um K_m alto para a glicose, e a concentração de glicose está baixa. A fosfofrutoquinase-1 não está muito ativa, pois a concentração do seu ativador frutose-2,6-bisfosfato está baixa. A piruvato-quinase está inativada pela fosforilação AMPc-mediada.

Tabela 36.1 Utilização de Substratos Energéticos por Vários Tecidos Durante a Inanição (Jejum)

Tecido	Glicose	Ácidos Graxos	Corpos Cetônicos
Sistema nervoso	++	−	++
Músculo esquelético	−	++	++
Músculo cardíaco	−	++	++
Fígado	−	++	−
Células epiteliais intestinais	−	−	++
Rim	−	+	+

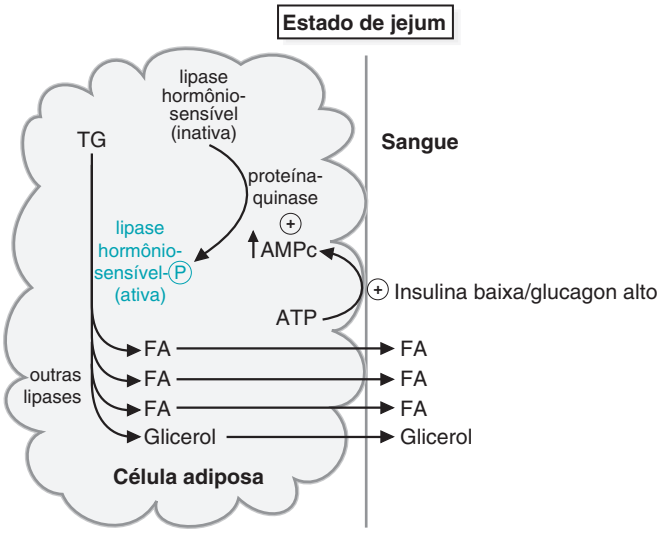


Figura 36.10 Regulação da lipase hormônio-sensível (HSL) no tecido adiposo. Durante o jejum, a razão glucagon/insulina aumenta, fazendo com que os níveis de AMPc sejam elevados. A proteína-quinase A está ativada e fosforila a HSL, ativando essa enzima. A HSL-P inicia a mobilização de triacilglicerol do tecido adiposo pela remoção de um ácido graxo (FA). Outras lipases, então, agem produzindo ácidos graxos e glicerol. A insulina estimula a fosfatase que inativa a HSL no estado alimentado.

deprimida é que a razão $NADH/NAD^+$ alta também desvia o oxaloacetato para malato, de tal forma que o malato pode sair da mitocôndria (via lançadeira malato/aspartato) para o uso na gliconeogênese.

D. Regulação do Uso de Glicose e Ácidos Graxos pelo Músculo

Durante o exercício, o substrato energético que é usado inicialmente pelas células musculares é o glicogênio muscular. Conforme o exercício continua e o suprimento sangüíneo para os tecidos aumenta, a glicose é retirada do sangue e oxidada. A glicogenólise hepática e a gliconeogênese recompõem o suprimento de glicose sangüínea. Entretanto, conforme os níveis de insulina caem, a concentração de transportadores GLUT4 na membrana é reduzida, o que diminui a entrada de glicose da circulação para o músculo.

Assim, conforme os ácidos graxos se tornam disponíveis, devido à lipólise aumentada dos triacilgliceróis do tecido adiposo, o músculo em exercício começa a oxidar ácidos graxos. A β-oxidação produz NADH e acetil-CoA, que diminuem o fluxo de carbono da glicose por meio da reação catalisada pela piruvato-desidrogenase (ver Figura 36.3). Dessa forma, a oxidação dos ácidos graxos provê a principal porção da demanda aumentada de geração de ATP e poupa glicose sangüínea.



Os transportadores GLUT4 do músculo também podem ser induzidos pelos níveis de AMP (ver Capítulo 47) por meio das ações da proteína-quinase AMP-ativada. Assim, se os níveis energéticos estão muito baixos e os níveis de AMP aumentam, a glicose ainda pode ser transportada da circulação para dentro do músculo para fornecer energia. Isso ocorre comumente durante o exercício.

III. A IMPORTÂNCIA DO AMP E DA FRUTOSE-2,6-BISFOSFATO

A mudança entre as rotas catabólicas e anabólicas é freqüentemente regulada pelos níveis de AMP e de frutose-2,6-bisfosfato nas células, particularmente no fígado. É lógico para o AMP ser um regulador crucial. Conforme a célula utiliza ATP nas rotas que requerem energia, os níveis de AMP se acumulam mais rapidamente do que os de ADP, devido à reação da adenilato-quinase (2 ADP → ATP e AMP). O aumento nos níveis de AMP sinaliza, então, que mais energia é necessária (em geral através de sítios de ligação alostéricos nas enzimas e da ativação da proteína-quinase AMP-ativada), e a célula irá mudar no sentido da ativação de rotas catabólicas. Conforme os níveis de

AMP caem e os de ATP se elevam, as rotas anabólicas serão agora ativadas para armazenar o excesso de energia.

Os níveis de frutose-2,6-bisfosfato também são importantes na regulação da glicólise *versus* gliconeogênese no fígado. Sob condições de glicose sangüínea alta e liberação de insulina, os níveis de frutose-2,6-bisfosfato estarão altos porque a PFK-2 estará no seu estado ativado. A frutose-2,6-bisfosfato ativa a PFK-1 e inibe a frutose-2,6-bisfosfatase, permitindo, assim, que a glicólise continue. Quando os níveis de glicose sangüínea estão baixos e o glucagon é liberado, a PFK-2 é fosforilada pela proteína-quinase AMPc-dependente e fica inibida, diminuindo, assim, os níveis de frutose-2,6-bisfosfato e inibindo a glicólise, enquanto favorece a gliconeogênese.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

A irmã mais nova de **Bea Selmass** estava muito preocupada que o tumor pancreático de Bea pudesse ser geneticamente determinado ou potencialmente maligno e, então, acompanhou Bea na sua segunda consulta pós-operatória ao endocrinologista. O médico explicou que os insulinomas podem ser familiares em até 20% dos casos, e que, em 10% dos pacientes com insulinomas, podem ocorrer neoplasias secretoras adicionais na hipófise anterior ou nas glândulas paratireóides (uma síndrome geneticamente determinada conhecida como neoplasia endócrina múltipla tipo I ou, simplesmente, NEM I). O tumor de Bea não mostrou evidência de malignidade, e os cortes histológicos, embora nem sempre definitivos, mostraram um processo de aparência benigna. O médico foi cuidadoso em explicar, contudo, que uma observação cuidadosa para hipoglicemia recorrente e para sinais e sintomas sugestivos de outras facetas de NEM I seria necessária para o resto da vida de Bea e de seus familiares imediatos.

Diabetes melito é um fator de risco bem-aceito para o desenvolvimento de doença arterial coronariana; o risco é três a quatro vezes mais alto na população diabética do que na população não-diabética. Embora os níveis de quilomícrons e VLDL cronicamente elevados possam contribuir para essa predisposição aterogenética, a doença vascular prematura, observada em **Di Abietes** e em outros pacientes com diabetes melito tipo 1, bem como em **Ann Sulin** e em outros pacientes com diabetes melito tipo 2, também está associada a outras anormalidades no metabolismo de lipídeos. Entre essas, estão o aumento na glicação (ligação não-enzimática de moléculas de glicose às proteínas) de apoproteínas da LDL bem como a glicação das proteínas do receptor de LDL, a qual ocorre quando os níveis de glicose sérica estão cronicamente aumentados. Essas glicações interferem na interação normal ou "encaixe" das partículas de LDL circulantes com seus receptores específicos nas membranas celulares. Como conseqüência, a taxa de captação de LDL circulante por células-alvo normais está diminuída. As partículas de LDL, portanto, permanecem na circulação e, finalmente, ligam-se não-especificamente a receptores *scavenger* localizados em macrófagos adjacentes às superfícies endoteliais dos vasos sangüíneos, uma das etapas iniciais no processo de aterogênese.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Todo o material deste capítulo foi apresentado anteriormente. Entretanto, devido à importância dessas informações para o entendimento da bioquímica de maneira a permitir que essa seja utilizada na interpretação de situações clínicas, elas foram resumidas neste capítulo. Além disso, as informações apresentadas previamente no metabolismo de carboidratos foram integradas com o metabolismo de lipídeos. Foram omitidos, na maior parte, o papel de modificadores alostéricos e outros mecanismos de regulação que coordenam bem esses processos em um nível refinado. Como tais detalhes podem ser importantes para situações clínicas específicas, espera-se que esse resumo sirva como estrutura à qual os detalhes possam ser encaixados conforme os estudantes avançarem em seus estudos clínicos.

Como **Di Abietes** produz muito pouca insulina, ela é propensa a desenvolver cetoacidose. Quando os níveis de insulina estão baixos, a HSL do tecido adiposo está muito ativa, resultando no aumento da lipólise. Os ácidos graxos que são liberados vão para o fígado, no qual são convertidos em triacilgliceróis da VLDL. Eles também sofrem β-oxidação e conversão a corpos cetônicos. Se Di não receber insulina exógena ou se seus níveis de insulina diminuírem abruptamente por alguma razão fisiológica, ela pode desenvolver cetoacidose (DKA). De fato, ela teve ataques repetidos de DKA.

Por motivos que não são bem compreendidos, indivíduos com diabetes melito tipo 2, como **Ann Sullin**, não têm a tendência de desenvolver cetoacidose. Uma possível explicação é que a resistência à insulina é tecido-específica; a sensibilidade dos adipócitos à insulina pode ser maior do que aquela do músculo e do fígado. Tal sensibilidade tecido-específica poderia fazer com que menos ácidos graxos fossem liberados dos adipócitos no diabetes tipo 2 do que no diabetes tipo 1, embora em ambos os casos a liberação de ácidos graxos seria maior do que aquela de indivíduos sem a doença.

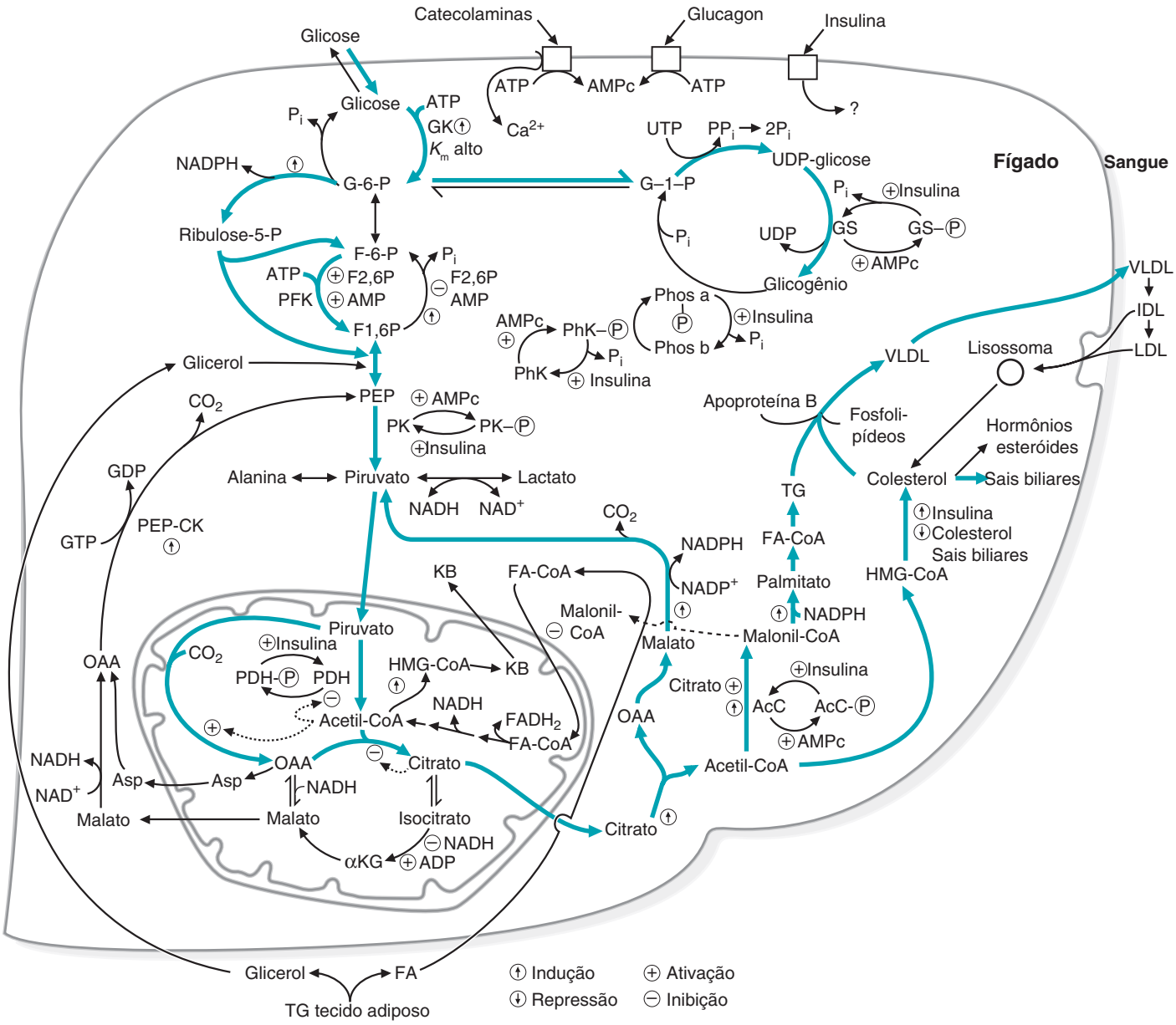


Figura 36.11 Regulação do metabolismo de carboidratos e lipídeos no fígado. Setas em azul indicam o fluxo de metabólitos no estado alimentado; setas em preto indicam o fluxo durante o jejum. G = glicose; GK = glicoquinase; F = frutose; PFK = fosfofrutoquinase-1; PEP = fosfoenolpiruvato; PK = piruvato-quinase; OAA = oxaloacetato; αKG = α-cetoglutarato; GS = glicogênio-sintase; Phos = glicogênio-fosforilase; PhK = fosforilase-quinase; AcC = acetil-CoA-carboxilase; FA = ácido graxo ou grupo acila; TG = triacilglicerol; Ⓟ = grupo fosfato.

A Figura 36.11 é uma figura abrangente, e as Tabelas 36.2 e 36.3 fornecem uma lista das principais enzimas regulatórias do metabolismo de carboidratos e lipídeos no fígado, a ordem de eventos que ocorrem e os mecanismos pelos quais eles são controlados. Essa figura e as tabelas devem ajudar os estudantes a integrar essa grande quantidade de material.

Agora que muitos dos detalhes das rotas foram apresentados, seria interessante retomar os três primeiros capítulos deste livro. Um estudante que entende a bioquímica no contexto do metabolismo de substratos energéticos está em uma posição muito boa para resolver problemas clínicos que envolvam transtornos metabólicos.

Tabela 36.2 Fluxograma de Mudanças no Metabolismo Hepático*

Quando o açúcar sangüíneo aumenta: Insulina é liberada, o que leva a desfosforilação de • PFK-2 (agora ativa) • Piruvato-quinase (agora ativa) • Glicogênio-sintase (agora ativa) • Fosforilase-quinase (agora inativa) • Glicogênio-fosforilase (agora inativa) • Piruvato-desidrogenase (agora ativa) • Acetil-CoA-carboxilase (agora ativa) Que leva a *ativar* • Glicólise • Síntese de ácidos graxos • Síntese de glicogênio	Quando o açúcar sangüíneo diminui: Glucagon é liberado, que leva a fosforilação de • PFK-2 (agora inativa) • Piruvato-quinase (agora inativa) • Glicogênio-sintase (agora inativa) • Fosforilase-quinase (agora ativa) • Glicogênio-fosforilase (agora ativa) • Piruvato-desidrogenase (agora inativa) • Acetil-CoA-carboxilase (agora inativa) Que leva a *ativar* • Gliconeogênese • Oxidação de ácidos graxos • Glicogenólise

*N. de T. No original, as posições da gliconeogênese e da glicogenólise estão invertidas. Optamos por usar as posições acima para melhor evidenciar o contraste entre as rotas metabólicas envolvidas.

Tabela 36.3 Regulação das Enzimas Hepáticas Envolvidas na Síntese e na Degradação de Glicogênio, Glicose Sangüínea e Triacilglicerol

ENZIMAS HEPÁTICAS REGULADAS POR ATIVAÇÃO/INIBIÇÃO		
Enzima	**Ativada por**	**Estado no qual está ativada**
Fosfofrutoquinase-1	Frutose-2,6-bisP, AMP	Alimentado
Piruvato-carboxilase	Acetil-CoA	Alimentado e jejum
Acetil-CoA-carboxilase	Citrato	Alimentado
Carnitina:palmitoiltransferase I	Perda do inibidor (malonil-CoA)	Jejum
ENZIMAS HEPÁTICAS REGULADAS POR FOSFORILAÇÃO/DESFOSFORILAÇÃO		
Enzima	**Forma ativa**	**Estado no qual está ativada**
Glicogênio-sintase	Desfosforilada	Alimentado
Fosforilase-quinase	Fosforilada	Jejum
Glicogênio-fosforilase	Fosforilada	Jejum
Fosfofrutoquinase-2/F-2,6-bisfosfatase (agindo como quinase, aumentando os níveis de frutose-2,6-bisP)	Desfosforilada	Alimentado
Fosfofrutoquinase-2/F-2,6-bisfosfatase (agindo como fosfatase, diminuindo os níveis de frutose-2,6-bisP)	Fosforilada	Jejum
Piruvato-quinase	Desfosforilada	Alimentado
Piruvato-desidrogenase	Desfosforilada	Alimentado
Acetil-CoA-carboxilase	Desfosforilada	Alimentado
ENZIMAS HEPÁTICAS REGULADAS POR INDUÇÃO/REPRESSÃO		
Enzima	**Estado no qual está induzida**	**Processo afetado**
Glicoquinase	Alimentado	Glicose → TG
Citrato-liase	Alimentado	Glicose → TG
Acetil-CoA-carboxilase	Alimentado	Glicose → TG
Ácido graxo-sintase	Alimentado	Glicose → TG
Enzima málica	Alimentado	Produção de NADPH
Glicose-6-fosfato-desidrogenase	Alimentado	Produção de NADPH
Glicose-6-fosfatase	Jejum	Produção de glicose sangüínea
Frutose-1,6-bisfosfatase	Jejum	Produção de glicose sangüínea
Fosfoenolpiruvato-carboxilase	Jejum	Produção de glicose sangüínea

Leituras Sugeridas

Iritani N. Nutritional and hormonal regulation of lipogenic-enzyme gene expression in rat liver. Eur J Biochem 1992:205:433-442.

Jump DB, Clarke SD. Regulation of gene expression by dietary fat. Annu Rev Nutr 1999; 19:63-90.

Klip A, Tsakiridis T, Marette A, Ortiz PA. Regulation of expression of glucose transporters by glucose: a review of studies in vivo and in cell cultures. FASEB J 1994;8:43-53.

Pilkis SJ, Granner DK. Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. Annu Rev Physiol 1992;54:885-909.

Roesler WJ. What is a cAMP response unit? Mol Cell Endocrinol 2000; 162:1-7.

Sugden MC, Holness MJ. Interactive regulation of the pyruvate dehydrogenase complex and the carnitine palmitoyltransferase system. FASEB J 1994;8:54-61.

Vaulont S, Kahn A. Transcriptional control of metabolic regulation genes by carbohydrates. FASEB J 1994:8:28-35.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 36

1. Uma mulher de 20 anos de idade com diabetes melito, em estado de semiconsciência, com febre, náusea e vômitos foi admitida em um hospital. Sua respiração apresentava odor de acetona. Uma amostra de urina foi fortemente positiva para corpos cetônicos. Qual das seguintes afirmações é correta a respeito dessa paciente?

   (A) Um teste de glicose sangüínea provavelmente poderia mostrar que a paciente apresentava um nível bem abaixo de 80 mg/dL.
   (B) Uma injeção de insulina poderia diminuir sua produção de corpos cetônicos.
   (C) Deveria ser-lhe dada uma infusão de glicose para ela re-adquirir a consciência.
   (D) Deveria ser administrado glucagon para estimular a glicogenólise e a gliconeogênese no fígado.
   (E) A acetona foi produzida por descarboxilação do corpo cetônico β-hidroxibutirato.

2. Uma mulher foi orientada por seu médico a fazer uma dieta de baixa gordura. Ela decidiu continuar a consumir o mesmo número de calorias, aumentando sua ingestão de carboidratos enquanto diminuía sua ingestão de gorduras. Qual das seguintes lipoproteínas sangüíneas poderia estar com seus níveis diminuídos como conseqüência de sua dieta?

   (A) VLDL
   (B) IDL
   (C) LDL
   (D) Quilomícrons
   (E) HDL

3. Suponha que um indivíduo tem ingerido diariamente calorias em excesso, de tal forma que irá ganhar peso. Sob quais das seguintes condições essa pessoa poderia ganhar peso mais rapidamente?

   (A) Se todas as calorias em excesso forem de carboidrato.
   (B) Se todas as calorias em excesso forem de triacilglicerol.
   (C) Se todas as calorias em excesso forem divididas 50-50% entre carboidrato e triacilglicerol.
   (D) Se todas as calorias em excesso forem divididas 25-75% entre carboidrato e triacilglicerol.
   (E) Não faz diferença de que forma o excesso de calorias é ingerido.

4. Um alcoólico crônico foi admitido em um hospital devido a um episódio severo de hipoglicemia ocasionado por consumo excessivo de álcool nos últimos cinco dias. Uma análise dos lipídeos sangüíneos indica níveis de VLDL muito mais altos do que o esperado. A VLDL elevada é atribuída a qual das seguintes causas?

   (A) Inibição álcool-induzida da lipoproteína-lipase
   (B) Níveis elevados de NADH no fígado
   (C) Transcrição álcool-induzida do gene da apoB-100

(D) Ativação da fosfoenolpiruvato-carboxiquinase por NADH
(E) Indução de enzimas no retículo endoplasmático por acetaldeído

5. Certos pacientes com abetalipoproteinemia freqüentemente têm dificuldades em manter o volume sangüíneo; eles apresentam dificuldade de coagulação do sangue. Esse sintoma é atribuído a qual das seguintes afirmativas?

(A) Inabilidade de produzir quilomícrons
(B) Inabilidade de produzir VLDL
(C) Inabilidade de sintetizar fatores de coagulação
(D) Inabilidade de sintetizar ácidos graxos
(E) Inabilidade de absorver ácidos graxos de cadeia curta

Esta página foi deixada em branco intencionalmente,

Metabolismo do Nitrogênio

As proteínas da dieta são a fonte principal do nitrogênio metabolizado pelo organismo (Figura 1). Os aminoácidos, produzidos pela digestão das proteínas da dieta, são absorvidos através das células do epitélio intestinal e entram no sangue. Várias células captam tais aminoácidos, os quais entram no *pool* celular. Eles são usados para a síntese de proteínas e outros compostos contendo nitrogênio ou são oxidados para produção de energia.

A síntese protéica, tradução do mRNA nos ribossomas (ver Capítulo 15), é um processo dinâmico. Dentro do organismo, as proteínas estão constantemente sendo sintetizadas e degradadas, drenando parcialmente e, então, reabastecendo o *pool* celular de aminoácidos.

Compostos derivados de aminoácidos incluem proteínas celulares, hormônios, neurotransmissores, creatina-fosfato, o heme da hemoglobina e dos citocromos, a melanina da pele e as bases de purina e pirimidina de nucleotídeos e ácidos nucleicos. De fato, todos os compostos contendo nitrogênio no organismo são sintetizados a partir de aminoácidos. Várias dessas vias são descritas nos próximos capítulos do livro.

Além de servirem como precursores de compostos contendo nitrogênio no organismo e como blocos de construção para a síntese protéica, os aminoácidos também são fonte de energia. Eles são diretamente oxidados ou convertidos em glicose e, então, oxidados ou estocados como glicogênio. Eles também podem ser convertidos em ácidos graxos e estocados como triacilgliceróis do tecido adiposo. O glicogênio e os triacilgliceróis são oxidados durante períodos de jejum. O fígado é o principal sítio de oxidação de aminoácidos, porém a maioria dos tecidos pode oxidar os aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, isoleucina e valina).

Antes de o esqueleto de carbono dos aminoácidos ser oxidado, o nitrogênio deve ser removido. O nitrogênio dos aminoácidos forma amônia, a qual é tóxica para o organismo. No fígado, a amônia e os grupos amino dos aminoácidos são convertidos em uréia, a qual é atóxica, solúvel em água e prontamente excretada na urina. O processo pelo qual a uréia é produzida é conhecido como ciclo da uréia. O fígado é o órgão responsável pela produção da uréia. Os aminoácidos de cadeia ramificada podem ser oxidados em vários tecidos, mas o nitrogênio deve sempre ir até o fígado para sua remoção.

Embora a uréia seja o principal produto de excreção de nitrogênio do organismo, o nitrogênio é também excretado em outros compostos (Tabela 1). O ácido úrico é o produto de degradação das bases púricas, a creatinina é produzida a partir de creatina-

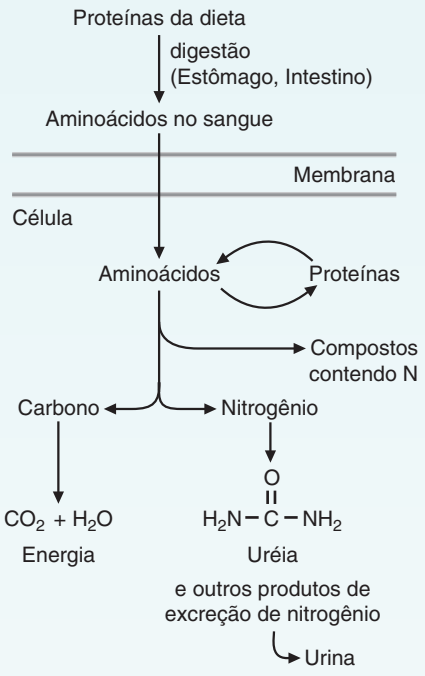


Figura 1 Resumo do metabolismo dos aminoácidos. As proteínas da dieta são digeridas a aminoácidos no estômago e no intestino; esses minoácidos são absorvidos pelo epitélio intestinal e, em seguida, transferidos para a circulação e captados pelas células. Os aminoácidos são utilizados para sintetizar proteínas e outros compostos contendo nitrogênio. Os esqueletos de carbono dos aminoácidos também são oxidados para gerar energia, e o nitrogênio é convertido em uréia e em outros produtos de excreção de nitrogênio.

Tabela 1 Principais Produtos Nitrogenados de Excreção Urinária

	Quantidade Excretada na Urina/Dia [a]
Uréia[b]	12-20 g de nitrogênio da uréia (12.000-20.000 mg)
NH_4^+	140-1.500 mg de nitrogênio da amônia
Creatinina	Homens: 14-26 mg/Kg
	Mulheres: 11-20 mg/Kg
Ácido úrico	250-750 mg

[a] As quantidades estão expressas nas unidades geralmente utilizadas pelos laboratórios clínicos. Observe que as quantidades para creatinina e ácido úrico são para todo o composto, enquanto aquelas para uréia e amônia são para o conteúdo de nitrogênio.

[b] Sob condições normais, aproximadamente 90% do nitrogênio excretado na urina estão na forma de uréia. Contudo, a quantidade exata de cada componente varia dependendo da ingestão de proteína na dieta e do estado fisiológico. Por exemplo, a excreção de NH_4^+ aumenta durante uma acidose, porque o rim elimina a amônia para ligar prótons na urina.

Indivíduos adultos saudáveis estão em balanço de nitrogênio; em outras palavras, a quantidade de nitrogênio excretada a cada dia (principalmente na urina) é igual a quantidade consumida (principalmente como proteínas da dieta). O balanço nitrogenado negativo ocorre quando a quantidade de nitrogênio excretada é maior do que a quantidade consumida, e o balanço nitrogenado positivo ocorre quando a quantidade excretada é menor do que a consumida (ver Capítulo 1).

Tabela 2 Aminoácidos Sintetizados pelo Corpo[a]

A Partir de Glicose	A Partir de Aminoácidos Essenciais
Serina	Tirosina (a partir de fenilalanina)
Glicina	
Cisteína[b]	
Alanina	
Aspartato	
Asparagina	
Glutamato	
Glutamina	
Prolina	
Arginina	

[a] Esses aminoácidos são chamados "não-essenciais" ou "dispensáveis", termos que se referem ao requerimento na dieta. Naturalmente, dentro do corpo, eles são necessários. Não se pode sobreviver sem eles.
[b] Embora os carbonos da cisteína possam ser derivados da glicose, seu enxofre é obtido a partir do aminoácido essencial metionina.

fosfato, e amônia é liberada da glutamina, particularmente pelo rim, no qual auxilia no tamponamento da urina reagindo com prótons para formar íons amônio (NH_4^+). Esses compostos são excretados principalmente na urina, mas uma quantidade substancial também pode ser perdida nas fezes e através da pele. Pequenas quantidades de metabólitos contendo nitrogênio são formadas a partir da degradação de neurotransmissores, hormônios e outros produtos especializados dos aminoácidos e são excretados na urina. Alguns desses produtos de degradação, como a bilirrubina (formada a partir da degradação de heme), são excretados principalmente nas fezes.

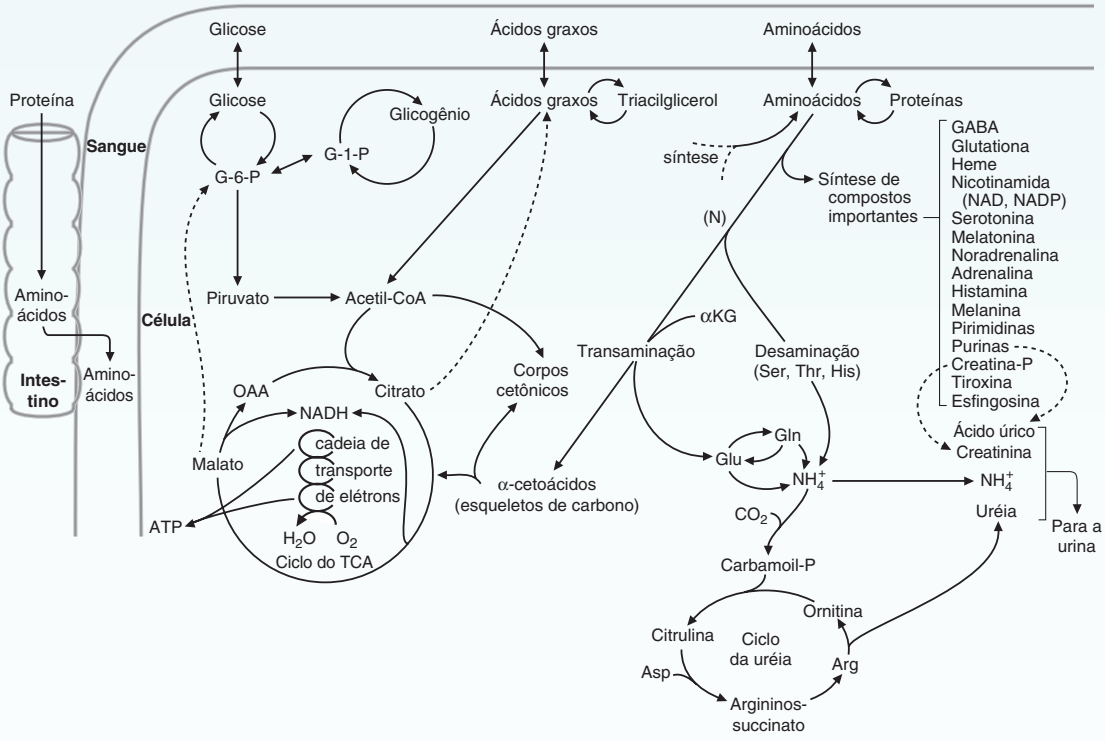


Figura 2 Visão geral do metabolismo do nitrogênio. O metabolismo de compostos contendo nitrogênio é mostrado à direita, e o da glicose e dos ácidos graxos é mostrado à esquerda. A figura mostra uma combinação celular hipotética. Nenhum tipo celular individual possui todas essas vias. Várias das vias mostradas são descritas em alguns dos próximos capítulos. αKG = α-cetoglutarato; OAA = oxaloacetato; G-6-P = glicose-6-fosfato; G-1-P = glicose-1-fosfato.

Onze dos 20 aminoácidos usados para formar proteínas são sintetizados no organismo se uma quantidade adequada não estiver presente na dieta (Tabela 2). Dez desses aminoácidos podem ser produzidos a partir da glicose; o 11º, a tirosina, é sintetizado a partir do aminoácido essencial fenilalanina. Deve-se mencionar que a cisteína, um dos 10 aminoácidos produzidos a partir de glicose, obtém seu átomo de enxofre a partir do aminoácido essencial metionina.

Nove aminoácidos são essenciais nos seres humanos. "Essencial" significa que o esqueleto de carbono não pode ser sintetizado, e, portanto, tais aminoácidos são requeridos na dieta (Tabela 3). Os aminoácidos essenciais também são chamados de aminoácidos indispensáveis. A arginina é essencial durante períodos de crescimento, deixando de ser considerada essencial no adulto.

Após a remoção do nitrogênio dos aminoácidos, os esqueletos de carbono são oxidados (Figura 2). A maior parte dos carbonos é convertida em piruvato, intermediários do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) ou acetil-CoA. No fígado, particularmente durante o jejum, esses carbonos podem ser convertidos em glicose ou em corpos cetônicos e liberados no sangue. Outros tecidos, então, oxidam a glicose e os corpos cetônicos. Finalmente, os carbonos dos aminoácidos são convertidos em CO_2 e água.

Tabela 3 Aminoácidos Essenciais na Dieta

Lisina
Isoleucina
Leucina
Treonina
Valina
Triptofano
Fenilalanina
Metionina
Histidina
Arginina (não-requerida pelo adulto, mas requerida para o crescimento)

Esta página foi deixada em branco intencionalmente,

37 Digestão de Proteínas e Absorção dos Aminoácidos

*As **enzimas proteolíticas** (também chamadas **proteases**) quebram as proteínas da dieta em seus constituintes, os aminoácidos, no **estômago** e no **intestino**. Várias dessas proteases digestivas são sintetizadas como formas inativas maiores, conhecidas como **zimogênios**. Após a secreção dos zimogênios no trato digestivo, eles são clivados para produzir as proteases ativas.*

*No estômago, a **pepsina** inicia a digestão das proteínas hidrolisando-as a polipeptídeos menores. O conteúdo do estômago passa para o intestino delgado, no qual agem as enzimas produzidas pelo pâncreas exócrino. As proteases pancreáticas (**tripsina**, **quimotripsina**, **elastase** e **carboxipeptidases**) clivam os polipeptídeos a oligopeptídeos e aminoácidos.*

*A clivagem adicional dos oligopeptídeos a aminoácidos é realizada por enzimas produzidas pelas células epiteliais do intestino. Tais enzimas incluem **aminopeptidases** localizadas na membrana da borda em escova e outras peptidases localizadas dentro das células. Finalmente, os aminoácidos produzidos pela digestão de proteína são absorvidos através das **células epiteliais do intestino** e entram no **sangue**.*

*Existe um grande número de sobreposições nos sistemas de transporte para aminoácidos nas células. Alguns sistemas contêm **transportadores facilitados**, ao passo que outros expressam **transportadores ligados ao sódio**, os quais permitem o **transporte ativo** de aminoácidos para dentro das células. Defeitos no transporte de aminoácidos podem levar a doenças.*

*Nas células, as proteínas também são continuamente sintetizadas e degradadas (***turnover***). Uma ampla variedade de proteases existe nas células para realizar essa atividade. As **proteases lisossomais** (**catepsinas**) degradam as proteínas que entram nos lisossomas. As proteínas citoplasmáticas destinadas ao* turnover *são ligadas covalentemente a uma pequena proteína, a **ubiquitina**, a qual, então, interage com um grande complexo protéico, o **proteassoma**, para degradar a proteína em um processo dependente de trifosfato de adenosina (ATP). Os aminoácidos liberados das proteínas durante o* turnover *podem ser utilizados para a síntese de novas proteínas ou para a produção de energia.*



SALA DE ESPERA



Sissy Fibrosa, uma criança jovem com fibrose cística, tem apresentado surtos repetidos de bronquite causada por *Pseudomonas aeruginosa*. A cada uma dessas infecções, sua resposta a antibióticos em aerosol tem sido boa. Contudo, ela continua com má absorção de alimentos, resultando em odor fétido, aparência brilhosa e volumosa das fezes. Seu registro de crescimento mostra um lento declínio. Ela está agora no percentil 24 para altura e 20 para peso. Ela freqüentemente está letárgica e irritável e se cansa facilmente. Quando o pediatra descobriu que os níveis das proteínas séricas albumina, transferrina e pré-albumina ligadora de hormônio da tireóide (transtiretina) estavam de baixo a quase normal (indicando desnutrição protéica),

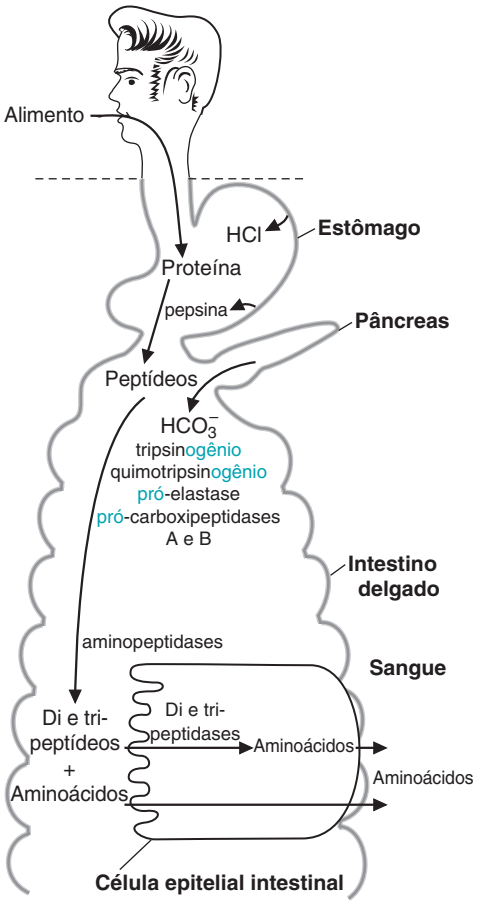


Figura 37.1 Digestão das proteínas. As enzimas proteolíticas pepsina, tripsina, quimotripsina, elastase e carboxipeptidase são produzidas como zimogênios ("pro" e "ogênio" acompanham o nome da enzima), os quais são ativados por clivagem após entrarem no lúmen gastrintestinal (ver Figura 37.2).

Kwashiorkor, um problema comum de crianças nos países do Terceiro Mundo, é causado por uma deficiência de proteína em uma dieta que é adequada em calorias. Crianças com kwashiorkor sofrem de perda muscular e diminuição da concentração de proteínas plasmáticas, particularmente albumina. O resultado é um aumento no fluido intersticial, provocando distensão abdominal e edema, o que faz com que a criança pareça "gordinha" (ver Capítulo 44). A perda muscular é causada pela falta de aminoácidos essenciais na dieta; as proteínas existentes devem ser degradadas para produzir tais aminoácidos para a síntese de novas proteínas.

A esses problemas pode ser acrescida uma menor habilidade para produzir enzimas digestivas e células novas do epitélio intestinal devido a um decréscimo na disponibilidade de aminoácidos para a síntese de novas proteínas.

Sissy passou a receber microesferas entéricas cobertas de enzimas pancreáticas. Quase imediatamente, as características das fezes de Sissy se tornaram mais normais, e ela começou a ganhar peso. Nos seis meses seguintes, sua curva de crescimento melhorou, e ela pareceu mais alerta, mais ativa e menos irritada.

Nos primeiros meses após um episódio doloroso de cólica renal, durante o qual eliminou uma pedra dos rins (ver Capítulo 6), **Cal Kulis** manteve, fielmente, uma ingestão diária rica em líquidos e tomou a medicação necessária para aumentar o pH de sua urina. Como ele tem cistinúria, essas medidas eram necessárias para aumentar a solubilidade das grandes quantidades de cistina presentes em sua urina e, assim, prevenir a formação de mais pedras nos rins (cálculos renais). Com o tempo, contudo, ele se tornou progressivamente complacente com seu programa preventivo. Após não tomar a medicação por um mês, teve outro episódio grave de cólica renal com urina muito sanguinolenta. Felizmente, ele eliminou o cálculo de modo espontâneo e, após, propôs-se a aderir fielmente à terapia.

Sua mãe ouviu que alguns aminoácidos da dieta não eram absorvidos em pacientes com cistinúria e perguntou se alguma alteração na dieta reduziria as chances de Cal desenvolver cálculos renais adicionais.

I. DIGESTÃO DAS PROTEÍNAS

A digestão das proteínas se inicia no estômago e se completa no intestino (Figura 37.1) As enzimas que digerem as proteínas são produzidas como precursores inativos (zimogênios), os quais são maiores do que as enzimas ativas. Os zimogênios inativos são secretados pelas células nas quais são sintetizados e entram no lúmen do trato digestivo, onde são clivados a formas menores que têm atividade proteolítica (Figura 37.2). Essas enzimas ativas têm diferentes especificidades; uma única enzima não pode digerir uma proteína, porém, agindo em conjunto, elas podem digerir as proteínas da dieta a aminoácidos e pequenos peptídeos, os quais são clivados pelas peptidases associadas às células epiteliais do intestino.

A. Digestão das Proteínas no Estômago

O pepsinogênio é secretado pelas células principais do estômago. As células parietais gástricas secretam HCl. O ácido no lúmen do estômago altera a conformação do pep-

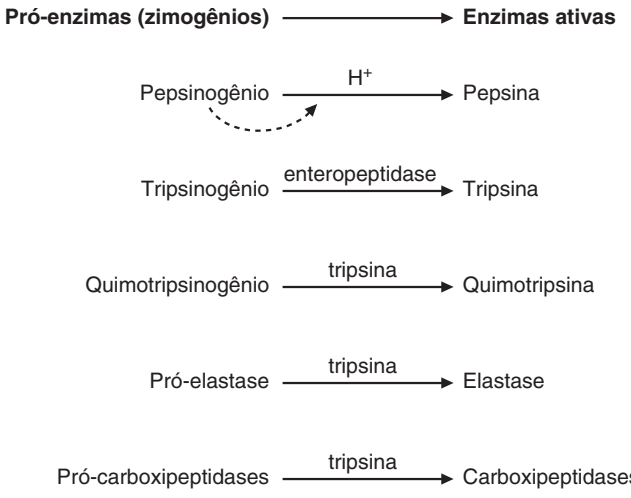


Figura 37.2 Ativação do zimogênio gástrico e dos zimogênios pancreáticos. O pepsinogênio catalisa sua própria clivagem quando o pH do estômago diminui. O tripsinogênio é clivado pela enteropeptidase no intestino para formar a protease ativa tripsina. A tripsina tem, então, um papel central por catalisar a clivagem e a ativação dos outros zimogênios pancreáticos.

sinogênio, que, então, pode clivar a si mesmo, produzindo a protease ativa pepsina. Portanto, a ativação do pepsinogênio é autocatalítica.

As proteínas da dieta são desnaturadas pelo ácido do estômago, o qual serve para inativar as proteínas e desdobrá-las parcialmente, tornando-as melhores substratos para as proteases. Contudo, no pH baixo do estômago, a pepsina não é desnaturada e age como uma endopeptidase, clivando ligações peptídicas em vários pontos dentro da cadeia protéica. Embora a pepsina tenha uma ampla especificidade, ela tende a clivar ligações peptídicas na quais o grupo carboxila é fornecido por aminoácidos aromáticos ou aminoácidos ácidos (Figura 37.3). São produzidos peptídeos menores e alguns aminoácidos.

B. Digestão de Proteínas por Enzimas do Pâncreas

Conforme o conteúdo gástrico é esvaziado para o intestino, ele encontra as secreções do pâncreas exócrino. Uma dessas secreções é o bicarbonato, o qual, além de neutralizar o ácido estomacal, aumenta o pH, de forma que as proteases pancreáticas, as quais também estão presentes nas secreções pancreáticas, possam ficar ativas. Quando secretadas, as proteases pancreáticas estão na forma de pró-enzima inativa (zimogênios). Como as formas ativas dessas enzimas podem digerir umas às outras, é importante que todas as formas zimogênicas se tornem ativas em um curto espaço de tempo. Tal feito é realizado pela clivagem do tripsinogênio à sua forma de enzima ativa tripsina, a qual, então, cliva os outros zimogênios pancreáticos, produzindo suas formas ativas (ver Figura 37.2).

O zimogênio tripsinogênio é clivado para formar tripsina pela enteropeptidase (uma protease, antigamente chamada de enteroquinase) secretada pelas células da borda em escova do intestino delgado. A tripsina catalisa as clivagens que convertem quimotripsinogênio na enzima ativa quimotripsina, a pró-elastase em elastase e as pró-carboxipeptidases em carboxipeptidases. Portanto, a tripsina tem um papel central na digestão, porque ela tanto cliva proteínas da dieta quanto ativa as outras proteases digestivas produzidas pelo pâncreas.

Tripsina, quimotripsina e elastase são serina-proteases (ver Capítulo 9) que agem como endopeptidases. A tripsina é a mais específica dessas enzimas, clivando ligações peptídicas nas quais o grupo carboxila (carbonila) é fornecido por lisina ou arginina (ver Figura 37.3). A quimotripsina é menos específica, mas favorece resíduos que contenham aminoácidos ácidos ou hidrofóbicos. A elastase cliva não somente elastina (pela qual recebeu o seu nome), mas também outras proteínas nas ligações em que o grupo carboxila é doado por resíduos de aminoácidos com cadeias laterais pequenas (alanina, glicina ou serina). As ações dessas endopeptidases pancreáticas dão continuidade à digestão das proteínas da dieta iniciada pela pepsina no estômago.

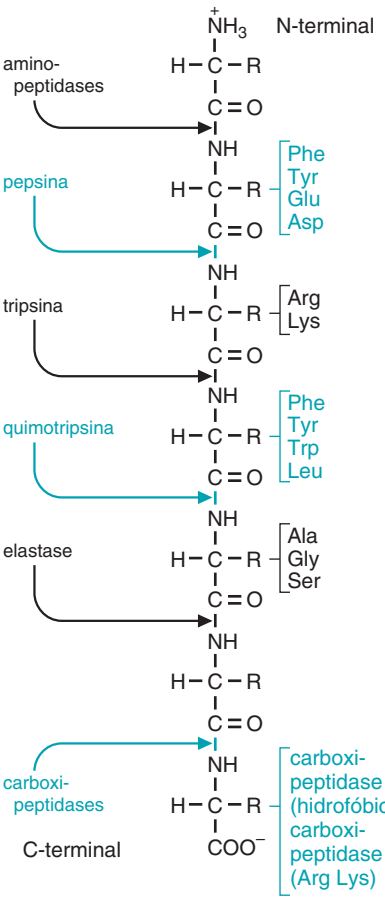


Figura 37.3 Ação das proteases digestivas. Pepsina, tripsina, quimotripsina e elastase são endopeptidases; elas hidrolisam ligações peptídicas no interior das cadeias. As outras são exopeptidases; as aminopeptidases removem o aminoácido N-terminal, e as carboxipeptidases removem o aminoácido C-terminal. Para cada enzima proteolítica, os resíduos de aminoácidos envolvidos na ligação peptídica que é clivada estão listados ao lado do grupo R à direita do nome da enzima.

A elastase também é encontrada nos neutrófilos, os quais são células brancas do sangue que têm o papel de engolfar e destruir bactérias invasoras. Os neutrófilos freqüentemente agem no pulmão, e a elastase é, algumas vezes, liberada dentro do pulmão durante essa ação. Em indivíduos normais, a elastase liberada é impedida de destruir as células do pulmão pela ação da α-1-antitripsina circulante, um inibidor de protease sintetizado e secretado pelo fígado. Certos indivíduos têm uma mutação genética que leva à produção de uma proteína α-1-antitripsina inativa (deficiência de α-1-antitripsina). A falta dessa atividade enzimática leva ao desenvolvimento de enfisema causado pela destruição proteolítica das células do pulmão, o que resulta na redução na capacidade de expansão/contração dos pulmões.

Pacientes com fibrose cística, como **Sissy Fibrosa**, têm um defeito geneticamente determinado na função dos canais de cloreto. Nos ductos secretórios pancreáticos, os quais conduzem as enzimas pancreáticas para o lúmen do intestino delgado, esse defeito causa condensação (dessecamento e espessamento) das secreções exócrinas pancreáticas, conseqüentemente levando à obstrução de tais ductos. O resultado desse problema é a inabilidade das enzimas pancreáticas em entrar no lúmen intestinal para digerir as proteínas da dieta.

Lembre-se de que o pâncreas exócrino, além de secretar zimogênios proteolíticos, também secreta amilase para a digestão do amido e lipase e co-lipase para a digestão de triacilgliceróis da dieta.

O pâncreas sintetiza e estoca os zimogênios em grânulos secretórios. Ele também sintetiza um inibidor da secreção de tripsina, o qual é necessário para bloquear qualquer atividade de tripsina que possa ocorrer da ativação acidental do tripsinogênio. Se o inibidor não estiver presente, a ativação do tripsinogênio poderia levar à ativação de todos os zimogênios no pâncreas, o que poderia levar à digestão das proteínas pancreáticas intracelulares. Tais episódios podem levar à pancreatite.

Os peptídeos menores formados pela ação da tripsina, da quimotripsina e da elastase são atacados por exopeptidases, as quais são proteases que clivam um aminoácido por vez a partir do fim da cadeia. As pró-carboxipeptidases, zimogênios produzidos pelo pâncreas, são convertidas pela tripsina em carboxipeptidases ativas. Essas exopeptidases removem aminoácidos da extremidade carboxiterminal da cadeia peptídica. A carboxipeptidase A libera preferencialmente aminoácidos hidrofóbicos, enquanto a carboxipeptidase B libera aminoácidos básicos (arginina e lisina).

C. Digestão de Proteínas por Enzimas das Células Intestinais

As exopeptidases produzidas pelas células intestinais agem dentro da borda em escova e, também, dentro da célula. As aminopeptidases, localizadas na borda em escova, clivam um aminoácido por vez a partir da extremidade aminoterminal dos peptídeos. As peptidases intracelulares agem em pequenos peptídeos que são absorvidos pelas células.

A ação conjunta das enzimas proteolíticas produzidas pelas células de estômago, pâncreas e intestino cliva as proteínas da dieta a aminoácidos. As enzimas digestivas digerem a si próprias, bem como as proteínas da dieta. Elas também digerem as células intestinais que são regularmente esfoliadas para o lúmen. Essas células são substituídas por células que amadurecem a partir de células precursoras localizadas nas criptas duodenais. A quantidade de proteína que é digerida e absorvida a cada dia dos sucos digestivos e das células liberadas dentro do lúmen intestinal pode ser igual ou maior do que a quantidade de proteína consumida na dieta (50 a 100 g).

II. ABSORÇÃO DOS AMINOÁCIDOS

Os aminoácidos são absorvidos a partir do lúmen intestinal por meio de sistemas de transporte ativo secundário dependente de Na^+ e de difusão facilitada.

A. Co-transporte de Na^+ e Aminoácidos

Os aminoácidos são absorvidos do lúmen do intestino delgado principalmente por proteínas de transporte semi-específicas dependentes de Na^+ na membrana luminal da célula intestinal da borda em escova de forma similar a que foi apresentada para o transporte de carboidratos (Figura 37.4). O co-transporte de Na^+ e aminoácido do lado de fora da membrana apical para o lado de dentro da célula é dirigido pela baixa concentração intracelular de Na^+. Essa resulta do bombeamento do Na^+ para fora da célula pela Na^+,K^+-ATPase na membrana serosa. Portanto, o mecanismo de transporte primário é a criação de um gradiente de sódio; o processo de transporte secundário é o acoplamento do aminoácido ao influxo de sódio. Esse mecanismo permite que as células concentrem aminoácidos a partir do lúmen intestinal. Os aminoácidos são, então, transportados para fora da célula em direção ao fluido intersticial principalmente por transportadores facilitados na membrana serosa (ver Figura 37.4).

No mínimo seis diferentes carreadores de aminoácidos Na^+-dependentes estão localizados na membrana apical da borda em escova das células epiteliais. Esses carreadores apresentam uma sobreposição de especificidades para os diferentes aminoácidos. Um dos carreadores transporta preferencialmente aminoácidos neutros, outro transporta prolina e hidroxiprolina, um terceiro transporta preferencialmente aminoácidos ácidos, e um quarto transporta aminoácidos básicos (lisina, arginina e o intermediário do ciclo da uréia, ornitina) e cistina (dois resíduos de cisteína ligados por ponte dissulfeto). Adicionalmente a esses carreadores Na^+-dependentes, alguns aminoácidos são transportados através da membrana luminal por carreadores de transporte facilitado. A maioria dos aminoácidos é transportada por mais de um sistema de transporte.

Assim como com o transporte de glicose, os carreadores Na^+-dependentes da membrana apical das células do epitélio intestinal também estão presentes no epitélio renal. Entretanto, diferentes isoenzimas estão presentes nas membranas celulares de outros tecidos. Os carreadores de transporte facilitado da membrana serosa do epitélio intestinal são similares àqueles encontrados nesses outros tipos celulares do corpo. Durante o jejum, o epitélio intestinal, assim como outros tipos celulares o fazem, capta aminoácidos do sangue para utilizar como fonte de energia. Desse modo, o transporte de aminoácidos através da membrana serosa é bidirecional.

Q: Por que razão os pacientes com cistinúria e doença de Hartnup têm uma hiperaminoacidúria sem uma hiperaminoacidemia associada?

A **doença de Hartnup** é uma outra doença geneticamente determinada, autossômica recessiva e relativamente rara. Ela é causada por um defeito no transporte de aminoácidos neutros através das células epiteliais intestinais e renais. Os sinais e sintomas são, em parte, causados pela deficiência de aminoácidos essenciais (ver Comentários Clínicos). A cistinúria e a doença de Hartnup envolvem defeitos em duas proteínas de transporte diferentes. Em cada caso, o defeito está presente tanto nas células intestinais, causando má absorção dos aminoácidos dos produtos digestivos no lúmen intestinal, quanto nas células tubulares do rim, causando uma reabsorção diminuída desses aminoácidos do filtrado glomerular.

Traços (pequeníssimas quantidades) de polipeptídeos passam para o sangue. Eles podem ser transportados através das células do epitélio intestinal, provavelmente por pinocitose, ou passar entre as células que revestem a parede do intestino. Esse processo é um problema particularmente em bebês prematuros, pois pode levar a alergias causadas por proteínas do seu alimento.

Tabela 37.1 Lista Parcial de Sistemas de Transporte de Aminoácidos[a]

Nome do Sistema	Sódio-Dependente?	Especificidade	Expressão Tecidual
A	Sim	Aminoácidos pequenos (ala, ser, gln)	Vários
ASC	Sim	Aminoácidos pequenos (ala, ser, cys)	Vários
N	Sim	Gln, asn, his	Fígado
L	Não	Aminoácidos ramificados e aromáticos	Vários
$B^{0,+}$	Sim	Aminoácidos básicos	Intestino (borda em escova)[b]
ATB^0	Sim	Aminoácidos na forma de zwitterion (aminoácidos monoamino-monocarboxílicos)	Intestino e rim[c]
X_{AG}^-	Sim	Aminoácidos aniônicos	Intestino (borda em escova)
Imino	Sim	Pro, hypro, gly	Intestino (borda em escova)

[a]Nem todos os sistemas de transporte estão listados.
[b]Esse sistema é o que, mais provavelmente, está defeituoso na cistinúria.
[c]Esse sistema é o que, mais provavelmente, está defeituoso na doença de Hartnup.

B. Transporte de Aminoácidos para Dentro das Células

Os aminoácidos que entram no sangue são transportados através das membranas celulares dos vários tecidos principalmente por co-transportadores Na^+-dependentes e, em menor extensão, por transportadores facilitados (Tabela 37.1). Nesse aspecto, o transporte de aminoácidos difere do transporte de glicose, o qual é Na^+-dependente nos epitélios intestinal e renal, mas transporte facilitado nos outros tipos celulares. A dependência de Na^+ do transporte de aminoácidos no fígado, no músculo e em outros tecidos permite que as células desses tecidos concentrem aminoácidos do sangue. As proteínas de transporte têm diferente base genética e composição de aminoácidos e especificidade um pouco diferentes daquelas da membrana luminal do epitélio intestinal. Elas também apresentam algumas diferenças entre os tecidos. Por exemplo, o sistema N para a captação de glutamina está presente no fígado, mas não está presente em nenhum outro tecido ou está presente como uma isoforma com propriedades diferentes. Há também alguma sobreposição na especificidade das proteínas transportadoras, com a maioria dos aminoácidos sendo transportados por mais de um carreador.

III. *TURNOVER* PROTÉICO E REABASTECIMENTO DO *POOL* INTRACELULAR DE AMINOÁCIDOS

O *pool* de aminoácidos dentro das células é gerado tanto pelos aminoácidos da dieta quanto pela degradação das proteínas existentes dentro da célula. Todas as proteínas dentro da célula têm uma meia-vida ($t_{1/2}$), que é o tempo no qual 50% das proteínas que foram sintetizadas, em um tempo específico, deverão ser degradadas. Algumas proteínas têm inerentemente vida curta, com meias-vidas de 5 a 20 minutos. Outras proteínas estão presentes por longos períodos, com meias-vidas de várias horas ou mesmo dias.



Cal Kulis e outros pacientes com cistinúria têm um defeito geneticamente determinado no transporte de cistina e de aminoácidos básicos – lisina, arginina e ornitina – através da membrana da borda em escova das células do intestino delgado e dos túbulos renais. Entretanto, eles não manifestam nenhum sintoma de deficiência de aminoácidos, em parte porque a cisteína (a qual é oxidada no sangue e na urina para formar a cistina dissulfeto) e a arginina podem ser sintetizadas pelo corpo (isto é, são aminoácidos não-essenciais). A ornitina (um aminoácido que não é encontrado nas proteínas, mas serve como um intermediário do ciclo da uréia) também pode ser sintetizada. O problema mais grave desses pacientes está na insolubilidade da cistina, a qual pode formar pedras nos rins que podem se alojar no ureter causando sangramentos e fortes dores.



Pacientes com cistinúria e doença de Hartnup possuem proteínas de transporte defeituosas tanto no intestino quanto no rim. Tais pacientes não absorvem os aminoácidos envolvidos dos produtos digestivos no lúmen intestinal em uma velocidade normal. Eles também não podem reabsorver prontamente esses aminoácidos do filtrado glomerular para o sangue. Por isso, eles não têm hiperaminoacidemia (uma alta concentração de aminoácidos no sangue). Normalmente, somente uma pequena porcentagem dos aminoácidos que entram no filtrado glomerular são excretados na urina; a maior parte é reabsorvida. Nessas doenças, uma quantidade muito maior dos aminoácidos afetados é excretada na urina, resultando na hiperaminoacidúria.

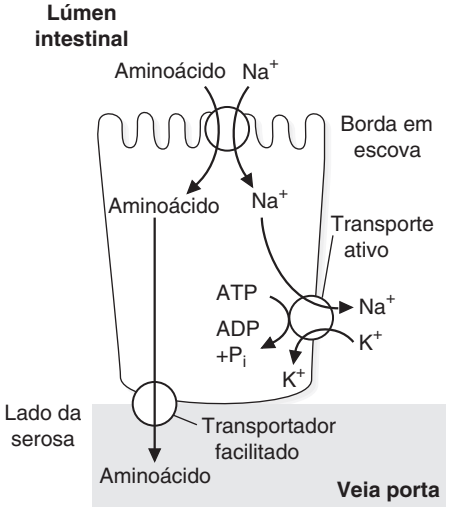


Figura 37.4 Transporte transepitelial de aminoácidos. Carreadores Na^+-dependentes transportam Na^+ e um aminoácido para dentro da célula epitelial intestinal a partir do lúmen do intestino. O Na^+ é bombeado para fora no lado da serosa (através da membrana basolateral) na troca por K^+ pela Na^+,K^+-ATPase. No lado da serosa, o aminoácido é transportado por transporte facilitado a favor do seu gradiente de concentração para o sangue. Esse processo é um exemplo de transporte ativo secundário.

O *turnover* protéico é bastante amplo. Por exemplo, as células vermelhas do sangue têm um tempo de vida de 120 dias. Todos os dias, 3×10^{11} (300 bilhões) de células vermelhas do sangue morrem e são fagocitadas. A hemoglobina dessas células é degradada a aminoácidos por proteases lisossomais, e esses aminoácidos são reutilizados. Cerca de 2,7 kg de hemoglobina são reciclados nessa via todos os anos. Conforme as células velhas vão morrendo, os novos reticulócitos gerados vão sintetizando hemoglobina na sua fase preparatória de conversão a novas células vermelhas do sangue, as quais substituem as células mortas.

Adultos não podem aumentar a quantidade de músculo ou de outras proteínas corporais simplesmente ingerindo uma quantidade excessiva de proteína. Se a proteína da dieta é consumida em excesso às necessidades do corpo, ela é convertida em glicogênio e triacilgliceróis, os quais são, então, estocados.

Portanto, as proteínas estão continuamente sendo sintetizadas e degradadas no corpo, utilizando uma variedade de sistemas enzimáticos nesse sentido (Tabela 37.2). Exemplos de proteínas que são submetidas a síntese e degradação amplas são a hemoglobina, as proteínas musculares, as enzimas digestivas e as proteínas das células esfoliadas do trato gastrintestinal. A hemoglobina é produzida nos reticulócitos e reconvertida em aminoácidos pelas células fagocíticas que removem as células vermelhas sangüíneas maduras da circulação diariamente. A proteína muscular é degradada durante os períodos de jejum, e os aminoácidos são utilizados para a gliconeogênese. Após a ingestão de proteína na dieta, a proteína muscular é ressintetizada.

Uma grande quantidade de proteína é reciclada diariamente na forma de enzimas digestivas, as quais são degradadas por enzimas digestivas. Além disso, cerca de um quarto das células que revestem as paredes do trato gastrintestinal é perdido a cada dia e substituído por células novamente sintetizadas. Conforme as células deixam a parede gastrintestinal, suas proteínas e outros componentes são digeridos por enzimas no lúmen do intestino, e os produtos são absorvidos. Cerca de apenas 6% (de modo geral, 10 g) da proteína que entra no trato digestivo (incluindo proteínas da dieta, enzimas digestivas e proteínas das células esfoliadas) são excretados nas fezes a cada dia; o restante é reciclado.

As proteínas também são recicladas dentro das células. As diferenças na composição de aminoácidos das várias proteínas do corpo, a ampla variação nos tempos de *turnover* ($t_{1/2}$) e a reciclagem de aminoácidos são fatores importantes que ajudam a determinar os requerimentos por aminoácidos específicos e o total de proteína na dieta. A síntese de várias enzimas é induzida em resposta à demanda fisiológica (tais como os estados de jejum ou alimentado). Essas enzimas estão continuamente sendo degradadas. As proteínas intracelulares também são danificadas por oxidação e por outras modificações que limitam sua função. Os mecanismos para degradação intracelular de proteínas desnecessárias ou danificadas envolvem os lisossomas ou o sistema ubiquitina/proteassoma.

A. *Turnover* Protéico Lisossomal

Os lisossomas participam nos processos de autofagia, no qual componentes intracelulares são envolvidos por membranas que se fundem com lisossomas, e de endocitose (ver Capítulo 10). A autofagia é um processo regulado complexo, no qual o citoplasma é seqüestrado para dentro de vesículas e entregue para os lisossomas. Dentro dos lisossomas, as proteases da família das catepsinas degradam as proteínas ingeridas a aminoácidos livres. Os aminoácidos reciclados podem, então, deixar os lisossomas e reingressar no *pool* de aminoácidos intracelular. Embora os detalhes de como a autofagia é induzida sejam ainda desconhecidos, a inanição da célula é um gatilho para induzir esse processo. Isso permitirá que proteínas velhas sejam recicladas e que os aminoácidos novamente liberados sejam utilizados para a síntese de novas proteínas, permitindo à célula sobreviver em condições de inanição.

Tabela 37.2 Proteases Envolvidas no *Turnover*/Degradação das Proteínas

Classificação	Mecanismo	Papel
Catepsinas	Cisteína-proteases	Enzimas lisossomais
Caspases	Cisteína-proteases, as quais clivam após o aspartato	Apoptose; ativadas a partir de pró-caspases (ver Capítulo 18)
Metaloproteinases da matriz	Requerem zinco para a catálise	Modelam os componentes da matriz extracelular; reguladas por TIMPs (inibidores teciduais das metaloproteinases da matriz; do inglês, ***t****issue* ***i****nhibitors of matrix* ***m****etallo****p****roteinases*)
Proteassoma	Complexo grande que degrada proteínas marcadas por ubiquitina	*Turnouver* protéico
Serina-proteases	Sítio ativo com serina na tríade catalítica com a histidina e o ácido aspártico	Digestão e coagulação sangüínea; ativadas geralmente a partir de zimogênios (ver Capítulo 45)
Calpaínas	Cisteína-proteases cálcio-dependentes	Vários papéis celulares diferentes

B. A Via Ubiquitina-Proteassoma

A ubiquitina é uma proteína pequena (76 aminoácidos) que é altamente conservada. Sua seqüência de aminoácidos na bactéria e nos seres humanos difere em somente três resíduos. A ubiquitina marca proteínas intracelulares para a degradação por ligação covalente a grupos ε-amino de resíduos de lisina. Esse processo é realizado por um sistema de três enzimas que adicionam a ubiquitina às proteínas-alvo para a degradação. Muitas vezes, a proteína-alvo é poliubiquitinilada, ou seja, moléculas adicionais de ubiquitina são ligadas a moléculas de ubiquitina prévias, formando longas cadeias de ubiquitina na proteína-alvo. Após a poliubiquitinilação estar completa, a proteína-alvo é liberada do complexo trienzimático.

Então, um complexo proteolítico conhecido como proteassoma degrada a proteína marcada, liberando a ubiquitina intacta que pode novamente marcar outras proteínas para degradação (Figura 37.5). O proteassoma básico é um complexo protéico 20S cilíndrico com múltiplos sítios proteolíticos internos. A hidrólise de ATP é utilizada tanto para desdobrar a proteína marcada quanto para impeli-la para o interior do cilindro. O complexo 20S é regulado por complexos de proteínas cap, os quais se ligam a proteínas ubiquitiniladas (passo que requer ATP) e as entregam ao complexo 20S. Depois que a proteína-alvo é degradada, a ubiquitina é liberada intacta e reciclada. Os aminoácidos resultantes juntam-se ao *pool* intracelular de aminoácidos livres. Diferentes complexos cap alteram a especificidade dos proteassomas. Por exemplo, o cap PA700 é requerido por proteínas ubiquitiniladas, enquanto o cap PA28 marca somente pequenos peptídeos para o complexo.

Uma outra modificação protéica, que ocorre por meio de um complexo de três enzimas semelhante àquele requerido para a adição de ubiquitina, é a SUMOilação. SUMO significa modificador tipo-ubiquitina pequeno (do inglês, ***s**mall **u**biquitin-like **mo**difier*), e, quando as proteínas são marcadas com SUMO, suas atividades são alteradas (positiva ou negativamente, dependendo da proteína). A SUMOilação representa ainda uma outra forma de regulação fina dos sistemas de regulação existentes.

Várias proteínas que contêm regiões ricas nos aminoácidos prolina (P), glutamato (E), serina (S) e treonina (T) têm meias-vidas curtas. Essas regiões são conhecidas como seqüências PEST, com base em abreviações de uma letra dos nomes desses aminoácidos. A maioria das proteínas que contêm seqüências PEST é hidrolisada pelo sistema proteassoma-ubiquitina.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

As curvas de crescimento e peso de **Sissy Fibrosa** estavam abaixo do normal até seu pediatra adicionar suplementos de enzima pancreática ao plano de tratamento. Tais suplementos digerem as proteínas da dieta, liberando dessas aminoácidos essenciais e outros, que são, então, absorvidos pelas células endoteliais do intestino delgado de Sissy, através das quais eles são transportados para o sangue. Uma melhora notável nas curvas de peso e crescimento corporal de Sissy foi observada em poucos meses após o início dessa terapia.

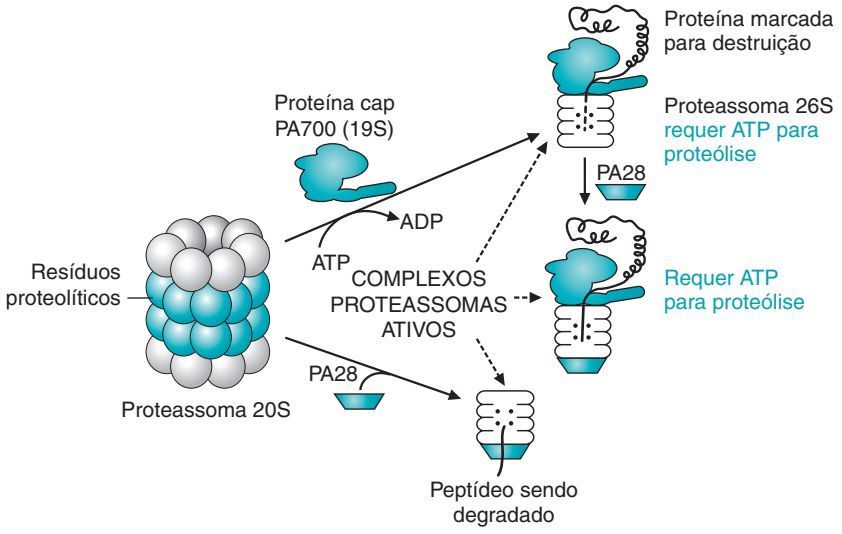


Figura 37.5 O proteassoma e as proteínas cap. As proteínas cap (PA700 e PA28) regulam a atividade desse complexo proteolítico pelo recrutamento para o complexo dos substratos para proteólise. O ATP é requerido para o desdobramento e a desnaturação da proteína marcada para destruição, embora o complexo da protease PA28 não necessite de ATP.

Além da proporção dos aminoácidos essenciais presentes em vários alimentos, a qualidade das proteínas da dieta também é determinada pela velocidade com a qual elas são digeridas e, de uma maneira mais geral, por sua capacidade de contribuir para o crescimento da criança. Nesse aspecto, as proteínas em alimentos de origem animal são mais digeríveis do que aquelas derivadas de plantas. Por exemplo, a digestibilidade das proteínas dos ovos é aproximadamente 97%, a da carne bovina, do frango e do peixe é de 85 a 100%, e a do trigo, da soja e de outros legumes varia de 75 a 90%.

A "necessidade protéica" dietética diária oficial aceita pelos governos dos EUA e do Canadá é 0,8 g de proteína por quilograma de peso corporal ideal para adultos (aproximadamente 56 g para um homem adulto e 44 g para uma mulher adulta). Em média de peso, a necessidade por quilograma é muito maior para bebês e crianças. Esse fato destaca a importância de melhorar a digestão protéica de **Sissy Fibrosa** para otimizar seu potencial de crescimento e desenvolvimento normal.



Em pacientes com cistinúria, tais como **Cal Kulis**, seria de se esperar que a incapacidade para a absorção normal de cistina e aminoácidos básicos do intestino e a perda aumentada de tais aminoácidos na urina causassem uma deficiência desses compostos no sangue. Contudo, como três desses aminoácidos podem ser sintetizados pelo corpo (isto é, eles são aminoácidos não-essenciais), suas concentrações no plasma permanecem normais, e não se desenvolvem manifestações clínicas de deficiência. Não está claro por que sintomas relacionados a uma deficiência de lisina não foram observados.

No distúrbio que foi observado pela primeira vez na família Hartnup, e que tem o seu nome, o defeito de transporte intestinal e renal envolve os aminoácidos neutros (ácidos monoamino-monocarboxílicos), incluindo um grande número de aminoácidos essenciais (isoleucina, leucina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina), bem como certos aminoácidos não-essenciais (alanina, serina e tirosina). Seria de se esperar que uma redução na disponibilidade desses aminoácidos essenciais causasse uma variedade de distúrbios clínicos. Todavia, crianças com o distúrbio de Hartnup identificadas por *screening* (rastreamento) neonatal de rotina em urina quase sempre se mantêm clinicamente normais.

Contudo, alguns pacientes com fenótipo bioquímico de Hartnup mais tarde desenvolverão manifestações semelhantes à pelagra, as quais, em geral, incluem *rash* por fotossensibilidade, ataxia e sintomas neuropsiquiátricos. A pelagra resulta da deficiência dietética da vitamina niacina ou do aminoácido essencial triptofano, os quais são, ambos, precursores da porção nicotinamida de NAD e NADP. Em pacientes assintomáticos, a anormalidade de transporte pode ser incompleta e tão sutil de modo a não permitir a expressão fenotípica de doença de Hartnup. Esses pacientes também podem ser capazes de absorver alguns peptídeos pequenos que contêm os aminoácidos neutros.

O único tratamento racional para pacientes com sintomas semelhantes à pelagra é a administração de niacina (ácido nicotínico) em doses orais de até 300 mg/dia. Embora o *rash*, a ataxia e as manifestações neuropsiquiátricas de deficiência de niacina possam desaparecer, a hiperaminoacidúria e o defeito de transporte intestinal não respondem a essa terapia. Além de niacina, uma dieta rica em proteínas pode beneficiar alguns pacientes.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



O ciclo do γ-glutamil é necessário para a síntese de glutationa, um composto que protege a célula do dano oxidativo (ver Capítulo 24). Quando descoberto, acreditou-se que o ciclo fosse importante no transporte de aminoácidos, mas atualmente acredita-se que sua importância seja limitada à salvação da cisteína. As enzimas do ciclo estão presentes em vários tecidos, embora em alguns deles falte uma ou mais dessas enzimas.

O ciclo completo é apresentado na Figura 37.6. Nesse caso, o aminoácido extracelular reage com a glutationa (γ-glutamil-cisteinil-glicina) em uma reação catalisada

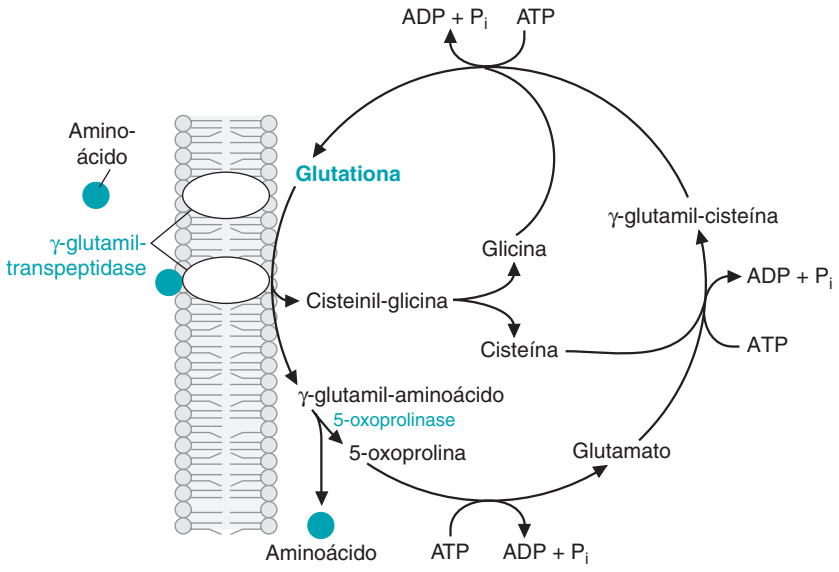


Figura 37.6 Ciclo do γ-glutamil. Nas células do intestino e do rim, os aminoácidos podem ser transportados através da membrana celular por reação com a glutationa (γ-glutamil-cisteinil-glicina) para formar γ-glutamil-aminoácido. O aminoácido é liberado dentro da célula, e a glutationa é ressintetizada. Entretanto, o principal papel desse ciclo é sintetizar glutationa, pois muitos tecidos não possuem as atividades de transpeptidase e 5-oxoprolinase.

por uma transpeptidase presente na membrana da célula. Um γ-glutamil-aminoácido é formado, o qual atravessa a membrana celular e libera o aminoácido dentro da célula. Os outros produtos dessas duas reações são convertidos em glutationa.

As reações que convertem glutamato em glutationa pelo ciclo do γ-glutamil são as mesmas reações requeridas para a síntese de glutationa. As enzimas para a síntese de glutationa, com exceção da transpeptidase, são encontradas na grande maioria dos tecidos. A oxoprolinase também está ausente em vários tecidos, de forma que o principal papel dessa via é a síntese de glutationa a partir de glutamato, cisteína e glicina. A transpeptidase é a única protease na célula que pode quebrar a ligação γ-glutamil da glutationa. A glutationa também está envolvida na redução de compostos tais como peróxido de hidrogênio (ver Capítulo 21). Ela também protege as células, em particular os eritrócitos, do dano oxidativo por meio da formação de glutationa oxidada, quando dois resíduos de glutationa se conectam por ponte dissulfeto.

Leituras Sugeridas

Argiles JF, Lopez-Soriano FJ. Intestinal amino acid transport: an overview. Int J Biochem 1990;22:931-939.

Christensen HN. Role of amino acid transport and countertransport in nutrition and metabolism. Physiol Rev 1990;70:43-77.

Demartino GN, Slaughter CA. The proteasome, a novel protease regulated by multiple mechanisms. J Biol Chem 1999;274:22123-22126.

Larrson A, Anderson ME. Glutathione synthetase deficiency and other disorders of the γ-glutamyl cycle. In: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, Sly WS, et al., eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, vol II, 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:2205-2216.

Palacin M, Estevez R, Bertran J, Zorzano A. Molecular biology of mammalian plasma membrane amino acid transporters. Physiol Rev 1998;78:969-1054.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 37

1. Espera-se que ocorra um maior prejuízo na digestão de proteínas em um indivíduo com deficiência na conversão de tripsinogênio em tripsina do que em um outro que tenha um defeito em qualquer outra protease digestiva. Isso pode ser devido a qual das seguintes afirmativas?

   (A) A tripsina tem a maior e a mais ampla faixa de substratos nos quais age.
   (B) A tripsina ativa o pepsinogênio, portanto a digestão pode iniciar no estômago.
   (C) A tripsina ativa os outros zimogênios que são secretados pelo pâncreas.
   (D) A tripsina ativa a enteropeptidase, a qual é necessária para ativar os outros zimogênios pancreáticos.
   (E) A tripsina inibe a motilidade intestinal, e, desse modo, os substratos podem ser hidrolisados por períodos mais longos.

2. Em um indivíduo, foi demonstrado que havia, na célula epitelial intestinal, uma deficiência no sistema de transporte de aminoácidos para leucina. Entretanto, ele não apresentou sintomas de deficiência desse aminoácido. Isso pode ser devido a qual das seguintes afirmativas?

   (A) O corpo sintetiza leucina para compensar o defeito no transporte.
   (B) O rim reabsorve a leucina e a envia para os outros tecidos.
   (C) Há múltiplos sistemas de transporte para leucina.
   (D) A isoleucina toma o lugar da leucina nas proteínas.
   (E) A leucina não é necessária para a síntese protéica.

3. O kwashiorkor pode resultar de qual das seguintes afirmativas?

   (A) Consumo de uma dieta deficiente em calorias que também seja deficiente em proteínas.
   (B) Consumo de uma dieta adequada em calorias que seja deficiente em carboidratos.
   (C) Consumo de uma dieta adequada em calorias que seja deficiente em ácidos graxos.
   (D) Consumo de uma dieta adequada em calorias que seja deficiente em proteínas.
   (E) Consumo de uma dieta deficiente em calorias, cuja deficiência seja principalmente protéica.

4. Qual das seguintes enzimas é ativada por meio de um processo autocatalítico?

   (A) Enteropeptidase
   (B) Tripsinogênio
   (C) Pepsinogênio
   (D) Aminopeptidase
   (E) Pró-elastase

5. Crianças com kwashiorkor geralmente apresentam fígado gorduroso. Isso se deve a qual das afirmativas?

   (A) O alto conteúdo de gordura de sua dieta
   (B) O alto conteúdo de carboidrato de sua dieta
   (C) O alto conteúdo de proteína de sua dieta
   (D) A falta de substratos para gliconeogênese no fígado
   (E) A falta de substratos para síntese protéica no fígado
   (F) A falta de substratos para síntese de glicogênio no fígado

38 Destino do Nitrogênio dos Aminoácidos: Ciclo da Uréia

Em comparação com o metabolismo dos carboidratos e dos lipídeos, o metabolismo dos aminoácidos é complexo. Devemos nos preocupar não somente com o destino dos átomos de carbono dos aminoácidos, mas também com o destino do ***nitrogênio****. Durante o seu metabolismo, os aminoácidos vão de um tecido para o outro pelo sangue. Finalmente, a maior parte do nitrogênio é convertida em* ***uréia*** *no* ***fígado****, e os carbonos são oxidados a* CO_2 *e* H_2O *por vários tecidos (Figura 38.1).*

Após uma refeição que contenha proteínas, os aminoácidos liberados pela digestão (ver Capítulo 37) passam do intestino para o fígado através da veia porta hepática (ver Figura 38.2A). Em uma dieta normal contendo de 60 a 100 g de proteína, a maior parte dos aminoácidos é usada para a síntese protéica no fígado e em outros tecidos. O excesso de aminoácidos pode ser convertido em glicose ou triacilgliceróis.

Durante o jejum, a proteína muscular é clivada a aminoácidos. Alguns desses aminoácidos são parcialmente oxidados para produzir energia (ver Figura 38.2B). Uma parte desses aminoácidos é convertida em ***alanina*** *e* ***glutamina****, os quais, juntamente com outros aminoácidos, são liberados no sangue. A glutamina é oxidada por vários tecidos, incluindo os* ***linfócitos****, o* ***intestino*** *e o* ***rim****, os quais convertem alguns dos carbonos e o nitrogênio em alanina. A alanina e outros aminoácidos vão para o fígado, onde os carbonos são convertidos em glicose e corpos cetônicos e o nitrogênio é convertido em uréia, a qual é excretada pelos rins. A glicose produzida pela gliconeogênese é subseqüentemente oxidada a* CO_2 *e* H_2O *por vários tecidos, e os corpos cetônicos são oxidados por tecidos como o músculo e o rim.*

Várias enzimas são importantes no processo de interconversão de aminoácidos e na remoção do nitrogênio, de modo que os esqueletos de carbono possam ser oxidados. Essas incluem ***desidratases****,* ***transaminases****,* ***glutamato-desidrogenase****,* ***glutaminase*** *e* ***desaminases****.*

A conversão do nitrogênio dos aminoácidos em uréia ocorre, principalmente, no fígado. A uréia é formada no ciclo da uréia a partir de NH_4^+*, bicarbonato e do nitrogênio do* ***aspartato*** *(ver Figura 38.1). Inicialmente,* NH_4^+*, bicarbonato e ATP reagem para produzir* ***carbamoil-fosfato****, o qual reage com a* ***ornitina*** *para formar* ***citrulina****. O aspartato, então, reage com a citrulina para formar* ***argininossuccinato****, o qual libera* ***fumarato****, formando* ***arginina****. Finalmente, a* ***arginase*** *cliva a arginina para liberar uréia e regenerar a ornitina. O ciclo é regulado de maneira* **feed-forward***, de tal forma que, quando a degradação de aminoácidos está ocorrendo, a velocidade do ciclo é aumentada.*

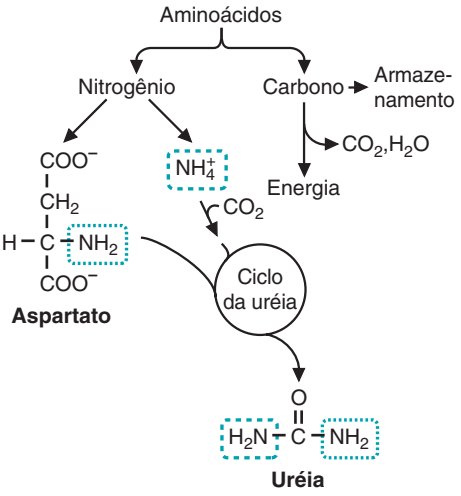


Figura 38.1 Destino dos carbonos e do nitrogênio dos aminoácidos. O carbono dos aminoácidos pode ser utilizado tanto para armazenamento de energia (glicogênio, ácidos graxos) quanto para produção de energia. O nitrogênio dos aminoácidos é utilizado para a síntese de uréia. Um nitrogênio da uréia vem do NH_4^+, e o outro, do aspartato.

SALA DE ESPERA

Percy Veere e sua colega de escola decidiram fazer um cruzeiro pelo Caribe, durante o qual eles experimentaram a culinária de muitas da ilhas no seu itinerário. Um mês após seu retorno aos EUA, Percy se queixou de mal-es-

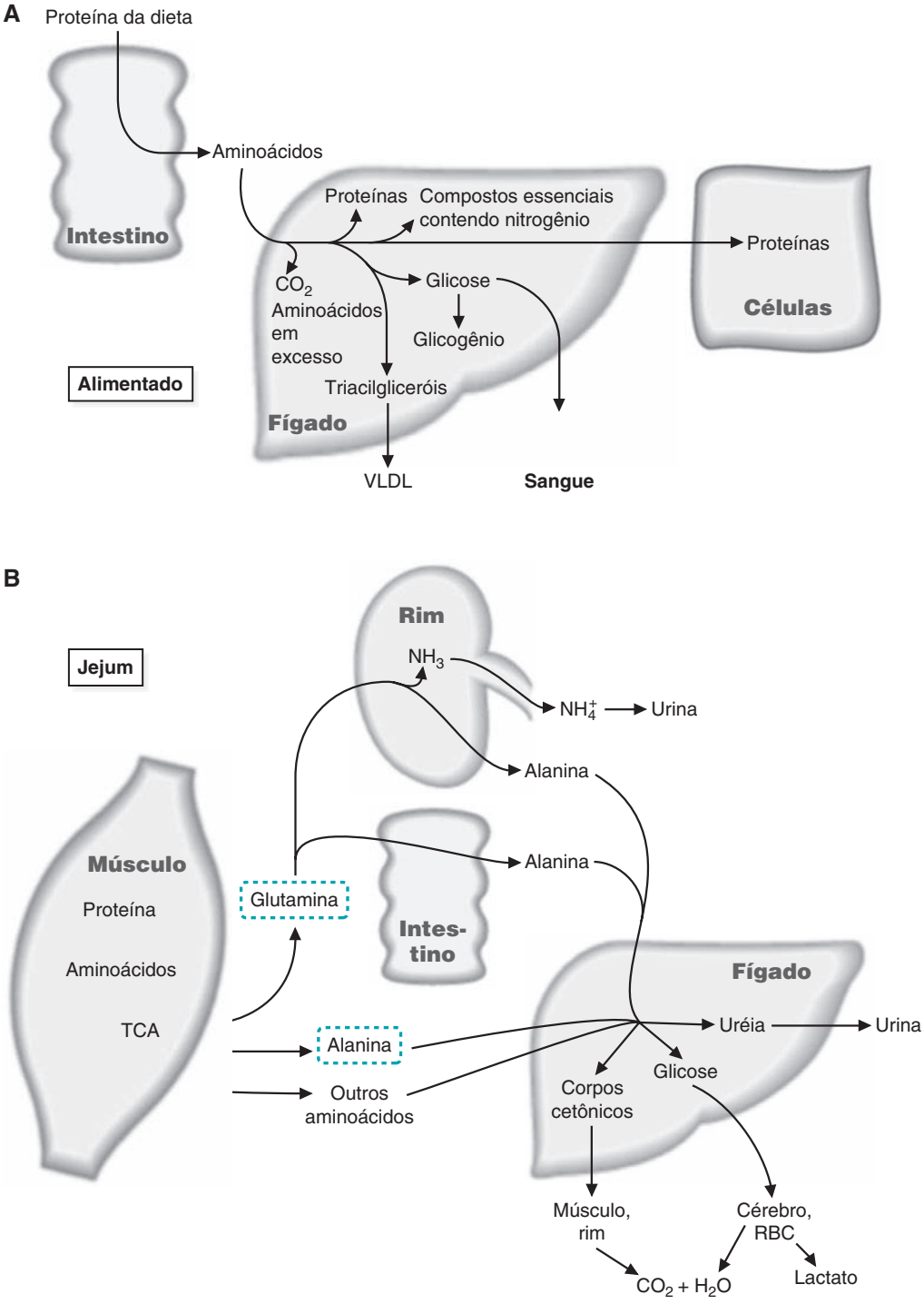


Figura 38.2 Papéis dos vários tecidos no metabolismo dos aminoácidos. **A.** No estado alimentado, os aminoácidos liberados pela digestão das proteínas da dieta vão pela veia porta hepática para o fígado, onde são utilizados para a síntese de proteínas, particularmente as proteínas do sangue, como a albumina sérica. O excesso de aminoácidos é convertido em glicose ou em triacilgliceróis. Os últimos são, então, empacotados e secretados nas VLDL. A glicose produzida a partir de aminoácidos no estado alimentado é estocada como glicogênio ou liberada no sangue se os níveis sangüíneos de glicose estão baixos. Os aminoácidos que passam pelo fígado são convertidos em proteínas nas células de outros tecidos. **B.** Durante o jejum, aminoácidos são liberados das proteínas musculares. Alguns entram diretamente no sangue. Outros são parcialmente oxidados, e o nitrogênio é armazenado na forma de alanina ou glutamina, as quais entram no sangue. No rim, a glutamina libera amônia para a urina e é convertida em alanina e serina. Nas células do intestino, a glutamina é convertida em alanina. A alanina (o principal aminoácido gliconeogênico) e outros aminoácidos entram no fígado, onde seu nitrogênio é convertido em uréia, a qual é excretada na urina, e seus carbonos são convertidos em glicose e corpos cetônicos, os quais são oxidados por vários tecidos para produzir energia. RBC = células vermelhas do sangue (do inglês ***r**ed **b**lood **c**ells*)

tar grave, perda de apetite, náusea, vômitos e artralgias (dores articulares). Ele tinha febre baixa e observou uma dor persistente e crescente na área de seu fígado. Sua amiga notou uma coloração amarela das escleras dos olhos e da pele de Percy. A urina de Percy ficou com cor de chá preto, e as fezes ficaram com uma cor de argila clara. O médico achou seu fígado aumentado e sensível. Foram solicitados testes de função hepática.

Testes sorológicos para hepatite viral dos tipos B, C, e D foram não-reativos, mas exames fecais mostraram "eliminação" de vírus da hepatite do tipo A. Testes para anticorpos para antígenos do vírus da hepatite A (anti-HAV) no soro foram positivos para imunoglobulina do tipo M.

O diagnóstico de hepatite viral A aguda foi feito, provavelmente contraída por alimentos contaminados com vírus que Percy comeu durante o seu cruzeiro. Seu médico explicou que não havia tratamento específico para hepatite viral do tipo A, mas recomendou cuidados sintomáticos e de apoio, e a prevenção da transmissão para outras pessoas através da rota fecal-oral. Percy tomou acetaminofen de 3 a 4 vezes por dia para febre e artralgias durante toda a sua doença.

I. DESTINO DO NITROGÊNIO DOS AMINOÁCIDOS

A. Reações de Transaminação

A transaminação é o principal processo para remover o nitrogênio dos aminoácidos. Na maioria dos casos, o nitrogênio é transferido, como um grupo amino, do aminoácido original para o α-cetoglutarato, formando glutamato, enquanto o aminoácido original é convertido em seu α-cetoácido correspondente (Figura 38.3). Por exemplo, o aminoácido aspartato pode ser transaminado para formar seu α-cetoácido correspondente, o oxaloacetato. Nesse processo, o grupo amino é transferido para o α-cetoglutarato, o qual se converte em seu aminoácido correspondente, o glutamato.

Todos os aminoácidos, exceto lisina e treonina, são submetidos a reações de transaminação. As enzimas que catalisam essas reações são conhecidas como transaminases ou aminotransferases. Para a maioria dessas reações, o α-cetoglutarato e o glutamato servem como um dos pares α-cetoácido-aminoácido. O piridoxal-fosfato é o co-fator, e o mecanismo da reação está indicado na Figura 38.4.

De forma geral, em uma reação de transaminação, um grupo amino de um aminoácido se torna o grupo amino do segundo aminoácido. Como essas reações são prontamente reversíveis, elas podem ser utilizadas para remover o nitrogênio de aminoácidos ou para transferir nitrogênio para α-cetoácidos para formar aminoácidos. Dessa forma, elas estão envolvidas tanto na degradação quanto na síntese de aminoácidos.

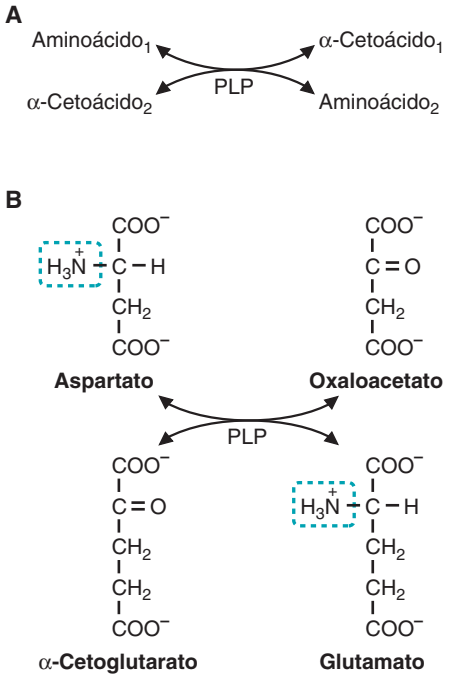


Figura 38.3 Transaminação. O grupo amino de um aminoácido é transferido para outro. Pares de aminoácidos e seus α-cetoácidos correspondentes estão envolvidos nessas reações. O α-cetoglutarato e o glutamato são, normalmente, um dos pares. As reações, as quais são prontamente reversíveis, utilizam piridoxal-fosfato (PLP) como co-fator. As enzimas são chamadas transaminases ou aminotransferases. **A.** Uma reação geral. **B.** Reação da aspartato-transaminase.



Ao passo que o piridoxal-fosfato é utilizado principalmente para reações envolvendo aminoácidos, ele também é necessário para a reação da glicogênio-fosforilase, na qual age como um catalisador ácido/base genérico.

B. Remoção do Nitrogênio dos Aminoácidos como Amônia

As células do corpo e as bactérias do intestino liberam o nitrogênio de certos aminoácidos na forma de amônia ou íon amônio (NH_4^+) (Figura 38.5). Como essas duas formas de nitrogênio podem se interconverter, os termos algumas vezes são utilizados de forma intercambiável. O íon amônio libera um próton para formar amônia por uma reação com um p*K* de 9,3 (Figura 38.6). Portanto, no pH fisiológico, o equilíbrio favorece o NH_4^+ por um fator de aproximadamente 100/1 (ver Capítulo 4, a equação de Henderson-Hasselbalch). Contudo, é importante observar que NH_3 também está presente no organismo, pois essa é a forma que pode atravessar as membranas celulares. Por exemplo, NH_3 passa para a urina a partir das células tubulares renais e diminui a acidez da urina pela ligação de prótons, formando NH_4^+. Uma vez que o NH_4^+ é formado, o composto não pode mais se difundir livremente através das membranas.

O glutamato pode ser desaminado oxidativamente por uma reação catalisada pela glutamato-desidrogenase que produz íon amônio e α-cetoglutarato (Figura 38.7). O NAD^+ ou o $NADP^+$ podem servir como co-fatores. Essa reação, que ocorre na mitocôndria da maioria das células, é prontamente reversível; ela pode incorporar amônia ao glutamato ou liberar amônia a partir de glutamato. O glutamato pode coletar o nitrogê-

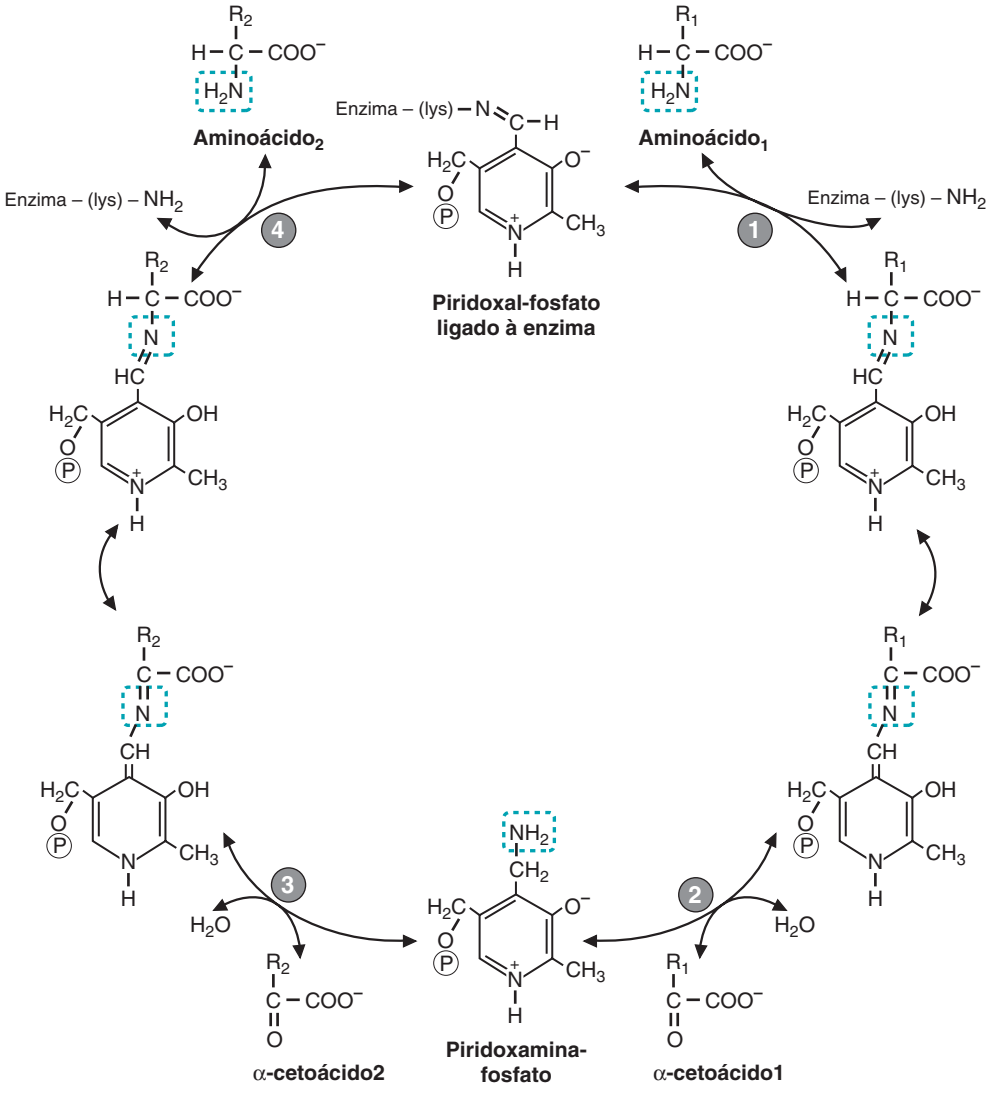


Figura 38.4 Função do piridoxal-fosfato (PLP) nas reações de transaminação. A ordem na qual as reações ocorrem é de 1 para 4. O piridoxal-fosfato (ligado à enzima) reage com o aminoácido$_1$, formando uma base de Schiff (uma ligação dupla carbono-nitrogênio). Após a troca de posição da ligação dupla, o α-cetoácido$_1$ é liberado pela hidrólise da base de Schiff, e a piridoxamina-fosfato é produzida. A piridoxamina-fosfato, então, forma uma base de Schiff com o α-cetoácido$_2$. Após a troca de posição da ligação dupla, o aminoácido$_2$ é liberado pela hidrólise da base de Schiff, e o piridoxal-fosfato ligado à enzima é regenerado. O resultado líquido é que o grupo amino do aminoácido$_1$ é transferido para o aminoácido$_2$.

nio de outros aminoácidos como conseqüência das reações de transaminação e, então, liberar amônia através da reação da glutamato-desidrogenase. Esse processo fornece uma das fontes de amônia que entra no ciclo da uréia.

Além do glutamato, vários outros aminoácidos liberam o seu nitrogênio como NH_4^+ (ver Figura 38.5). A histidina pode ser diretamente desaminada para formar NH_4^+ e urocanato. As desaminações da serina e da treonina são reações de desidratação que requerem piridoxal-fosfato e são catalisadas pela serina-desidratase. A serina forma piruvato, e a treonina, α-cetobutirato. Em ambos os casos, o NH_4^+ é liberado.

A glutamina e a asparagina contêm grupos R amidas que são liberados como NH_4^+ por desaminação. A asparagina é desaminada pela asparaginase, produzindo aspartato e NH_4^+. A glutaminase age na glutamina, formando glutamato e NH_4^+. A reação da glutaminase é particularmente importante no rim, no qual o íon amônio produzido é excretado diretamente na urina, na qual ele forma sais com ácidos metabólicos, facilitando a remoção desses na urina.



A glutamato-desidrogenase é uma das três enzimas de mamíferos que podem "fixar" amônia em moléculas orgânicas. As outras duas são a glutamina-sintetase e a carbamoil-fosfato-sintetase I.

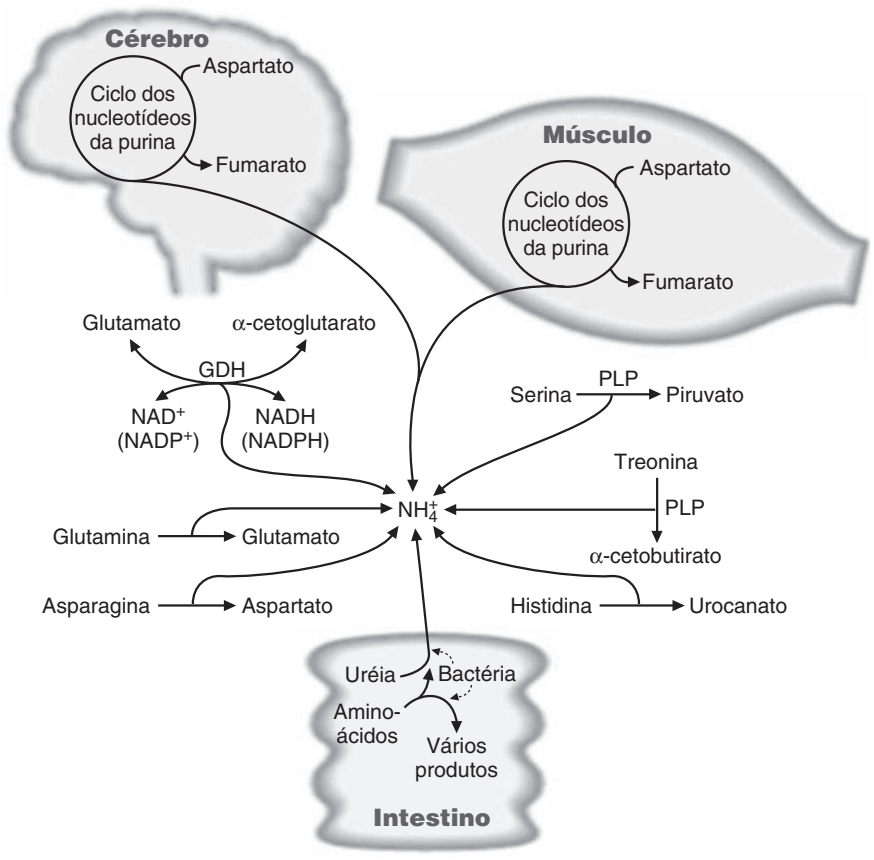


Figura 38.5 Resumo das fontes de NH_4^+ para o ciclo da uréia. Todas as reações são irreversíveis, exceto a da glutamato-desidrogenase (GDH). Somente as reações de desidratase, as quais produzem NH_4^+ a partir de serina e treonina, requerem piridoxal-fosfato como co-fator. As reações que não são mostradas ocorrendo no músculo ou no intestino podem, todas, ocorrer no fígado, onde o NH_4^+ gerado pode ser convertido em uréia. O ciclo dos nucleotídeos da purina do cérebro e do músculo é descrito mais adiante, no Capítulo 41.

No músculo e no cérebro, mas não no fígado, o ciclo dos nucleotídeos da purina permite que o NH_4^+ seja liberado dos aminoácidos (ver Figura 38.5). O nitrogênio é coletado pelo glutamato a partir de outros aminoácidos por meio das reações de transaminação. O glutamato, então, transfere seu grupo amino para o oxaloacetato para formar aspartato, o qual fornece nitrogênio para o ciclo dos nucleotídeos da purina (ver Capítulo 41). As reações do ciclo liberam fumarato e NH_4^+. O íon amônio formado pode deixar o músculo na forma de glutamina.

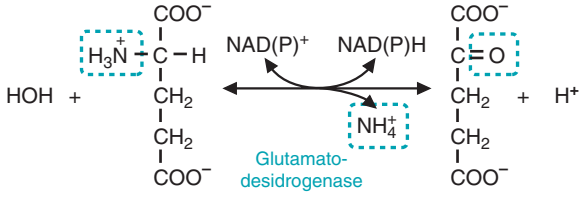


Figura 38.7 Reação catalisada pela glutamato-desidrogenase. Essa reação é prontamente reversível e pode utilizar tanto NAD^+ quanto $NADP^+$ como co-fator. O oxigênio no α-cetoglutarato é derivado da água.

Exames laboratoriais de **Percy Veere** mostraram que o seu nível de alanina-transaminase (ALT) sérica era 294 unidades/L (valores de referência = 5 a 30), e o de aspartato-transaminase (AST) sérica era 268 unidades/L (valores de referência = 10 a 30). Seu nível de fosfatase alcalina sérica era 284 unidades/L (valores de referência para um adulto do sexo masculino = 40 a 125) e o de bilirrubina sérica total era 9,6 mg/dL (valores de referência = 0,2 a 1,0). A bilirrubina é um produto de degradação do heme, conforme descrito no Capítulo 44.

Enzimas celulares tais como AST, ALT e fosfatase alcalina escapam para o sangue através da membrana da célula hepática que foi danificada como resultado do processo inflamatório. Na hepatite viral aguda, o nível de ALT sérica é freqüentemente elevado em proporções maiores do que o nível sérico de AST. A fosfatase alcalina, a qual está presente nas membranas entre as células do fígado e o ducto biliar, também está elevada no sangue na hepatite viral aguda.

O aumento na bilirrubina total sérica ocorre como resultado da inabilidade do fígado infectado em conjugar a bilirrubina e da oclusão parcial ou completa dos ductos hepáticos de drenagem biliar causada pelo edema inflamatório do fígado. Na insuficiência hepática fulminante, o nível de bilirrubina sérica pode exceder 20 mg/dL, um sinal prognóstico grave.

$$NH_4^+ \rightleftharpoons NH_3 + H^+$$
$$pK = 9.3$$

Figura 38.6 Formação de amônia a partir do íon amônio. Como o p*K* é 9,3, no pH fisiológico, a concentração de NH_4^+ é quase 100 vezes a de NH_3.

Os sintomas de deficiência de vitamina B6 incluem dermatite, anemia hipocrômica microcítica, fraqueza, irritabilidade e, em alguns casos, convulsões. O ácido xanturênico (um produto de degradação do triptofano) e outros compostos aparecem na urina devido a uma inabilidade para a metabolização completa de aminoácidos. Um decréscimo na habilidade de sintetizar heme a partir de glicina pode causar a anemia microcítica (ver Capítulo 44), e a diminuição na descarboxilação dos aminoácidos para formar neurotransmissores (ver Capítulo 48) pode explicar as convulsões.

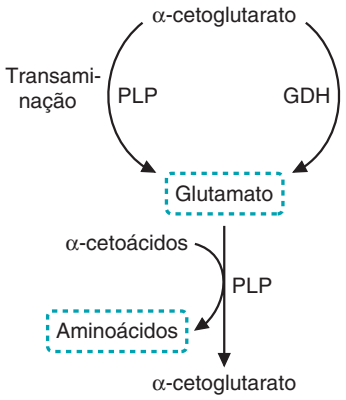
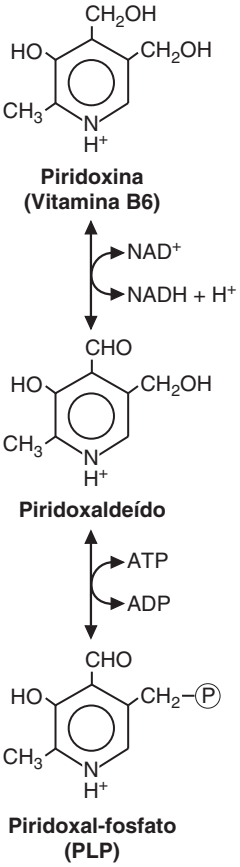


Figura 38.8 Papel do glutamato na síntese de aminoácidos. O glutamato transfere nitrogênio por meio de reações de transaminação para α-cetoácidos para formar aminoácidos. Esse nitrogênio é obtido pelo glutamato em conseqüência de transaminações de outros aminoácidos ou a partir do NH_4^+ por meio da reação da glutamato-desidrogenase (GDH). PLP = piridoxal-fosfato.

O piridoxal-fosfato é derivado da piridoxina (vitamina B6). Ele é co-fator não só para reações de transaminação, mas também para descarboxilações e várias outras reações envolvendo aminoácidos.



Em resumo, o NH_4^+ que entra no ciclo da uréia é produzido no organismo pela desaminação, ou desamidação, de aminoácidos (ver Figura 38.5). Uma quantidade significativa de NH_4^+ também é produzida pelas bactérias que vivem no lúmen do trato intestinal. Esse íon amônio entra na veia porta hepática e vai para o fígado.

C. O Papel do Glutamato no Metabolismo do Nitrogênio dos Aminoácidos

O glutamato tem um papel central no metabolismo dos aminoácidos, ele está envolvido tanto na síntese quanto na degradação.

O glutamato fornece nitrogênio para a síntese de aminoácidos (Figura 38.8). Nesse processo, o glutamato obtém seu nitrogênio ou dos outros aminoácidos, por reações de transaminação, ou do NH_4^+, pela reação da glutamato-desidrogenase. As reações de transaminação servem, então, para transferir grupos amino do glutamato para α-cetoácidos para produzir seus aminoácidos correspondentes.

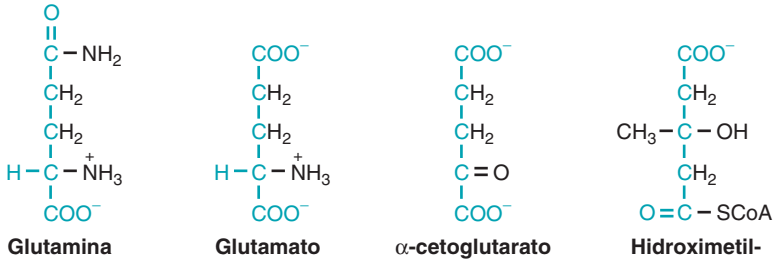
Quando os aminoácidos são degradados e a uréia é formada, o glutamato coleta nitrogênio dos outros aminoácidos por reações de transaminação. Alguns desses nitrogênios são liberados como amônia pela reação da glutamato-desidrogenase, mas uma quantidade muito maior de amônia é produzida a partir das outras fontes mostradas na Figura 38.5. O NH_4^+ é uma das duas formas nas quais o nitrogênio entra no ciclo da uréia (Figura 38.9).

A segunda forma de nitrogênio para a síntese da uréia é fornecida pelo aspartato (ver Figura 38.9). O glutamato pode ser a fonte desse nitrogênio; ele transfere seu grupo amino para o oxaloacetato, e aspartato e α-cetoglutarato são formados.

D. O Papel da Alanina e da Glutamina no Transporte do Nitrogênio dos Aminoácidos para o Fígado

O *turnover* protéico e a degradação dos aminoácidos ocorrem em todos os tecidos; entretanto, as enzimas do ciclo da uréia são ativas principalmente no fígado (o intestino expressa níveis baixos da atividade dessas enzimas; ver Capítulo 42). Assim, é necessário um mecanismo para transportar o nitrogênio dos aminoácidos para o fígado. A alanina e a glutamina são os principais transportadores de nitrogênio no sangue. A alanina é exportada principalmente pelo músculo. Como o músculo metaboliza a glicose por meio da glicólise, o piruvato está disponível no músculo. O piruvato é transaminado com o glutamato para formar alanina, a qual vai até o fígado (Figura 38.10). O glutamato é formado pela transaminação de um aminoácido que esteja sendo degradado. Chegando ao fígado, a alanina é transaminada a piruvato, e o nitrogênio será utilizado para a síntese de uréia. O piruvato formado é utilizado para a gliconeogênese, e a glicose é exportada para o músculo para servir como energia. Esse ciclo de movimento de carbonos e nitrogênios entre o músculo e o fígado é conhecido como ciclo glicose-alanina.

Compostos que contêm "glut" em seu nome têm cinco carbonos em uma cadeia reta. Em cada final da cadeia, o carbono faz parte de um grupo carboxila. Na glutamina, o grupo carboxila forma uma amida e no hidroximetilglutaril-CoA (HMG-CoA), ele forma um tioéster com a coenzima A.



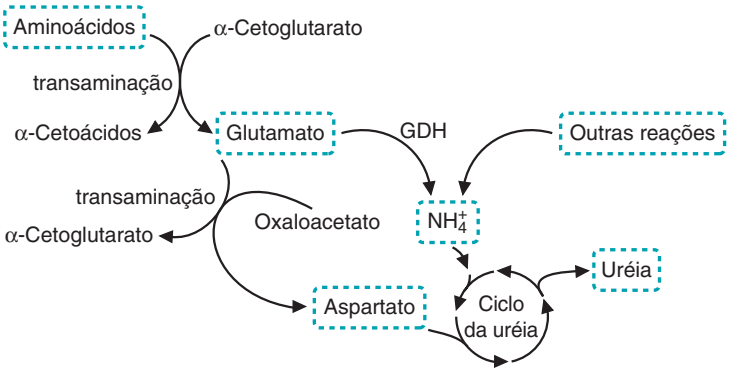


Figura 38.9 Papel do glutamato na produção da uréia. O glutamato coleta nitrogênio a partir de outros aminoácidos por reações de transaminação. Tal nitrogênio pode ser liberado como NH_4^+ pela glutamato-desidrogenase (GDH). O NH_4^+ também é produzido por outras reações (ver Figura 38.5). O NH_4^+ fornece um dos nitrogênios para a síntese da uréia; o outro nitrogênio vem do aspartato e é obtido a partir do glutamato por transaminação do oxaloacetato.

A glutamina é sintetizada a partir do glutamato pela fixação de amônia, necessitando de energia (trifosfato de adenosina [ATP]) e da enzima glutamina-sintetase (Fig. 38.11), que é uma enzima citoplasmática encontrada em todas as células. Sob condições de rápida degradação de aminoácidos em um tecido, de forma que os níveis de amônia aumentem, o glutamato que está sendo formado por reações de transaminação irá aceitar uma outra molécula de nitrogênio para formar glutamina. A glutamina vai até o fígado, o rim ou o intestino, nos quais a glutaminase (ver Figura 38.11) irá remover o nitrogênio amida para formar glutamato mais amônia. No rim, a liberação da amônia e a formação do íon amônio servem para formar sais com ácidos metabólicos na urina. No intestino, a glutamina é utilizada como substrato energético (ver Capítulo 42). No fígado, a amônia é utilizada para a biossíntese da uréia.



No fígado, a glutamina-sintetase está localizada nas células que circundam a veia hepática. Seu papel principal é converter em glutamina qualquer amônia que tenha escapado da produção de uréia, de tal forma que a amônia livre não deixe o fígado e entre na circulação.

II. CICLO DA URÉIA

O ser humano adulto normal está em balanço nitrogenado, isto é, a quantidade de nitrogênio ingerida a cada dia, principalmente na forma de proteína na dieta, é igual à quantidade de nitrogênio excretada. O principal produto de excreção de nitrogênio é a uréia, a qual é eliminada pelo corpo na urina. Esse composto inócuo, produzido principalmente no fígado pelo ciclo da uréia, serve como uma forma de eliminar a amônia, a qual é tóxica, particularmente ao cérebro e ao sistema nervoso central. Em geral, pouca amônia (ou NH_4^+) está presente no sangue. A concentração varia entre 30 e 60

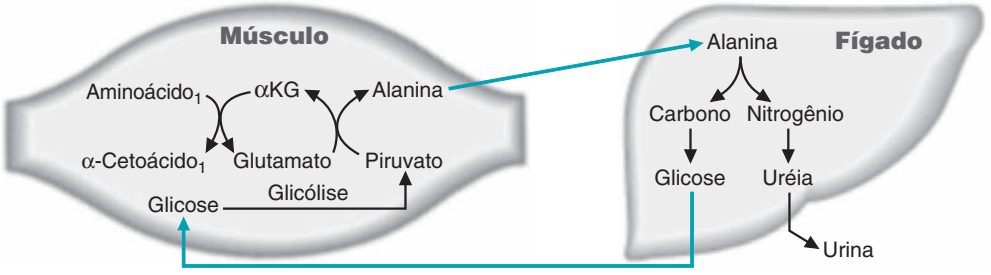


Figura 38.10 Ciclo glicose-alanina. No músculo, a degradação de aminoácidos leva à transferência de nitrogênios para o α-cetoglutarato e o piruvato. A alanina formada vai para o fígado, no qual os carbonos da alanina são utilizados para a gliconeogênese, e o nitrogênio da alanina é utilizado para a biossíntese da uréia. Isso pode ocorrer durante o exercício, quando o músculo utiliza a glicose vinda do sangue (ver Capítulo 47). αKG = α-cetoglutarato.

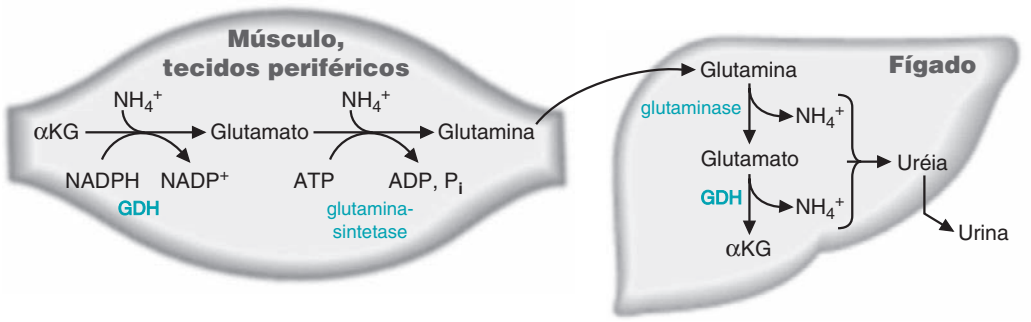
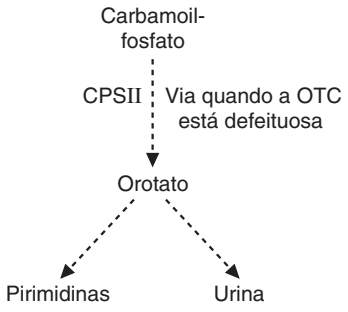


Figura 38.11 Síntese de glutamina nos tecidos periféricos e seu transporte para o fígado. No fígado, a glutaminase converte a glutamina em glutamato. Observe como o α-cetoglutarato pode aceitar duas moléculas de amônia para formar glutamina. GDH = glutamato-desidrogenase. αKG = α-cetoglutarato.

Os sintomas de **Percy Veere** e as anormalidades laboratoriais não foram melhorando lentamente após seis semanas, como em geral ocorre em infecções de hepatite viral A sem complicações. Em vez disso, seus níveis séricos de bilirrubina total, ALT, AST e fosfatase alcalina aumentaram ainda mais. Seus vômitos se tornaram intratáveis, e seu amigo notou movimentos espasmódicos em seus braços (*asterixis*), caretas faciais, agitação, atividade mental reduzida e uma pequena desorientação. Percy Veere foi admitido no hospital com um diagnóstico de insuficiência hepática com encefalopatia hepática incipiente (disfunção cerebral causada pelo acúmulo de várias toxinas no sangue), uma complicação rara da hepatite viral aguda tipo A isolada. Foi considerada a possibilidade de uma sobreposição da toxicidade hepática viral aguda e o uso de acetaminofen (paracetamol).

Quando a ornitina transcarbamoilase (OTC) está deficiente, o carbamoil-fosfato, que normalmente iria entrar no ciclo da uréia, acumula-se e inunda a via de biossíntese de pirimidinas. Sob essas condições, o excesso de ácido orótico (orotato), um intermediário da biossíntese de pirimidinas, é excretado na urina. Ele não provoca nenhuma doença, mas é indicativo de um problema no ciclo da uréia.



μM. A amônia é rapidamente removida do sangue e convertida em uréia pelo fígado. O nitrogênio é transportado no sangue principalmente nos aminoácidos, em particular na alanina e na glutamina.

A. Reações do Ciclo da Uréia

O nitrogênio entra no ciclo da uréia como NH_4^+ e aspartato (Figura 38.12). O NH_4^+ se converte em carbamoil-fosfato, o qual reage com a ornitina para formar citrulina. A ornitina é o composto que inicia e é regenerado pelo ciclo (semelhante ao oxaloacetato no ciclo do TCA). O aspartato reage com a citrulina, doando, por fim, seu nitrogênio para a formação da uréia. A arginina é formada em dois passos sucessivos. A clivagem da arginina pela arginase libera uréia e regenera ornitina.

1. SÍNTESE DE CARBAMOIL-FOSFATO

Na primeira reação do ciclo da uréia, NH_4^+, bicarbonato e ATP reagem para formar carbamoil-fosfato (ver Figura 38.12). É necessária a clivagem de 2 ATP para formar a ligação fosfato de alta energia do carbamoil-fosfato. A carbamoil-fosfato-sintetase I (CPSI), a enzima que catalisa essa primeira reação do ciclo da uréia, é encontrada principalmente nas mitocôndrias do fígado e do intestino. O número romano sugere que exista uma outra carbamoil-fosfato-sintetase, e, de fato, há a CPSII, localizada no citosol, a qual produz carbamoil-fosfato para biossíntese de pirimidinas, utilizando o nitrogênio da glutamina (ver Capítulo 41).

2. PRODUÇÃO DE ARGININA PELO CICLO DA URÉIA

O carbamoil-fosfato reage com a ornitina para formar citrulina (ver Figura 38.12). A ligação fosfato de alta energia do carbamoil-fosfato fornece a energia requerida para essa reação, a qual ocorre na mitocôndria e é catalisada pela ornitina-transcarbamoilase. O produto, a citrulina, é transportado através da membrana mitocondrial em troca de ornitina citoplasmática e entra no citosol. O carreador para essa reação de transporte catalisa uma troca eletroneutra de dois compostos.

No citosol, a citrulina reage com o aspartato, a segunda fonte de nitrogênio para a síntese da uréia, para produzir argininossuccinato (ver Figura 38.12). Essa reação, catalisada pela argininossuccinato-sintetase, é direcionada pela hidrólise do ATP a mono-

O ciclo da uréia foi proposto, em 1932, por Hans Krebs e por um estudante de medicina, Kurt Henseleit, com base em suas observações de laboratório. Ele foi originalmente chamado de ciclo de Krebs-Heiseleit. Subseqüentemente, Krebs usou esse conceito de ciclo metabólico para explicar um segundo processo, que também levou o seu nome, o ciclo de Krebs (ou do TCA).

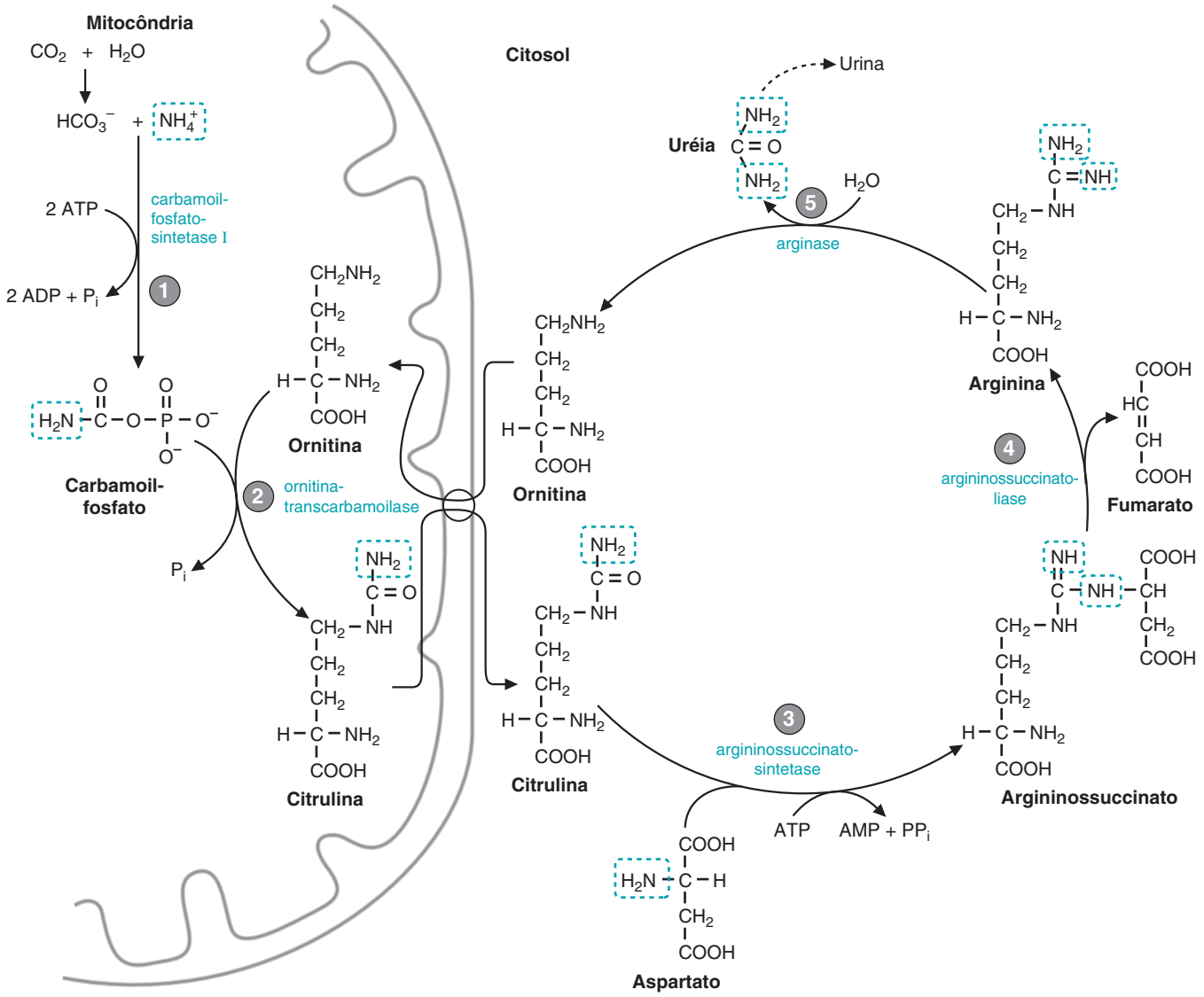


Figura 38.12 Ciclo da Uréia. Os passos do ciclo são numerados de 1 a 5.

fosfato de adenosina (AMP) e pirofosfato. O aspartato é produzido pela transaminação do oxaloacetato.

O argininossuccinato é clivado pela argininossuccinato-liase para formar fumarato e arginina (ver Figura 38.12). O fumarato é produzido a partir dos carbonos do argininossuccinato provenientes do aspartato. O fumarato é convertido em malato (utilizando a fumarase citoplasmática), o qual é usado tanto para a síntese de glicose pela via da gliconeogênese quanto para a regeneração de oxaloacetato pelas reações citoplasmáticas similares àquelas mencionadas no ciclo do TCA (Figura 38.13). O oxaloacetato formado é transaminado para gerar o aspartato que carrega o nitrogênio para o ciclo da uréia. Assim, os carbonos do fumarato podem ser reciclados a aspartato.

3. CLIVAGEM DA ARGININA PARA PRODUZIR URÉIA

A arginina, que contém os nitrogênios derivados do NH_4^+ e do aspartato, é clivada pela arginase, produzindo uréia e regenerando ornitina (ver Figura 38.12). A uréia é produzida a partir do grupo guanidino da cadeia lateral da arginina. A porção da arginina originalmente derivada da ornitina é reconvertida em ornitina.

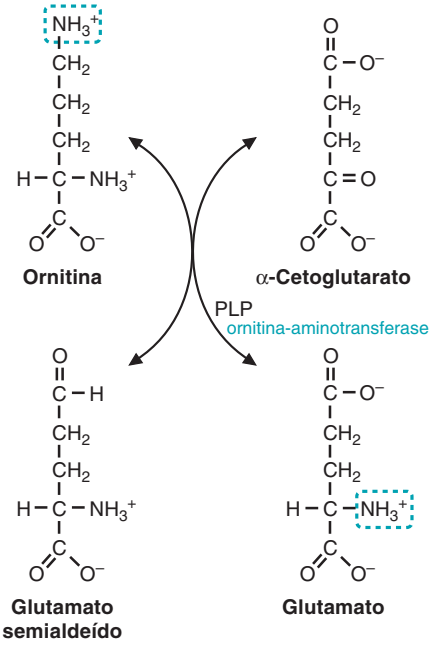


Figura 38.14 Reação da ornitina-aminotransferase. Essa é uma reação reversível dependente de piridoxal-fosfato, a qual normalmente favorece a degradação da ornitina.

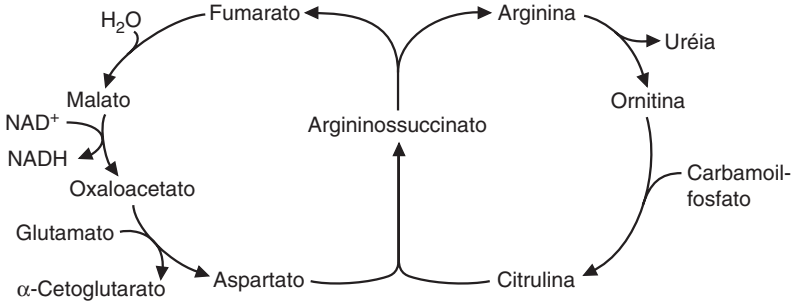


Figura 38.13 A "bicicleta" de Krebs, indicando os passos comuns entre os ciclos do TCA e da uréia. Todas as reações mostradas ocorrem no citoplasma, exceto para a síntese de citrulina, a qual ocorre dentro da mitocôndria.

As reações pelas quais a citrulina é convertida em arginina e essa é clivada para produzir uréia ocorrem no citosol. A ornitina, outro produto da reação da arginase, é transportada para dentro da mitocôndria em troca de citrulina e, na mitocôndria, pode reagir com o carbamoil-fosfato, iniciando outra volta do ciclo.

B. Origem da Ornitina

A ornitina é um aminoácido. Entretanto, ela não é incorporada nas proteínas durante o processo de síntese protéica, pois não existe códon genético para esse aminoácido. Embora a ornitina seja normalmente regenerada pelo ciclo da uréia (um dos produtos da reação da arginase), ela também pode ser sintetizada *de novo*, se necessário. A reação é uma transaminação não-usual catalisada pela ornitina-aminotransferase, sob condições específicas, no intestino (Figura 38.14). A direção dessa reação em geral é a de formação de glutamato semialdeído, o qual é o primeiro passo da via de degradação da ornitina.

C. Regulação do Ciclo da Uréia

O fígado humano tem uma grande capacidade para converter o nitrogênio dos aminoácidos em uréia, prevenindo, dessa forma, os efeitos tóxicos da amônia, a qual pode, caso contrário, acumular. Em geral, o ciclo da uréia é regulado pela disponibilidade de substrato; quanto maior a velocidade de produção de amônia, maior a velocidade de produção de uréia. A regulação por disponibilidade de substrato é uma característica geral de controle de vias de eliminação, tal como o ciclo da uréia, o qual remove compostos tóxicos do organismo. Esse é um tipo de regulação por *feed-forward*, ao contrário da regulação por *feedback* (retroalimentação), a qual é característica de vias que geram produtos finais funcionais.

Dois outros tipos de regulação controlam o ciclo da uréia: a ativação alostérica da CPSI pelo *N*-acetil-glutamato (NAG) e a indução/repressão da síntese das enzimas do ciclo da uréia. O NAG é formado especificamente para ativar a CPSI, não tendo nenhuma outra função conhecida em mamíferos. A síntese de NAG a partir de acetil-CoA e glutamato é estimulada pela arginina (Figura 38.15). Assim, quando os níveis de arginina no fígado aumentam, duas reações importantes são estimuladas. A primeira é a síntese do NAG, o qual irá aumentar a velocidade pela qual o carbamoil-fosfato é produzido. A segunda é para produzir mais ornitina (via reação da arginase), de tal forma que o ciclo possa operar mais rapidamente.

A indução das enzimas do ciclo da uréia ocorre em resposta a condições que requerem um aumento do metabolismo protéico, tais como uma dieta rica em proteína ou um jejum prolongado. Em ambos estados fisiológicos, enquanto os carbonos do aminoácido são convertidos em glicose, o nitrogênio do aminoácido é convertido em uréia. A indução da síntese das enzimas do ciclo da uréia, sob essas condições, ocorre mesmo que os níveis das enzimas antes da indução sejam muito maiores do que a necessidade. A habilidade de uma dieta rica em proteína para aumentar os níveis das enzimas do ciclo da uréia é um outro tipo de regulação por *feed-forward*.



A patogênese precisa dos sinais e sintomas do sistema nervoso central (SNC) que acompanham a insuficiência hepática (encefalopatia hepática), em pacientes como **Percy Veere**, não está completamente compreendida. Essas alterações são, entretanto, atribuídas em parte a substâncias tóxicas que são derivadas do metabolismo de substratos nitrogenados por bactérias intestinais e que circulam para o fígado pela veia porta. Entretanto, tais substâncias "contornam" seu metabolismo normal pelas células hepáticas, uma vez que o processo inflamatório agudo da hepatite viral limita severamente a habilidade das células do fígado para degradar esses compostos a metabólitos inofensivos. Como resultado, essas toxinas são "desviadas" para dentro da veia hepática inalteradas e, conseqüentemente, atingem o cérebro através da circulação sistêmica (encefalopatia portal-sistêmica)

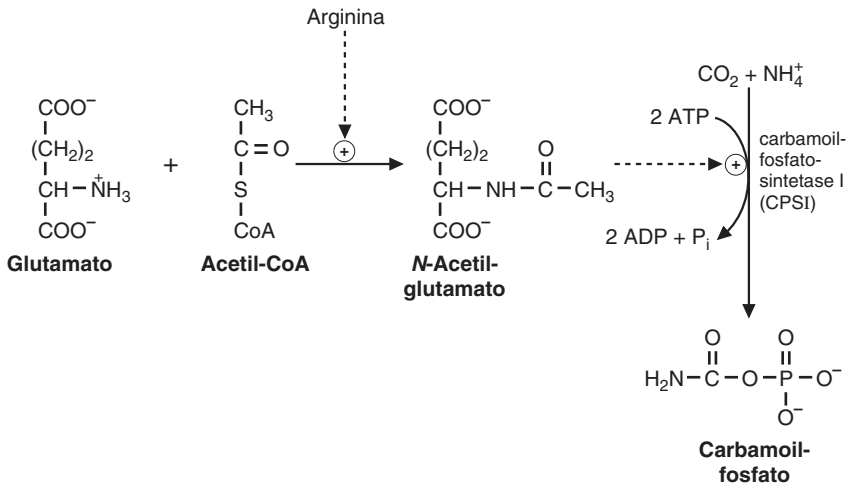


Figura 38.15 Ativação da carbamoil-fosfato-sintetase I (CPSI). A arginina estimula a síntese de *N*-acetilglutamato, o qual ativa a CPSI.

D. Função do Ciclo da Uréia Durante o Jejum

Durante o jejum, o fígado mantém os níveis de glicose no sangue. Os aminoácidos das proteínas musculares são a maior fonte de carbono para a produção de glicose pela via da gliconeogênese. Conforme os carbonos dos aminoácidos são convertidos em glicose, os nitrogênios são convertidos em uréia. Assim, a excreção urinária de uréia é maior durante o jejum (Figura 38.16). Quando o jejum progride, entretanto, o cérebro começa a utilizar corpos cetônicos, poupando a glicose do sangue. Menos proteína muscular é clivada para fornecer aminoácidos para a gliconeogênese, e a produção diminuída de glicose a partir de aminoácidos é acompanhada por uma diminuição na produção de uréia (ver Capítulo 31).

O principal aminoácido que serve como substrato para a gliconeogênese é a alanina, a qual é sintetizada nos tecidos periféricos para agir como um carreador de nitrogênio (ver Figura 38.10). A liberação de glucagon, que acontece durante o jejum, estimula o transporte de alanina para o fígado pela ativação da transcrição do sistema

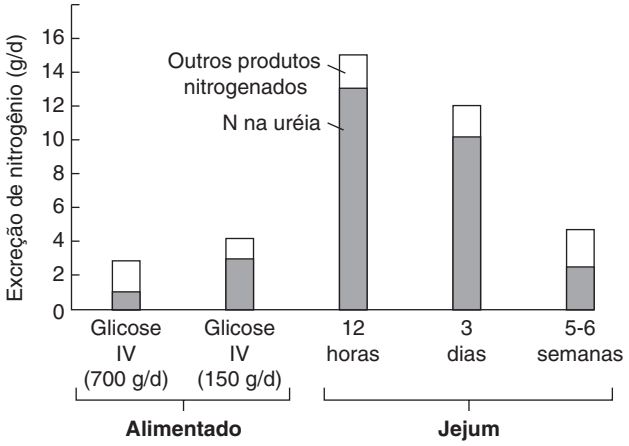


Figura 38.16 Excreção de nitrogênio durante o jejum. Indivíduos humanos inicialmente receberam glicose intravenosa (IV), como indicado, e, então, foram submetidos a jejum. A excreção total de nitrogênio foi medida, bem como o nitrogênio na uréia (área escura). Com base em Ruderman NB, et al. Gluconeogenesis and its disorders in man. In: Hanson RW, Mehlman MA, eds. Gluconeogenesis: Its Regulation in Mammalian Species. New York: Jonh Wiley, 1976:518.

O NH_4^+ é uma das toxinas que resultam da degradação da uréia ou de proteínas por bactérias intestinais e que não são metabolizadas pelo fígado infectado. A elevação subseqüente das concentrações de amônia no fluido que banha o cérebro causa depleção de intermediários do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) e de ATP no sistema nervoso central. O α-cetoglutarato, um intermediário do ciclo do TCA, combina-se com a amônia para formar glutamato na reação catalisada pela glutamato-desidrogenase. Subseqüentemente, o glutamato reage com amônia para formar glutamina.

O nível absoluto de amônia e de seus metabólitos, como a glutamina, no sangue e no fluido cerebrospinal de pacientes com encefalopatia hepática correlaciona-se apenas aproximadamente com a presença ou severidade dos sinais e sintomas neurológicos. O ácido γ-aminobutírico (GABA), um importante neurotransmissor inibitório no cérebro, também é produzido no lúmen intestinal e é desviado para a circulação sistêmica em quantidades aumentadas em pacientes com insuficiência hepática. Além disso, outros compostos (como aminoácidos aromáticos, falsos neurotransmissores e certos ácidos graxos de cadeia curta) contornam o metabolismo hepático e se acumulam na circulação sistêmica, afetando desfavoravelmente a função do sistema nervoso central. A importância relativa desses compostos na patogênese da encefalopatia hepática ainda não está determinada.

Adicionalmente à produção de uréia, as reações do ciclo da uréia também servem como uma via para a biossíntese de arginina. Por essa razão, esse aminoácido não é necessário na dieta do adulto; entretanto, ele é requerido na dieta durante o crescimento.

A uréia não é clivada por enzimas humanas. Entretanto, bactérias, incluindo aquelas do trato digestivo humano, podem clivar uréia a amônia e CO_2, utilizando a enzima urease. A urease não é produzida por seres humanos.

Até certo ponto, os seres humanos excretam uréia no intestino e na saliva. Bactérias intestinais convertem uréia em amônia. Essa amônia, bem como a amônia produzida por outras reações bacterianas no intestino, é absorvida para dentro da veia porta hepática. A amônia é normalmente retirada pelo fígado e convertida em uréia. Aproximadamente um quarto da uréia total liberada pelo fígado por dia é reciclado por bactérias.

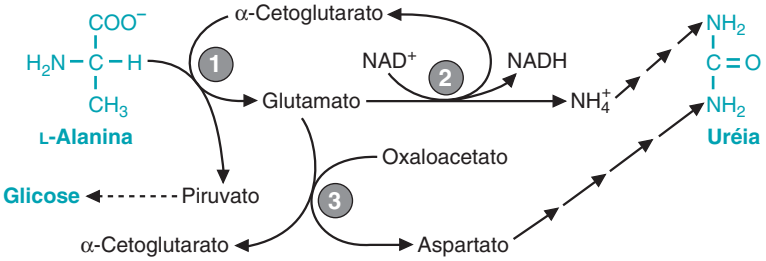


Figura 38.17 Conversão de alanina em glicose e uréia. 1. Alanina, o aminoácido-chave gliconeogênico, é transaminada para formar piruvato, o qual é convertido em glicose. O nitrogênio, agora no glutamato, pode ser liberado como NH_4^+ (2) ou transferido para oxaloacetato para formar aspartato (3). NH_4^+ e aspartato entram no ciclo da uréia, o qual produz uréia. Em resumo, os carbonos da alanina formam glicose, e o nitrogênio forma uréia. Duas moléculas de alanina são requeridas para produzir uma molécula de glicose e uma molécula de uréia.

de transporte para alanina. Duas moléculas de alanina são necessárias para gerar uma molécula de glicose. O nitrogênio dessas duas moléculas de alanina é convertido em uma molécula de uréia (Figura 38.17).

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

As duas complicações mais graves da hepatite viral aguda encontrada em pacientes como **Percy Veere** são necrose hepática maciça, levando à insuficiência hepática fulminante, e o conseqüente desenvolvimento de hepatite crônica. Ambas as complicações são raras na hepatite viral do tipo A, contudo, sugerem que a toxicidade do acetaminofen pode ter contribuído para a disfunção hepatocelular grave inesperada e a encefalopatia hepática precoce.

Felizmente, o repouso no leito, a reidratação, a nutrição parenteral e a terapia direcionada para a diminuição da produção de toxinas que resultam da degradação de substratos nitrogenados por bactérias no lúmen intestinal (p. ex., a administração de lactulose – a qual reduz os níveis de amônia no intestino por uma variedade de mecanismos –, a utilização de enemas e antibióticos para diminuir a flora intestinal, uma dieta pobre em proteína) impediram que **Percy Veere** progredisse para os estágios tardios da encefalopatia hepática. Como acontece com a maioria dos pacientes que sobrevivem a um episódio de insuficiência hepática fulminante, a recuperação ao seu estado de saúde prévio ocorreu ao longo dos 3 meses seguintes. Os exames de função hepática de Percy retornaram ao normal, e uma biópsia hepática de acompanhamento não mostrou anormalidades histológicas.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

As desordens no ciclo da uréia são perigosas devido ao acúmulo de amônia na circulação. A amônia é tóxica para o sistema nervoso, e sua concentração no organismo deve ser cuidadosamente regulada. Sob condições normais, a amônia livre é rapidamente fixada ao α-cetoglutarato (pela glutamato-desidrogenase, para formar glutamato) ou ao glutamato (pela glutamina-sintetase, para formar glutamina). A glutamina pode ser utilizada por vários tecidos, incluindo o fígado; o glutamato doa nitrogênios para o piruvato, para formar alanina, a qual vai para o fígado. Dentro do fígado, enquanto os nitrogênios são removidos de seus carreadores, a carbamoil-fosfato-sintetase I fixa a amônia no carbamoil-fosfato para iniciar o ciclo da uréia. Contudo, quando uma enzima do ciclo da uréia é defeituosa, o ciclo é interrompido, o que leva ao acúmulo de intermediários do ciclo da uréia anteriores ao bloqueio. Devido ao blo-

queio no ciclo da uréia, os níveis de glutamina aumentam na circulação, e como o α-cetoglutarato não está mais sendo regenerado, pela remoção de nitrogênio da glutamina, os níveis de α-cetoglutarato são muito baixos para fixar mais amônia livre, levando a níveis elevados de amônia no sangue. Então, como podem ser reduzidos os níveis de amônia e glutamina em tais pacientes?

A chave para o tratamento de pacientes com defeitos no ciclo da uréia é o diagnóstico precoce da doença e, então, o tratamento agressivo com compostos que possam auxiliar na remoção do nitrogênio desses pacientes. Dietas pobres em proteína são

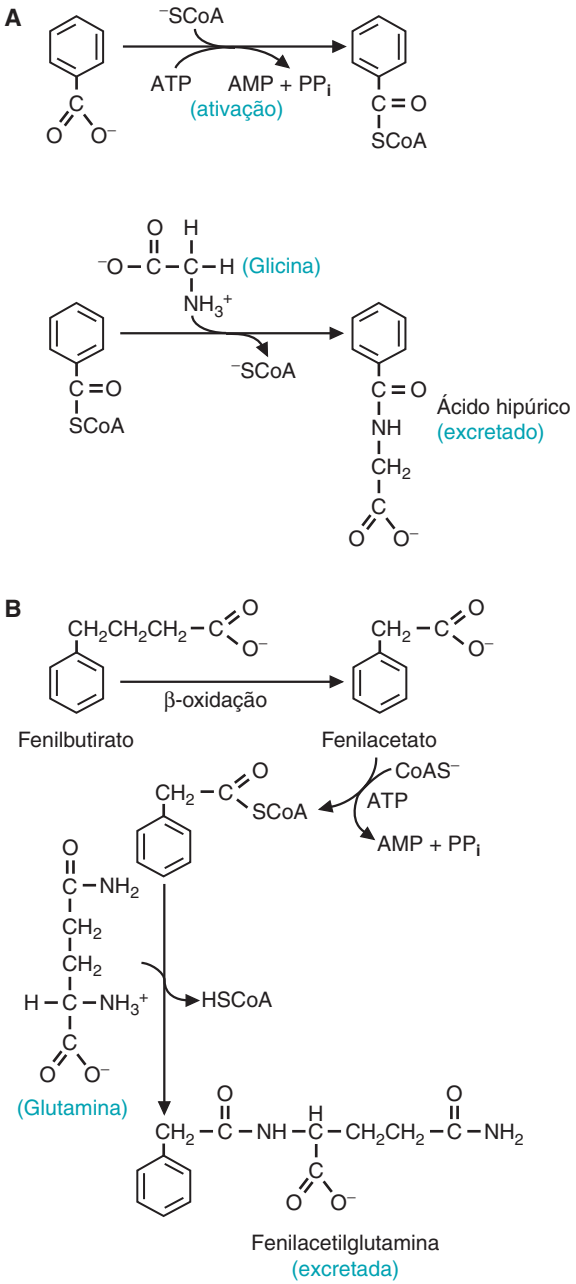


Figura 38.18 O metabolismo do ácido benzóico (A) e do fenilbutirato (B), dois agentes utilizados para reduzir os níveis de nitrogênio em pacientes com defeitos no ciclo da uréia.

essenciais para reduzir o potencial de degradação excessiva de aminoácidos. Se a enzima defeituosa no ciclo da uréia encontra-se depois da síntese do argininossuccinato, uma suplementação massiva de arginina tem provado ser benéfica. Uma vez que o argininossuccinato está sendo sintetizado, as duas moléculas de nitrogênio destinadas à excreção estão sendo incorporadas ao substrato; o problema é que a ornitina não pode ser regenerada. Se a ornitina puder ser reabastecida para permitir que o ciclo continue, o argininossuccinato pode ser utilizado como um carreador para a excreção do nitrogênio do organismo. Dessa forma, a ingestão de altos níveis de arginina leva à produção de ornitina pela reação da arginase, e a excreção de nitrogênio via argininossuccinato na urina pode ser aumentada.

A terapia pela administração de arginina não terá efeito nos casos de defeitos enzimáticos que existam em passos anteriores à síntese de argininossuccinato. Para tais desordens, são utilizados fármacos que formam conjugados com aminoácidos. Os aminoácidos conjugados são excretados, e o organismo, então, tem de usar seus nitrogênios para ressintetizar o aminoácido excretado. Os dois compostos mais freqüentemente utilizados são o ácido benzóico e o fenilbutirato (o componente ativo do fenilbutirato é o fenilacetato, seu produto de oxidação; o fenilacetato tem um odor desagradável, o que dificulta sua aceitação por via oral). Como indicado na Figura 38.18A, o ácido benzóico, após sua ativação, reage com a glicina para formar o ácido hipúrico, o qual é excretado. Como a glicina é sintetizada a partir da serina, o organismo agora utiliza nitrogênios para sintetizar serina, desse modo, mais glicina pode ser produzida. O fenilacetato (ver Figura 38.18B) forma um conjugado com glutamina, o qual é excretado. Esse conjugado remove dois nitrogênios por molécula, mas há a necessidade de glutamina ressintetizada pelo organismo a partir de glicose, utilizando, desse modo, duas outras moléculas de nitrogênio.

Defeitos no ciclo da uréia são excelentes candidatos para tratamento com terapia gênica. Isso porque o defeito só precisa ser reparado em um tipo celular (nesse caso, o hepatócito), o que torna mais fácil direcionar o vetor que leva o gene de reposição. Experimentos preliminares de terapia gênica têm sido realizados em indivíduos com deficiência na ornitina-transcarbamoilase (o defeito hereditário mais comum no ciclo da uréia), mas os experimentos foram interrompidos quando um paciente morreu de uma grave reação imunológica ao vetor utilizado para incorporar o gene. Esse incidente deixou a terapia de reposição gênica, nos Estados Unidos, "em espera" para futuro próximo.

Leituras Sugeridas

Brusilow S, Horwich A. Urea cycle enzymes. In: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, Sly WS, et al., eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, vol II, 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:1909-1963.

Marshall E. Gene therapy death prompts review of adenovirus vector. Science 1999;286:2244-2245.

Morris SM Jr. Regulation of enzymes of the urea cycle and arginine metabolism. Annu Rev Nutr 2002;22:87-105.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 38

1. Doenças de deficiências que envolvem cada uma das cinco enzimas do ciclo da uréia têm sido descritas. As manifestações clínicas podem aparecer no período neonatal. Bebês com defeitos nas primeiras quatro enzimas geralmente parecem normais ao nascimento, mas após 24 horas desenvolvem progressivamente letargia, hipotermia e apnéia. Eles têm altos níveis sangüíneos de amônia, e o cérebro se torna edemaciado. Uma explicação possível para o edema é o efeito osmótico do acúmulo de glutamina no cérebro, produzida pelas reações da amônia com o α-cetoglutarato e o glutamato. A deficiência de arginase não é tão severa quanto as deficiências das outras enzimas do ciclo da uréia.

   Dadas as seguintes informações sobre cinco recém-nascidos (identificados de I a V), os quais pareceram normais no nascimento, mas desenvolveram hiperamonemia após 24 horas, determine qual das enzimas pode estar defeituosa em cada caso (para cada bebê, escolha uma das cinco respostas, marcadas com as letras A a E). Todos os bebês tinham níveis baixos de nitrogênio uréico sangüíneo (BUN). (Níveis normais de citrulina são de 10 a 20 μM).

Bebê	Orotato urinário	Citrulina sangüínea	Arginina sangüínea	Amônia sangüínea
I	Baixo	Baixa	Baixa	Alta
II	-*	Alta (> 1.000 μM)	Baixa	Alta
III	-	-	Alta	Moderadamente alta
IV	Alto	Baixa	Baixa	Alta
V	-	Alta (200 μM)	Baixa	Alta

* Valores não-determinados; baixa = abaixo do normal; alta = acima do normal

(A) Carbamoil-fosfato-sintetase I
(B) Ornitina-transcarbamoilase
(C) Argininossuccinato-sintetase
(D) Argininossuccinato-liase
(E) Arginase

2. Os nitrogênios na uréia são diretamente derivados a partir de quais dos seguintes compostos?

(A) Ornitina e carbamoil-fosfato
(B) Ornitina e aspartato
(C) Ornitina e glutamato
(D) Carbamoil-fosfato e aspartato
(E) Carbamoil-fosfato e glutamina
(F) Aspartato e glutamina

3. Qual das seguintes enzimas pode fixar amônia em uma molécula orgânica?

(A) Alanina-piruvato-aminotransferase
(B) Glutaminase
(C) Glutamato-desidrogenase
(D) Arginase
(E) Argininossuccinato-sintetase

4. O piridoxal-fosfato, o qual é necessário para transaminações, também é necessário para qual das seguintes vias?

(A) Glicólise
(B) Gliconeogênese
(C) Glicogenólise
(D) Ciclo do TCA
(E) Oxidação de ácidos graxos

5. Qual dos seguintes é o principal passo regulatório do ciclo da uréia?

(A) Carbamoil-fosfato-sintetase I
(B) Ornitina-transcarbamoilase
(C) Argininossuccinato-sintetase
(D) Argininossuccinato-liase
(E) Arginase

39 Síntese e Degradação de Aminoácidos



Como regra geral, existem códons genéticos para 20 aminoácidos. Somente esses 20 aminoácidos comuns são incorporados nas proteínas durante o processo de síntese protéica. Após tal incorporação, ocorrem modificações nesses aminoácidos (como a síntese de hidroxiprolina no colágeno). A principal exceção a essa regra é a selenocisteína, a qual é um componente essencial de enzimas envolvidas em *scavenging* de radicais livres (como a glutationa-peroxidase-1; ver Capítulo 24). A selenocisteína tem um átomo de selênio no lugar do átomo de oxigênio da serina e é sintetizada enzimaticamente por uma reação que requer trifosfato de adenosina (ATP), selênio e serina ligada a um tRNA específico para selenocisteína. Essa reação utiliza duas ligações ricas em energia. O códon identificado pelo tRNA-selenocisteína é um códon de terminação no mRNA (UGA). A estrutura secundária do mRNA permite que os ribossomos e o tRNA reconheçam qual UGA é um códon de terminação e qual requer a inserção de selenocisteína.

Como cada um dos 20 aminoácidos comuns possui uma estrutura única, suas vias metabólicas diferem entre si. Apesar disso, algumas generalidades são aplicáveis tanto para a síntese quanto para a degradação de todos os aminoácidos. Essas informações estão resumidas nas próximas seções. Já que várias vias de aminoácidos são clinicamente relevantes, será apresentada a maioria das diversas vias que ocorrem em humanos; entretanto, do modo mais sucinto possível.

Coenzimas importantes: *O **piridoxal-fosfato** (derivado da vitamina B6) é a coenzima quintessencial do metabolismo dos aminoácidos. Na degradação, ele está envolvido na remoção de grupos amino, principalmente por meio das **reações de transaminação**, e na doação de grupos amino para várias vias de biossíntese de aminoácidos. Ele é requerido também para certas reações envolvendo o esqueleto de carbono dos aminoácidos. O **tetraidrofolato** (**FH_4**) é uma coenzima utilizada para transferir grupos de um carbono em vários estados de oxidação. O FH_4 é utilizado tanto na degradação (p. ex., serina e histidina) quanto na biossíntese (p. ex., glicina) de aminoácidos. A **tetraidrobiopterina** (**BH_4**) é um co-fator necessário para reações de hidroxilação de anel (p. ex., fenilalanina para tirosina).*

Síntese de aminoácidos: *Dos 20 aminoácidos comuns, 11 podem ser sintetizados no organismo (Figura 39.1). Os outros nove são considerados "**essenciais**" e devem ser obtidos da dieta. Quase todos os aminoácidos que podem ser sintetizados pelos seres humanos são utilizados para a síntese de compostos adicionais contendo nitrogênio. Os exemplos incluem glicina, a qual é utilizada para a síntese de porfirina e de purina; glutamato, o qual é requerido para a síntese de neurotransmissores e de purina, e aspartato, o qual é requerido para a biossíntese de purina e de pirimidina.*

*Nove dos 11 **aminoácidos "não-essenciais"** podem ser produzidos a partir de glicose mais, obviamente, uma fonte de nitrogênio como um outro aminoácido ou a amônia. Os outros dois aminoácidos não-essenciais, tirosina e cisteína, requerem um aminoácido essencial para as suas sínteses (fenilalanina para a síntese de tirosina e metionina para a de cisteína). Os carbonos para a síntese de cisteína vêm da glicose; a metionina doa apenas o enxofre.*

*Os esqueletos de carbono dos 10 aminoácidos derivados da glicose são produzidos a partir de intermediários da **glicólise** e do **ciclo do ácido tricarboxílico** (**TCA**) (ver Figura 39.1). Quatro aminoácidos (**serina**, **glicina**, **cisteína** e **alanina**) são produzidos a partir da glicose por meio de componentes da **via glicolítica**. Intermediários do ciclo do TCA (os quais podem ser produzidos a partir de glicose) fornecem carbonos para a síntese dos seis aminoácidos não-essenciais restantes. O α-cetoglutarato é o precursor para a síntese de glutamato, glutamina, prolina e arginina. O oxaloacetato fornece carbonos para a síntese de aspartato e asparagina.*

*A regulação da biossíntese dos aminoácidos individuais pode ser muito complexa, mas a característica dominante é que **as vias são reguladas por** **feedback**, de forma que, quando a **concentração de aminoácido livre aumenta**, a **enzima-chave** de biossíntese é **alostérica** ou **transcricionalmente inibida**. Os níveis de aminoácidos, entretanto, são sempre mantidos em níveis tais que as aminoacil-tRNA-sintetases possam permanecer ativas e a síntese protéica possa continuar.*

Degradação de aminoácidos: *As **vias de degradação** para os aminoácidos são, em geral, **diferentes das vias biossintéticas**. Isso permite a regulação independente*

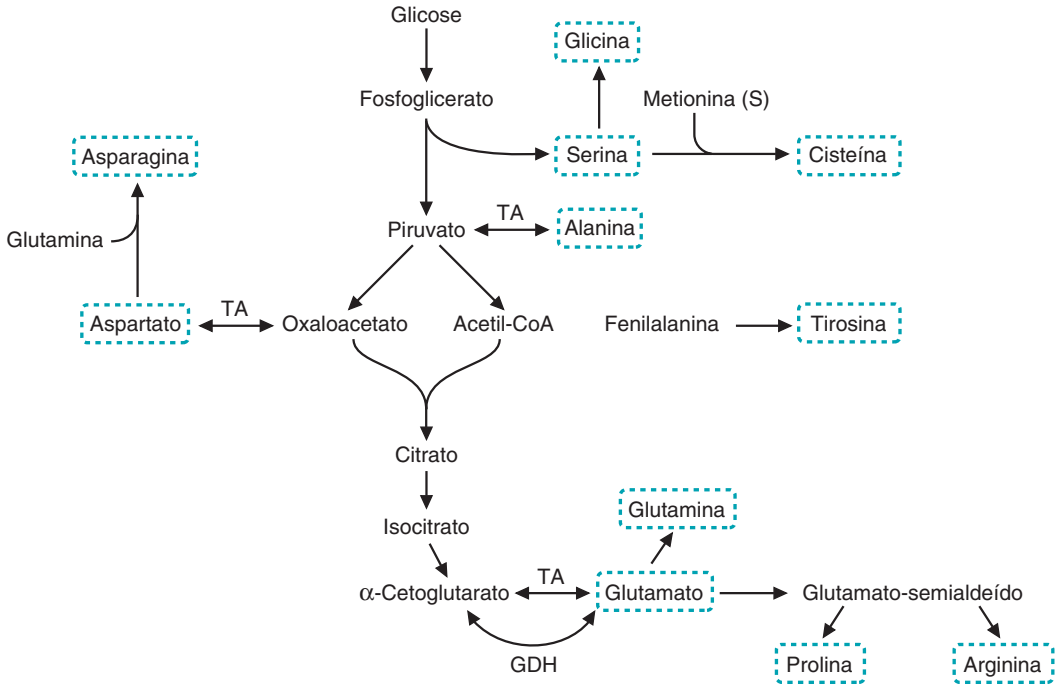


Figura 39.1 Visão geral da síntese de aminoácidos não-essenciais. Os carbonos de 10 aminoácidos podem ser produzidos a partir de glicose por intermediários da glicólise ou do ciclo do TCA. O 11º aminoácido não-essencial, a tirosina, é sintetizado por hidroxilação do aminoácido essencial fenilalanina. Somente o enxofre da cisteína vem do aminoácido essencial metionina; seus carbonos e o nitrogênio vêm da serina. As reações de transaminação (TA) envolvem piridoxal-fosfato (PLP) e um outro par aminoácido/α-cetoácido.

das vias anabólicas e catabólicas. Como a proteína é um substrato energético, quase todos os aminoácidos terão uma via degradativa que pode gerar NADH, o qual é utilizado como fonte de elétrons para a fosforilação oxidativa. Entretanto, a via de geração de energia pode envolver oxidação direta, oxidação no ciclo do TCA, conversão em glicose e, depois, oxidação ou conversão em ***corpos cetônicos****, os quais são em seguida oxidados.*

O destino dos carbonos dos aminoácidos depende do estado fisiológico do indivíduo e do tecido em que a degradação ocorre. Por exemplo, no fígado, durante o jejum, os esqueletos de carbono dos aminoácidos produzem glicose, corpos cetônicos e CO_2. No estado alimentado, o fígado pode converter intermediários do metabolismo dos aminoácidos em glicogênio e triacilgliceróis. Desse modo, ***o destino dos carbonos dos aminoácidos se assemelha ao da glicose e dos ácidos graxos****. O* ***fígado*** *é o único tecido que possui todas as vias de síntese e degradação dos aminoácidos.*

Quando os aminoácidos são degradados, seus ***carbonos*** *são convertidos em (a)* ***CO_2****, (b) compostos que produzem* ***glicose*** *no fígado (piruvato e os intermediários do ciclo do TCA – α-cetoglutarato, succinil-CoA, fumarato e oxaloacetato) e (c)* ***corpos cetônicos*** *ou seus precursores (acetoacetato e acetil-CoA) (Figura 39.2). Para simplificar, os aminoácidos são considerados como sendo* ***glicogênicos*** *– se os seus esqueletos de carbonos podem ser convertidos em precursores de glicose – e* ***cetogênicos*** *– se seus esqueletos de carbono podem ser diretamente convertidos em acetil-CoA ou acetoacetato. Alguns aminoácidos contêm carbonos que produzem um precursor de glicose e outros que produzem acetil-CoA ou acetoacetato. Esses aminoácidos são tanto glicogênicos quanto cetogênicos.*

*Os aminoácidos sintetizados a partir de intermediários da glicólise (****serina****,* ***alanina*** *e* ***cisteína****), juntamente com alguns outros aminoácidos (****treonina****,* ***glicina*** *e* ***triptofano****), produzem* ***piruvato*** *quando são degradados. Os aminoácidos sintetiza-*

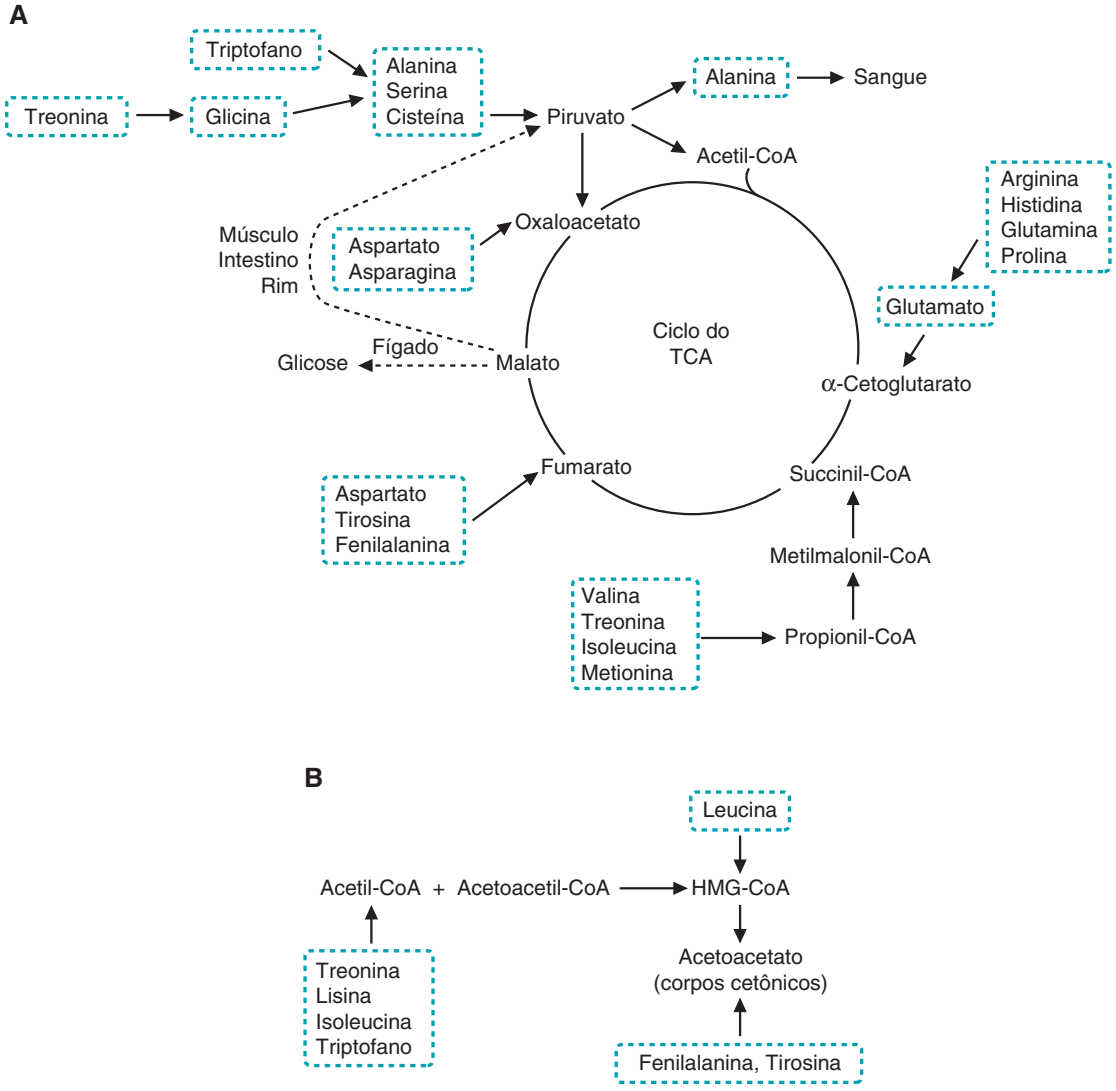


Figura 39.2 Degradação de aminoácidos. **A.** Aminoácidos que produzem piruvato ou intermediários do ciclo do TCA. Esses aminoácidos são considerados glicogênicos porque podem produzir glicose no fígado. O grupo de aminoácidos do fumarato produz fumarato citoplasmático. Mecanismos potenciais pelos quais o fumarato citoplasmático pode ser oxidado são apresentados na Seção III.C.1. **B.** Aminoácidos que produzem acetil-CoA ou corpos cetônicos. Tais aminoácidos são considerados cetogênicos.

*dos a partir de intermediários do ciclo do TCA (**aspartato**, **asparagina**, **glutamato**, **glutamina**, **prolina** e **arginina**) são reconvertidos nesses intermediários durante a degradação. A **histidina** é convertida em **glutamato** e, então, em um intermediário do ciclo do TCA, o **α-cetoglutarato**. A **metionina**, a **treonina**, a **valina** e a **isoleucina** formam **succinil-CoA,** e a **fenilalanina** (após a conversão em **tirosina**) forma **fumarato**. Como o piruvato e os intermediários do ciclo do TCA podem produzir glicose no fígado, esses aminoácidos são glicogênicos.*

*Alguns aminoácidos com carbonos que produzem glicose também contêm outros carbonos que produzem corpos cetônicos. O **triptofano**, a **isoleucina** e a **treonina** produzem **acetil-CoA**, e a **fenilalanina** e a **tirosina** produzem **acetoacetato**. Esses aminoácidos são glicogênicos e cetogênicos.*

*Dois dos aminoácidos essenciais (**lisina** e **leucina**) são estritamente **cetogênicos**. Eles não podem produzir glicose, mas somente acetoacetato e acetil-CoA.*

SALA DE ESPERA

Piquet Yuria, um bebê do sexo feminino de quatro meses, emigrou da União Soviética com sua mãe francesa e seu pai russo há um mês. Ela era normal ao nascimento, mas, nas últimas semanas, estava menos atenta do que o normal ao ambiente ao seu redor. Sua maturação psicomotora parecia atrasada, e um tremor apareceu recentemente em suas extremidades. Quando sua mãe a encontrou tendo movimentos convulsivos grosseiros em seu berço, levou o bebê para a emergência do hospital. Um pediatra examinou Piquet e imediatamente notou um odor fétido nas fraldas molhadas do bebê. Uma gota de seu sangue foi obtida por punção do pé e utilizada para realizar um teste de inibição bacteriana de Guthrie, utilizando um tipo especial de papel-filtro. Tal procedimento de triagem foi positivo para a presença de um excesso de fenilalanina no sangue de Piquet.

Homer Sistine, um menino de 14 anos de idade, teve uma convulsão do tipo grande mal (com movimentos de contração do tronco e da cabeça) na sua sala de aula da 8ª série. O médico da escola observou fraqueza leve dos músculos do lado esquerdo da face de Homer e de seu braço e sua perna esquerdos. Homer foi hospitalizado com uma suspeita de acidente vascular cerebral envolvendo o hemisfério cerebral direito, o qual, presumivelmente, disparou a convulsão.

A história médica pregressa de Homer era normal, exceto por um leve retardo mental que necessitou sua colocação em um grupo de educação especial. Ele também teve um deslocamento parcial dos cristalinos de ambos os olhos, para o qual foi submetido a um procedimento cirúrgico (uma iridectomia periférica).

Os déficits neurológicos do lado esquerdo de Homer melhoraram espontaneamente em três dias, mas uma tomografia axial computadorizada (CAT; do inglês, ***c****omputerized* ***a****xial* ***t****omogram*) mostrou alterações consistentes de um pequeno infarto (área lesada causada por uma perda temporária ou permanente do fluxo arterial sangüíneo adequado) no hemisfério cerebral direito. Um neurologista observou que Homer tinha uma marcha levemente trôpega, a qual sua mãe disse ter iniciado há vários anos e progredido com o tempo. Outros exames confirmaram a presença de diminuição da mineralização (calcificação diminuída) do esqueleto (chamada de osteopenia, se leve, e osteoporose, se mais grave) e níveis altos de metionina e homocisteína, mas baixos níveis de cistina, no sangue.

Todas essas informações, além do comprimento aumentado dos ossos longos das extremidades de Homer e uma leve curvatura de sua coluna (escoliose), levaram o médico a suspeitar que Homer pudesse ter um erro inato do metabolismo.

I. O PAPEL DOS CO-FATORES NO METABOLISMO DE AMINOÁCIDOS

O metabolismo dos aminoácidos requer a participação de três importantes co-fatores. O piridoxal-fosfato é a coenzima quintessencial do metabolismo de aminoácidos (ver Capítulo 38). Todas as reações de aminoácidos que requerem piridoxal-fosfato ocorrem com o grupo amino do aminoácido ligado covalentemente ao carbono aldeído da coenzima (Figura 39.3). O piridoxal-fosfato, então, atrai elétrons para longe das ligações em volta do carbono α. O resultado é transaminação, desaminação, descarboxilação, β-eliminação, racemização e γ-eliminação, dependendo da enzima e do aminoácido envolvidos.

A coenzima FH_4 é requerida em certas vias de aminoácidos tanto como aceptor quanto como doador de grupos de um carbono. O carbono pode estar em vários estados de oxidação. O Capítulo 40 descreve as reações do FH_4 de forma mais detalhada.

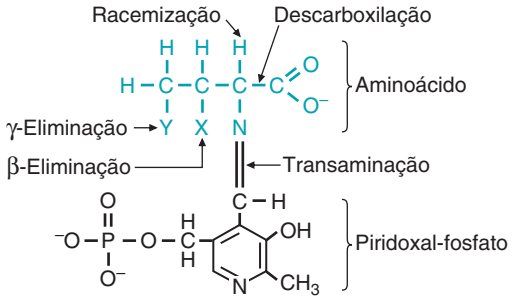


Figura 39.3 Piridoxal-fosfato covalentemente ligado a um substrato aminoácido. As setas indicam quais as ligações que são quebradas pelos vários tipos de reações nas quais o piridoxal-fosfato está envolvido. X e Y representam os grupos retirados que podem estar presentes no aminoácido (tais como grupo hidroxila de serina ou de treonina).

A coenzima BH_4 é requerida para hidroxilações de anel. As reações envolvem oxigênio molecular, e um átomo de oxigênio é incorporado ao produto. O segundo átomo de oxigênio é encontrado na água (ver Capítulo 24). O BH_4 é importante para a síntese de tirosina e de neurotransmissores (ver Capítulo 48).

II. AMINOÁCIDOS DERIVADOS DE INTERMEDIÁRIOS DA GLICÓLISE

Quatro aminoácidos são sintetizados a partir de intermediários da glicólise: serina, glicina, cisteína e alanina. A serina, a qual produz glicina e cisteína, é sintetizada a partir de 3-fosfoglicerato, e a alanina é formada por transaminação do piruvato, o produto da glicólise (Figura 39.4). Quando esses aminoácidos são degradados, seus átomos de carbono são convertidos em piruvato ou em intermediários da via glicolítica/gliconeogênica e, portanto, podem produzir glicose ou podem ser oxidados a CO_2.

A. Serina

Na biossíntese de serina a partir de glicose, o 3-fosfoglicerato é inicialmente oxidado a um composto 2-ceto (3-fosfoidroxipiruvato), o qual é, então, transaminado para formar fosfosserina (Figura 39.5). A fosfosserina-fosfatase remove o fosfato, formando serina. Os principais locais de síntese de serina são o fígado e o rim.

A serina pode ser utilizada por vários tecidos e é, em geral, degradada por transaminação a hidroxipiruvato, seguida por redução e fosforilação para formar 2-fosfoglicerato, um intermediário da glicólise que forma PEP e, subseqüentemente, piruvato. A serina também pode sofrer β-eliminação de seu grupo hidroxila, catalisada pela serina-desidratase, para formar piruvato.

Mecanismos regulatórios mantêm os níveis de serina no organismo. Quando os níveis de serina diminuem, sua síntese é aumentada por indução da 3-fosfoglicerato-desidrogenase e pela liberação da inibição por *feedback* da fosfosserina-fosfatase (tal inibição é causada pelos altos níveis de serina). Quando os níveis aumentam, a síntese de serina diminui, pois a síntese da desidrogenase é reprimida, e a fosfatase é inibida (ver Fig 39.5).

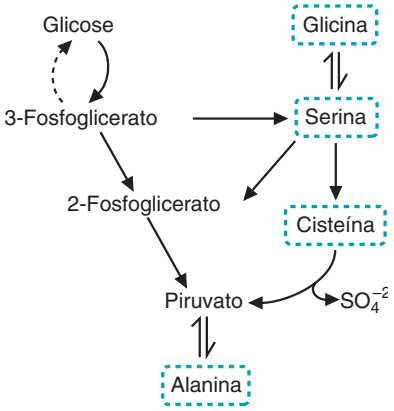


Figura 39.4 Aminoácidos derivados de intermediários da glicólise. Esses aminoácidos podem ser sintetizados a partir de glicose. Seus carbonos podem ser reconvertidos em glicose no fígado.

B. Glicina

A glicina pode ser sintetizada a partir de serina e, em menor proporção, de treonina. A principal rota a partir da serina é através de uma reação reversível que envolve o FH_4 e o piridoxal-fosfato (Figura 39.6). O tetraidrofolato é uma coenzima que transfere grupos de um carbono em diferentes estados de oxidação. Ele é derivado da vitamina folato e será discutido com mais detalhe no Capítulo 40. A via secundária para a produção de glicina envolve a degradação da treonina (essa é uma reação semelhante à da

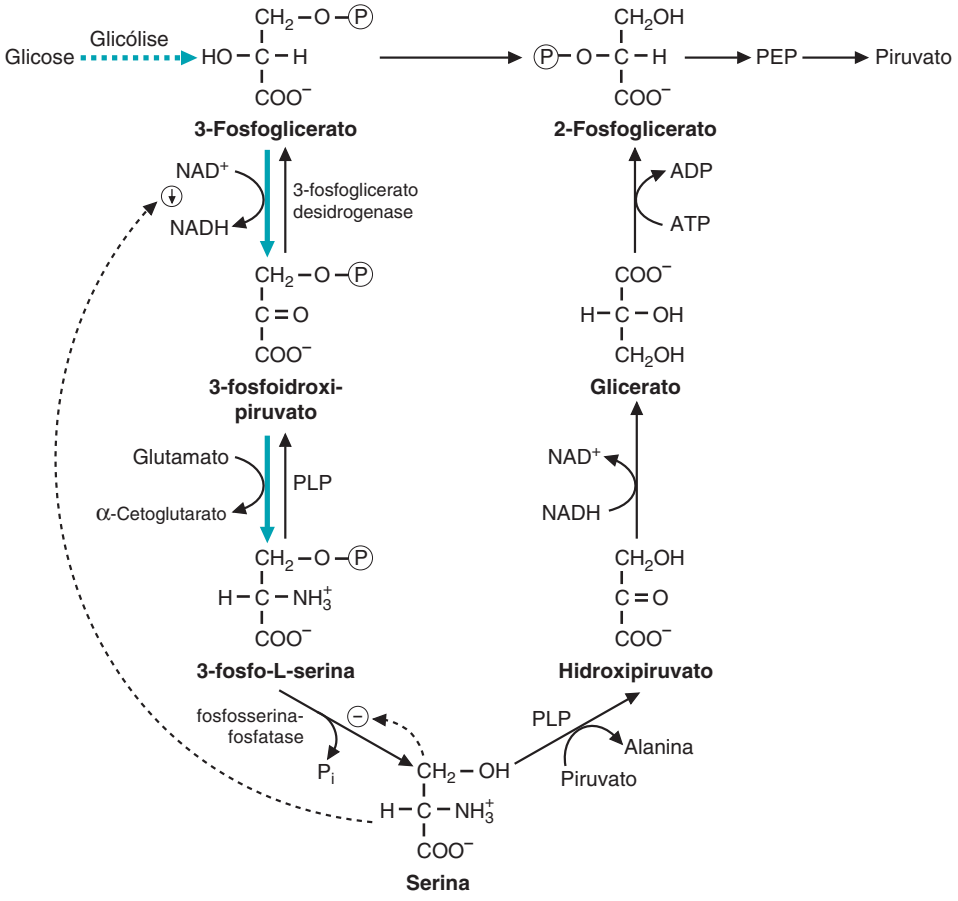


Figura 39.5 A principal via para a síntese de serina a partir de glicose está à esquerda e, para a degradação, à direita. Os níveis de serina são mantidos, pois ela causa repressão Ⓓ da síntese de 3-fosfoglicerato-desidrogenase, e também inibe Ⓘ a fosfosserina-fosfatase.

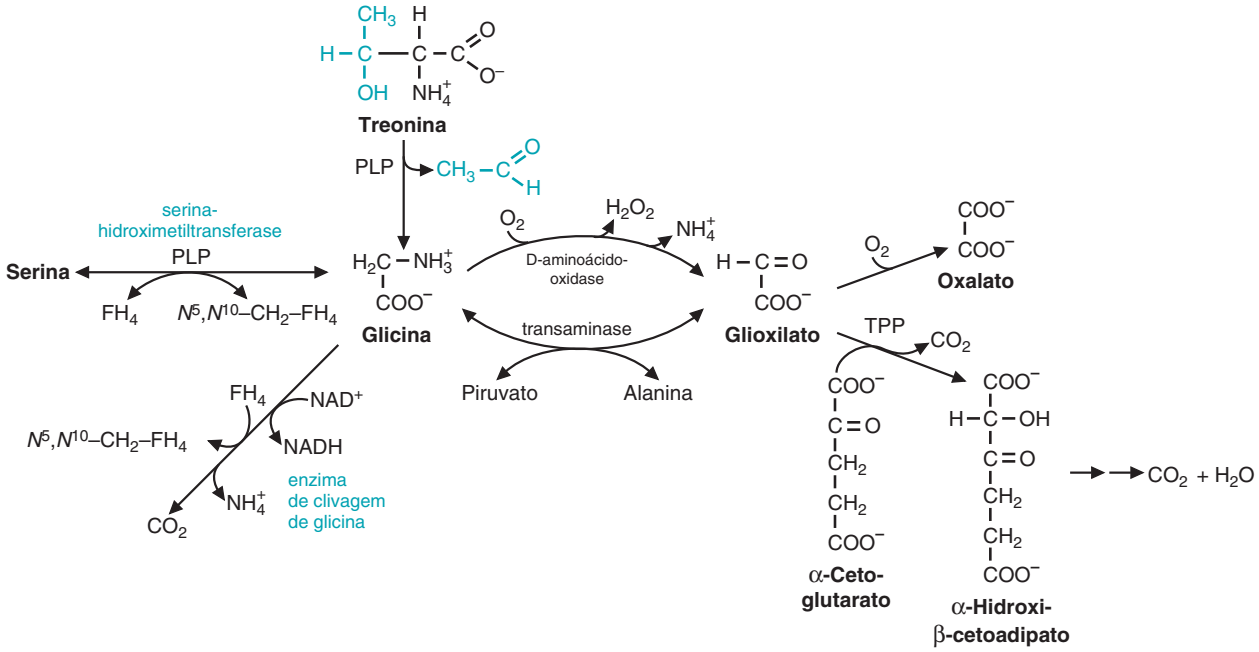


Figura 39.6 Metabolismo da glicina. A glicina pode ser sintetizada a partir da serina (a rota principal) ou treonina. A glicina forma serina ou CO_2 e NH_4^+ por meio de reações que requerem tetraidrofolato (FH_4). A glicina também forma glioxilato, o qual é convertido em oxalato ou em CO_2 e H_2O.

O oxalato produzido a partir da glicina ou obtido da dieta forma precipitados com cálcio. As pedras nos rins (cálculos renais) são freqüentemente compostas por oxalato de cálcio. A falta de uma transaminase que pode converter glioxilato em glicina (ver Figura 39.6) leva à doença oxalúria primária tipo I (PH1), a qual tem como conseqüência a falência renal, atribuída ao acúmulo excessivo de oxalato no rim.

A cistationinúria, presença de cistationina na urina, é relativamente comum em bebês prematuros. Conforme eles se desenvolvem, os níveis de cistationase aumentam, e os níveis de cistationina na urina diminuem.

Em adultos, uma deficiência genética da cistationase causa cistationinúria. Indivíduos com uma cistationase geneticamente normal também podem desenvolver cistationinúria por uma deficiência dietética de piridoxina (vitamina B6), uma vez que a cistationase requer o co-fator piridoxal-fosfato. Nenhuma característica de anormalidade clínica tem sido observada em indivíduos com deficiência de cistationase, e essa é, provavelmente, uma doença benigna.

A cistinúria e a cistinose são distúrbios que envolvem duas proteínas diferentes de transporte para cistina, o dissulfeto formado a partir de duas moléculas de cisteína. A cistinúria é causada por um defeito na proteína de transporte que carrega cistina, lisina, arginina e ornitina para dentro das células do epitélio intestinal e que permite a reabsorção desses aminoácidos nas células tubulares renais. A cistina, a qual não é muito solúvel na urina, forma cálculos renais (pedras). **Cal Kulis**, um paciente com cistinúria, desenvolveu pedras de cistina (ver Capítulo 37).

A cistinose é uma doença rara causada por um defeito no carreador que normalmente transporta cistina através da membrana lisossomal, a partir de vesículas lisossomais, para o citosol. A cistina se acumula nos lisossomos em vários tecidos e forma cristais, prejudicando suas funções. Crianças com esse distúrbio desenvolvem insuficiência renal entre 6 e 12 anos de idade.

A alanina-aminotransferase (ALT) e a aspartato-aminotransferase (AST) são liberadas do fígado quando as células hepáticas sofrem injúria. A medida dessas duas transaminases no soro (ALT e AST) é um dos testes laboratoriais-padrão para dano hepático causado por uma variedade de condições.

aldolase, já que a treonina contém um grupo hidroxila localizado a dois carbonos do grupo carbonila).

A conversão de glicina em glioxilato pela enzima D-aminoácido-oxidase é uma via de degradação da glicina que é clinicamente importante. Uma vez formado, o glioxilato pode ser oxidado a oxalato, o qual é moderadamente solúvel e tende a precipitar nos túbulos renais, levando à formação de pedras nos rins. Cerca de 40% da formação do oxalato no fígado são provenientes do metabolismo da glicina. Estima-se que o oxalato da dieta tenha uma pequena contribuição para o oxalato excretado na urina, devido à ineficiente absorção intestinal desse composto.

Embora o glioxilato possa ser transaminado de volta a glicina, isso não é considerado de fato uma rota biossintética de "nova" glicina, já que a rota primária para a formação de glioxilato é a partir da oxidação da glicina.

A produção de energia a partir da glicina ocorre por meio de uma desidrogenase (enzima de clivagem da glicina), a qual oxida glicina a CO_2, amônia e um carbono, o qual é doado ao FH_4.

C. Cisteína

Os carbonos e o nitrogênio para a síntese de cisteína são fornecidos pela serina, e o enxofre é fornecido pela metionina (Figura 39.7). A serina reage com a homocisteína (a qual é produzida a partir da metionina) para formar cistationina. Essa reação é catalisada pela cistationina-β-sintase. A clivagem da cistationina pela cistationase produz cisteína e α-cetobutirato, o qual forma succinil-CoA via propionil-CoA. Tanto a cistationina β-sintase (β-eliminação) quanto a cistationase (γ-eliminação) requerem PLP.

A cisteína inibe a cistationina-β-sintase e, portanto, regula sua própria síntese, a fim de se adaptar em relação ao suprimento dietético de cisteína. Já que a cisteína obtém seu enxofre do aminoácido essencial metionina, ela se torna essencial se o suprimento de metionina for inadequado para a sua síntese. Reciprocamente, uma fonte dietética adequada de cisteína "poupa" metionina, ou seja, diminui a quantidade que deve ser degradada para produzir cisteína.

Quando a cisteína é degradada, o nitrogênio é convertido em uréia, os carbonos, em piruvato, e o enxofre, em sulfato, o qual tem dois destinos possíveis (ver Figura 39.7 e Capítulo 43). A geração de sulfato em meio aquoso é essencialmente a geração de ácido sulfúrico, e ambos, o ácido e o sulfato, precisam ser eliminados na urina. O sulfato também é utilizado na maioria das células para gerar uma forma ativada de sulfato conhecida como PAPS (3'-fosfoadenosina-5'-fosfossulfato), a qual é utilizada como um doador de sulfato, modificando carboidratos ou aminoácidos em várias estruturas (glicosaminoglicanos) e proteínas do organismo.

A conversão de metionina em homocisteína e dessa em cisteína é a principal rota degradativa para esses dois aminoácidos. Como essa é a única rota degradativa de homocisteína, a deficiência de vitamina B6 ou a deficiência congênita de cistationina-β-sintase pode resultar em homocisteinemia, a qual é associada à doença cardiovascular.

D. Alanina

A alanina é produzida a partir de piruvato por uma reação de transaminação catalisada pela alanina-aminotransferase (ALT) e pode ser convertida de volta em piruvato pela reversão da mesma reação (ver Figura 39.4). A alanina é o principal aminoácido gliconeogênico, uma vez que é produzida em vários tecidos para o transporte do nitrogênio para o fígado.

III. AMINOÁCIDOS RELACIONADOS A INTERMEDIÁRIOS DO CICLO DO TCA

Dois grupos de aminoácidos são sintetizados a partir de intermediários do ciclo do TCA; um grupo, a partir de α-cetoglutarato, e o outro, a partir de oxaloacetato (ver Figura 39.2). Durante a degradação, quatro grupos de aminoácidos são convertidos nos intermediários do ciclo do TCA α-cetoglutarato, oxaloacetato, succinil-CoA e fumarato (ver Figura 39.3A).

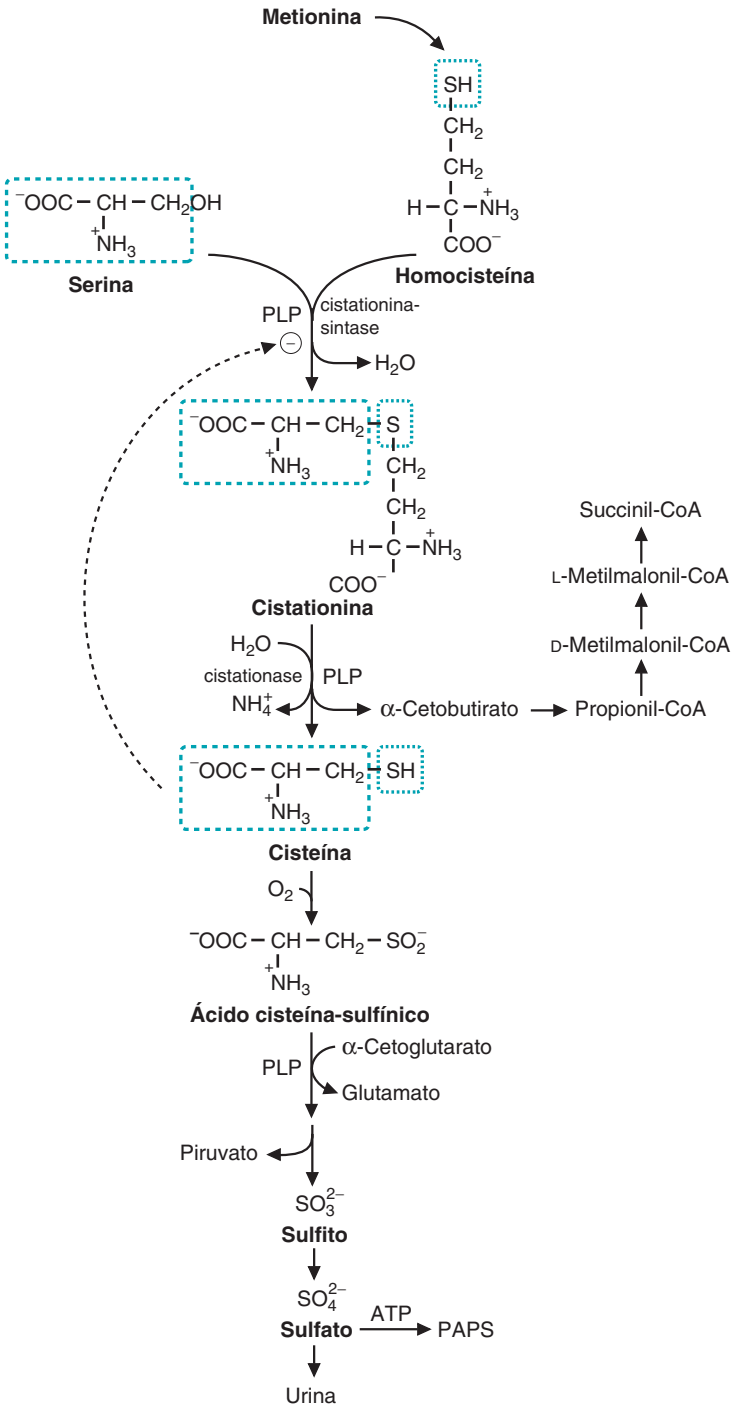
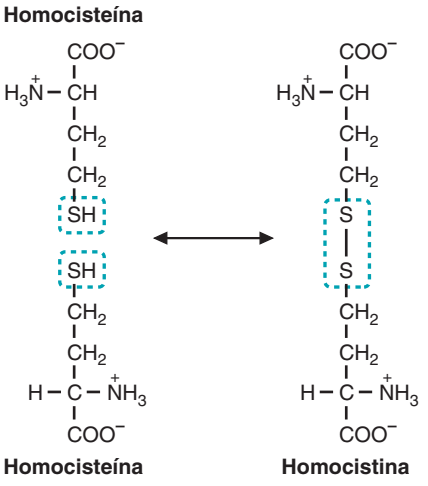


Figura 39.7 Síntese e degradação de cisteína. A cisteína é sintetizada a partir dos carbonos e do nitrogênio da serina e do enxofre da homocisteína (a qual é derivada da metionina). Durante a degradação da cisteína, o enxofre é convertido em sulfato, o qual pode ser excretado na urina ou convertido em PAPS (doador universal de sulfato; 3′-fosfoadenosina-5′-fosfossulfato), e os carbonos são convertidos em piruvato.

Q: A homocisteína é oxidada a um dissulfeto, a homocistina. Para indicar que ambas as formas estão sendo consideradas, é utilizado o termo homocist(e)ina.



Uma vez que um teste colorimétrico de triagem para homocistina urinária foi positivo, o médico solicitou vários estudos bioquímicos no soro de **Homer Sistine**, os quais incluíam testes para metionina, homocist(e)ina (tanto livre quanto ligada a proteína), cistina, vitamina B12 e folato. O nível de homocistina em uma coleta de urina de 24 horas também foi medido.

Os resultados foram os seguintes: o nível de metionina no soro foi 980 μM (valor de referência < 30), a homocist(e)ina no soro (tanto livre quanto ligada a proteína) foi marcadamente elevada, a cistina não foi detectada no soro, e os níveis de B12 e folato no soro foram normais. O nível de homocistina na urina de 24 horas foi elevado.

Com base nessas medidas, o médico de **Homer Sistine** concluiu que ele tem homocistinúria causada pela deficiência de uma enzima. Qual foi a razão para essa conclusão?

R: Se os níveis sangüíneos de metionina e homocisteína estão muito elevados e o de cistina está baixo, a cistationina-β-sintase pode estar defeituosa, mas uma deficiência de cistationase é também uma possibilidade. Com uma deficiência de qualquer uma dessas enzimas, a cisteína não poderia ser sintetizada, e os níveis de homocisteína poderiam aumentar. A homocisteína poderia ser convertida em metionina por reações que requerem vitamina B12 e tetraidrofolato (ver Capítulo 40). Além disso, ela poderia ser oxidada a homocistina, a qual iria aparecer na urina. Os níveis de cisteína (medidos pelo seu produto de oxidação, a cistina) seriam baixos. A medida dos níveis de cistationina no soro auxiliaria a distinguir entre a deficiência de cistationase ou de cistationina β-sintase.

A. Aminoácidos Relacionados Diretamente com α-Cetoglutarato/Glutamato

1. GLUTAMATO

Os cinco carbonos do glutamato são derivados do α-cetoglutarato por transaminação ou pela reação de glutamato-desidrogenase (ver Capítulo 38). Como o α-cetoglutarato pode ser sintetizado a partir da glicose, todos os carbonos do glutamato podem ser obtidos dessa (ver Figura 39.2). Quando o glutamato é degradado, ele é, do mesmo modo, convertido de volta em α-cetoglutarato por transaminação ou pela glutamato-desidrogenase. No fígado, o α-cetoglutarato leva à formação de malato, o qual produz glicose pela gliconeogênese. Portanto, o glutamato pode ser derivado da glicose ou ser reconvertido em glicose (Figura 39.8).

O glutamato é utilizado para a síntese de vários outros aminoácidos (glutamina, prolina, ornitina e arginina) (ver Figura 39.8) e para fornecer a porção glutamil da glutationa (γ-glutamil-cisteinil-glicina; ver Comentários Bioquímicos do Capítulo 37). A glutationa é um importante antioxidante, como foi descrito anteriormente (ver Capítulo 24).

2. GLUTAMINA

A glutamina é produzida a partir do glutamato pela glutamina-sintetase, a qual adiciona NH_4^+ ao grupo carboxila da cadeia lateral, formando uma amida (Figura 39.9). A glutamina-sintase é uma das três únicas enzimas humanas que podem fixar amônia livre em uma molécula orgânica; as outras duas são a glutamato-desidrogenase e a carbamoil-fosfato-sintetase I (ver Capítulo 38). A glutamina é reconvertida em glutamato por uma enzima diferente, a glutaminase, a qual é particularmente importante no rim. A amônia que ela produz vai para a urina e pode ser utilizada como um cátion descartável para auxiliar na excreção de ácidos metabólicos ($NH_3 + H^+ \rightarrow NH_4^+$).

3. PROLINA

Na síntese de prolina, o glutamato é primeiramente fosforilado e, então, convertido em glutamato-5-semialdeído pela redução do grupo carboxila da cadeia lateral a um alde-

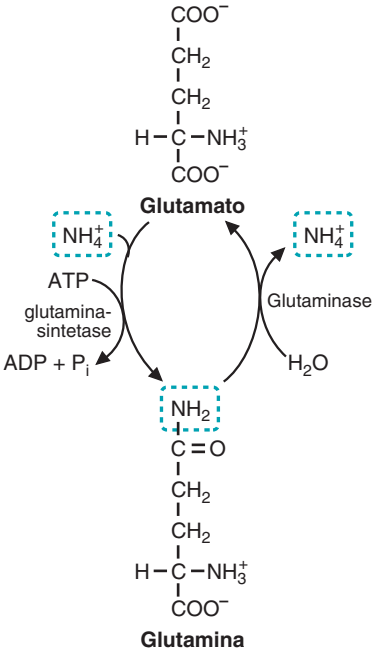


Figura 39.9 Síntese e degradação de glutamina. Enzimas diferentes catalisam a adição e a remoção do nitrogênio amida da glutamina.

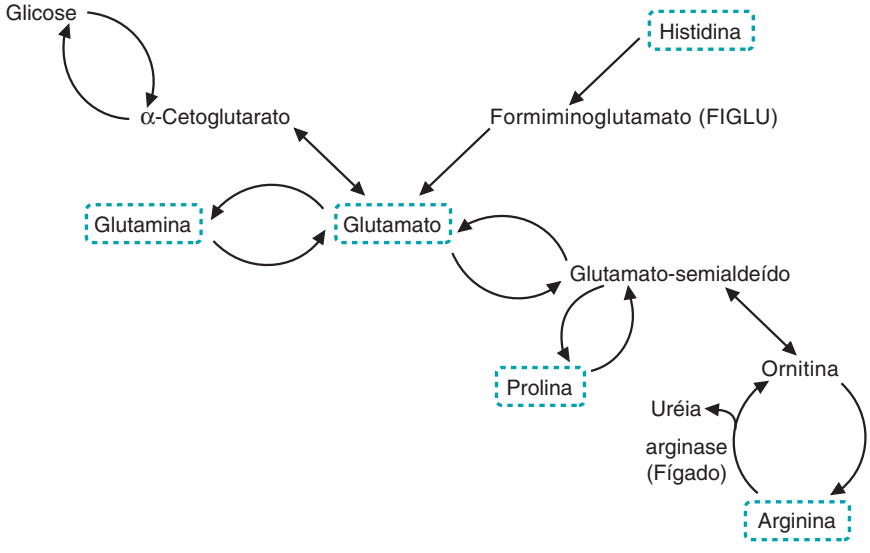


Figura 39.8 Aminoácidos relacionados diretamente com o glutamato. Tais aminoácidos contêm carbonos que podem ser reconvertidos em glutamato, o qual pode se converter em glicose no fígado. Todos esses aminoácidos, exceto a histidina, podem ser sintetizados a partir da glicose.

ído (Figura 39.10). Esse semialdeído se torna cíclico espontaneamente (formando uma base de Schiff interna entre o aldeído e o grupo α-amino). A redução desse composto cíclico produz prolina. A hidroxiprolina somente é formada após a prolina ter sido incorporada no colágeno (ver Capítulo 49) pelo sistema prolil-hidroxilase, o qual utiliza oxigênio molecular, ferro, α-cetoglutarato e ácido ascórbico (vitamina C).

A prolina é convertida de volta em glutamato-semialdeído, o qual é reduzido para formar glutamato. A síntese e a degradação de prolina utilizam enzimas diferentes, mesmo os intermediários sendo os mesmos. A hidroxiprolina, porém, tem uma via degradativa completamente diferente (não-mostrada). A presença de um grupo hidroxila na hidroxiprolina irá permitir que uma reação tipo-aldolase ocorra uma vez que o anel tenha sido hidrolisado, o que não é possível com a prolina.

4. ARGININA

A arginina é sintetizada a partir do glutamato via glutamato-semialdeído, o qual é transaminado para formar ornitina, um intermediário do ciclo da uréia (ver Capítulo 38 e Figura 39.11). Tal atividade (ornitina-aminotransferase) parece ser maior nas células epiteliais do intestino delgado (ver Capítulo 42). As reações do ciclo da uréia, então, produzem arginina, entretanto a quantidade de arginina gerada pelo ciclo da uréia é adequada somente para adultos, sendo insuficiente para sustentar o crescimento. Por essa razão, durante períodos de crescimento, ela se torna um aminoácido essencial. É importante constatar que, se a arginina é utilizada para a síntese protéica, o nível de ornitina irá diminuir, conseqüentemente diminuindo a velocidade do ciclo da uréia. Isso irá estimular a formação de ornitina a partir de glutamato.

A arginina é clivada pela arginase para formar uréia e ornitina. Se a ornitina está presente em quantidades que ultrapassem aquelas requeridas para o ciclo da uréia, ela é transaminada a glutamato-semialdeído, o qual é reduzido a glutamato. A conversão de um aldeído em uma amina primária é uma forma exclusiva de uma reação de transaminação e requer piridoxal-fosfato (PLP).

5. HISTIDINA

Embora a histidina não possa ser sintetizada em seres humanos, cinco de seus carbonos formam glutamato quando ela é degradada. Por uma série de reações, a histidina é convertida em formiminoglutamato (FIGLU). As reações subseqüentes transferem um carbono do FIGLU para o *pool* de FH_4 (ver Capítulo 40) e liberam NH_4^+ e glutamato (Figura 39.12).

B. Aminoácidos Relacionados ao Oxaloacetato (Aspartato e Asparagina)

O aspartato é produzido por transaminação do oxaloacetato. Tal reação é prontamente reversível, portanto o aspartato pode ser reconvertido em oxaloacetato (Fig 39.13).

A asparagina é formada a partir do aspartato por uma reação na qual a glutamina fornece o nitrogênio para a formação do grupo amida. Portanto, essa reação difere da de síntese de glutamina a partir de glutamato, na qual NH_4^+ fornece o nitrogênio. Entretanto, a reação catalisada pela asparaginase, a qual hidrolisa asparagina em NH_4^+ e aspartato, é análoga à reação catalisada pela glutaminase.

C. Aminoácidos Que Formam Fumarato

1. ASPARTATO

Embora a principal rota para a degradação do aspartato envolva a sua conversão em oxaloacetato, os carbonos do aspartato podem formar fumarato no ciclo da uréia (ver Capítulo 38). Essa reação gera fumarato citosólico, o qual deve ser convertido em malato (utilizando a fumarase citoplasmática) para ser transportado para dentro da mitocôndria com finalidade oxidativa ou anaplerótica. Uma seqüência análoga de reações ocorre no ciclo dos nucleotídeos da purina. O aspartato reage com o monofosfato de inosina (IMP) para formar um intermediário (adenilossuccinato), o qual é clivado, formando monofosfato de adenosina (AMP) e fumarato (ver Capítulo 41).

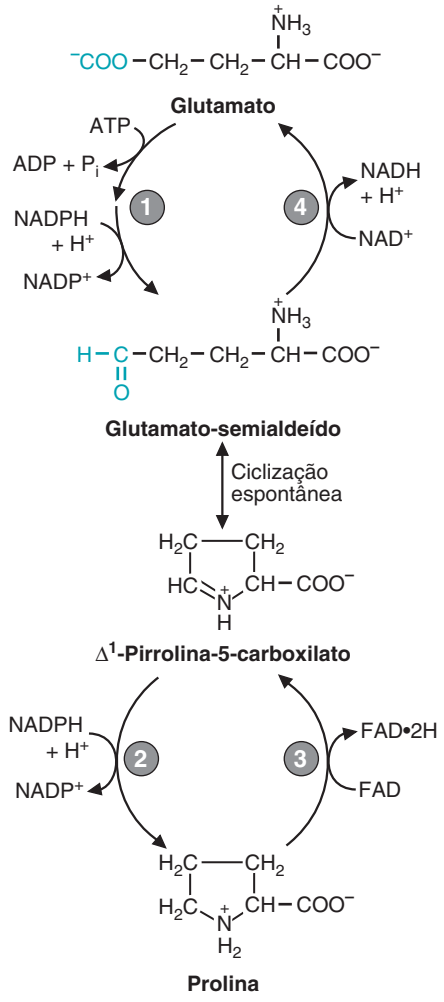


Figura 39.10 Síntese e degradação de prolina. As reações 1, 3 e 4 ocorrem nas mitocôndrias. A reação 2 ocorre no citosol. A síntese e a degradação envolvem enzimas diferentes. A reação de ciclização (formação de uma base de Schiff) é não-enzimática, isto é, espontânea.

Certos tipos de células tumorais, particularmente as leucêmicas, requerem asparagina para o seu crescimento. Portanto, a asparaginase tem sido utilizada como um agente antitumoral. Ela age convertendo a asparagina em aspartato no sangue, diminuindo a quantidade de asparagina disponível para o crescimento da célula tumoral.

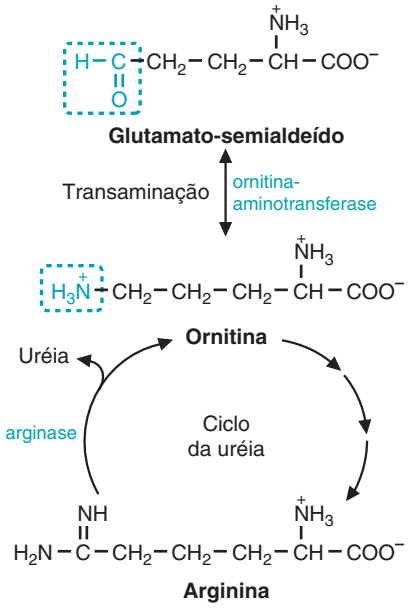


Figura 39.11 Síntese e degradação de arginina. Os carbonos da ornitina são derivados do glutamato-semialdeído, o qual é derivado do glutamato. As reações do ciclo da uréia convertem ornitina em arginina. A arginase converte arginina de volta em ornitina pela liberação de uréia.

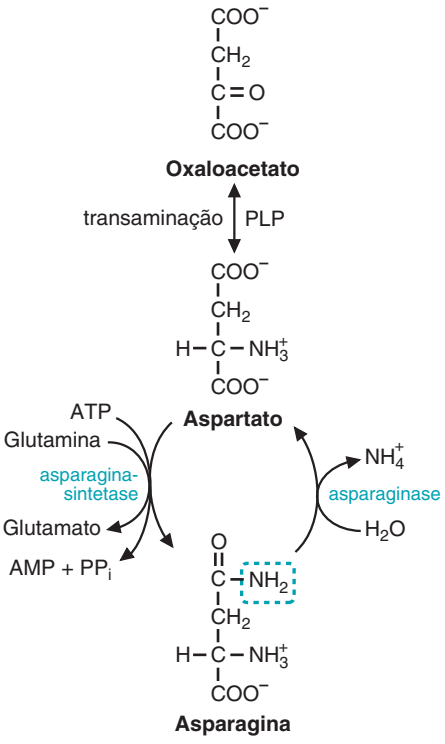


Figura 39.13 Síntese e degradação de aspartato e asparagina. Observe que o nitrogênio amida da asparagina é derivado da glutamina. (O nitrogênio amida da glutamina vem do NH_4^+, ver Figura 39.9).

2. FENILALANINA E TIROSINA

A fenilalanina é convertida em tirosina por uma reação de hidroxilação. A tirosina, produzida a partir da fenilalanina ou obtida da dieta, é oxidada, finalmente formando acetoacetato e fumarato. Os passos oxidativos requeridos para atingir esse ponto são, surpreendentemente, não-geradores de energia. A conversão de fumarato em malato, seguida pela ação da enzima málica, permite que os carbonos possam ser utilizados para a gliconeogênese. A conversão de fenilalanina em tirosina e a produção de acetoacetato são descritas na Seção IV deste capítulo.

D. Aminoácidos que Formam Succinil-CoA

Os aminoácidos essenciais metionina, valina, isoleucina e treonina são degradados para formar propionil-CoA. A conversão de propionil-CoA em succinil-CoA é comum às vias degradativas desses aminoácidos essenciais. O propionil-CoA também é gerado na oxidação de ácidos graxos de cadeia ímpar.

O propionil-CoA é carboxilado em uma reação que requer biotina e forma D-metilmalonil-CoA. Esse é racemizado a L-metilmalonil-CoA, o qual é rearranjado em uma reação que requer vitamina B12 para produzir succinil-CoA, um intermediário do ciclo do TCA (ver Figura 23.11).

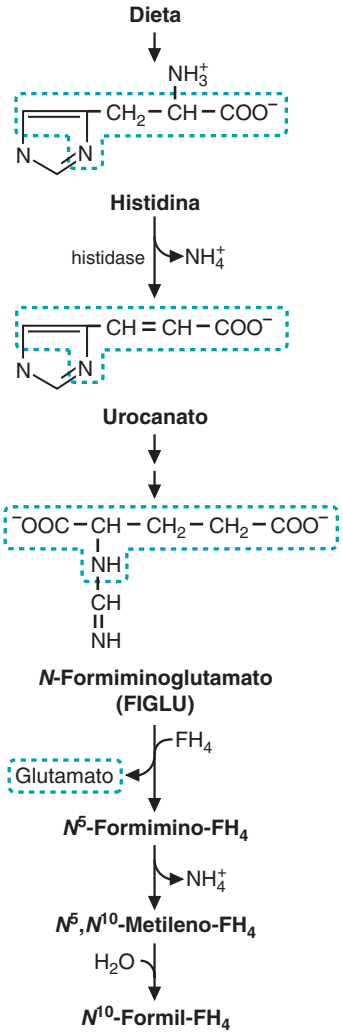


Figura 39.12 Degradação da histidina. A porção da histidina em destaque forma glutamato. O restante da molécula fornece um carbono para o *pool* de tetraidrofolato (FH_4) (ver Capítulo 40) e libera NH_4^+.

1. METIONINA

A metionina é convertida em *S*-adenosilmetionina (SAM), a qual doa o seu grupo metila para outros compostos para formar S-adenosil-homocisteína (SAH). A SAH é, então, convertida em homocisteína (Figura 39.14). A metionina pode ser regenerada a partir da homocisteína por uma reação que requer tanto FH_4 quanto vitamina B12 (um tópico que é considerado com mais detalhes no Capítulo 40). Alternativamente, por reações que requerem PLP, a homocisteína pode fornecer o enxofre necessário para a síntese de cisteína (ver Figura 39.7). Os carbonos da homocisteína são, então, metabolizados a α-cetobutirato, o qual sofre descarboxilação oxidativa a propionil-CoA. O propionil-CoA é, então, convertido em succinil-CoA (ver Figura 39.14).

2. TREONINA

Em seres humanos, a treonina é principalmente degradada por uma desidratase dependente de PLP a amônia e α-cetobutirato, o qual, subseqüentemente, sofre descarboxilação oxidativa para formar propionil-CoA, exatamente como no caso da metionina (ver Figura 39.14).

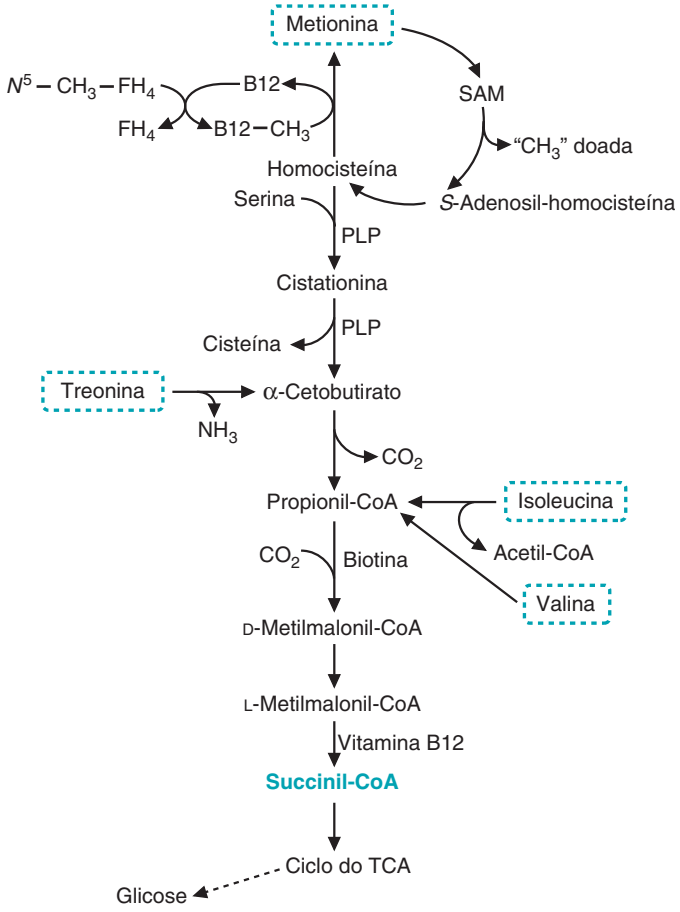


Figura 39.14 Conversão de aminoácidos em succinil-CoA. Os aminoácidos metionina, treonina, isoleucina e valina, que formam succinil-CoA via metilmalonil-CoA, são essenciais na dieta. Os carbonos da serina são convertidos em cisteína e não formam succinil-CoA via metilmalonil-CoA. SAM = *S*-adenosilmetionina.

A conversão da α-cetobutirato em propionil-CoA é catalisada pela piruvato-desidrogenase ou pela desidrogenase de α-cetoácidos de cadeia ramificada.

A homocistinúria é causada pelas deficiências das enzimas cistationina-β-sintase e cistationase, bem como pelas deficiências de metil-tetraidrofolato (CH_3-FH_4) ou de metil-B12. As deficiências de CH_3-FH_4 ou de metil-B12 são devidas a uma ingestão dietética inadequada de folato ou de B12 ou a enzimas defeituosas envolvidas na ligação de grupos metila ao tetraidrofolato (FH_4), na transferência de grupos metila do FH_4 para a B12 ou na passagem destes da B12 para a homocisteína para formar metionina (ver Capítulo 40).

A homocistinúria de **Homer Sistine** é causada por algum desses problemas?

R: Os níveis de metionina de **Homer Sistine** são elevados, e os de B12 e folato são normais. Portanto, ele não deve ter uma deficiência dietética de folato ou de B12, ou das enzimas que transferem grupos metila a partir do tetraidrofolato para homocisteína para formar metionina. Nesses casos, os níveis de homocisteína são elevados, mas os de metionina são baixos.

Uma amostra de biópsia do fígado de **Homer Sistine** foi enviada para o laboratório de análises bioquímicas do hospital para ensaios enzimáticos. A atividade da cistationina-β-sintase foi relatada como sendo 7% da encontrada em um fígado normal.

A deficiência de tiamina levará a um acúmulo de α-cetoácidos no sangue devido a uma incapacidade da piruvato-desidrogenase, da α-cetoglutarato-desidrogenase e da desidrogenase de α-cetoácido de cadeia ramificada em catalisar as suas reações (ver Capítulo 8). **Al Martini** teve uma deficiência de tiamina resultante de seu alcoolismo crônico. Sua cetoacidose resultou tanto do acúmulo desses α-cetoácidos em seu sangue quanto do acúmulo de corpos cetônicos utilizados para a produção de energia.

Q: Que compostos formam succinil-CoA via propionil-CoA e metilmalonil-CoA?

Na doença do xarope de bordo, a desidrogenase de α-cetoácido de cadeia ramificada, que descarboxila oxidativamente os aminoácidos de cadeia ramificada, está defeituosa. Como resultado, os aminoácidos de cadeia ramificada e seus análogos α-ceto (produzidos por transaminação) se acumulam. Eles aparecem na urina, dando a ela um odor de xarope de bordo ou açúcar queimado. O acúmulo de análogos α-ceto leva a complicações neurológicas. Essa doença é difícil de tratar por restrição dietética, já que anormalidades no metabolismo de três aminoácidos essenciais contribuem para a doença.

3. VALINA E ISOLEUCINA

Os aminoácidos de cadeia ramificada (valina, isoleucina e leucina) são um substrato energético universal. Sua degradação ocorre em baixos níveis na mitocôndria da maioria dos tecidos, sendo o músculo o que mais realiza tal processo. Esses aminoácidos representam aproximadamente 25% do conteúdo de proteínas comuns, portanto o seu uso como substrato energético é muito significativo. A via degradativa da valina e da isoleucina tem duas funções principais, sendo a primeira a geração de energia, e a segunda, o fornecimento de precursores para repor intermediários do ciclo do TCA (anaplerose). A valina e a isoleucina, dois dos três aminoácidos de cadeia ramificada, contêm carbonos que formam succinil-CoA. O passo inicial na degradação dos aminoácidos de cadeia ramificada é uma reação de transaminação. Embora a enzima que catalisa tal reação esteja presente na maioria dos tecidos, seus níveis de atividade variam de um tecido para outro. Entretanto, sua atividade é particularmente alta no músculo. No segundo passo da via degradativa, os análogos α-ceto desses aminoácidos sofrem descarboxilação oxidativa pelo complexo α-cetoácido-desidrogenase em uma reação similar em seu mecanismo e requerimento de co-fatores à da piruvato-desidrogenase e à da α-cetoglutarato-desidrogenase (ver Capítulo 20). Como ocorre com a primeira enzima da via, o nível mais alto de atividade dessa desidrogenase é encontrado no tecido muscular. Subseqüentemente, a via de degradação desses aminoácidos segue uma rota paralela (Fig 39.15). Os passos são análogos àqueles para a β-oxidação de ácidos graxos, de modo que NADH e FAD(2H) são gerados para a produção de energia.

A valina e a isoleucina são convertidas em succinil-CoA (ver Figura 39.14). A isoleucina também forma acetil-CoA. A leucina, o terceiro aminoácido de cadeia ramificada, não produz succinil-CoA; ele forma acetoacetato e acetil-CoA e é estritamente cetogênico.

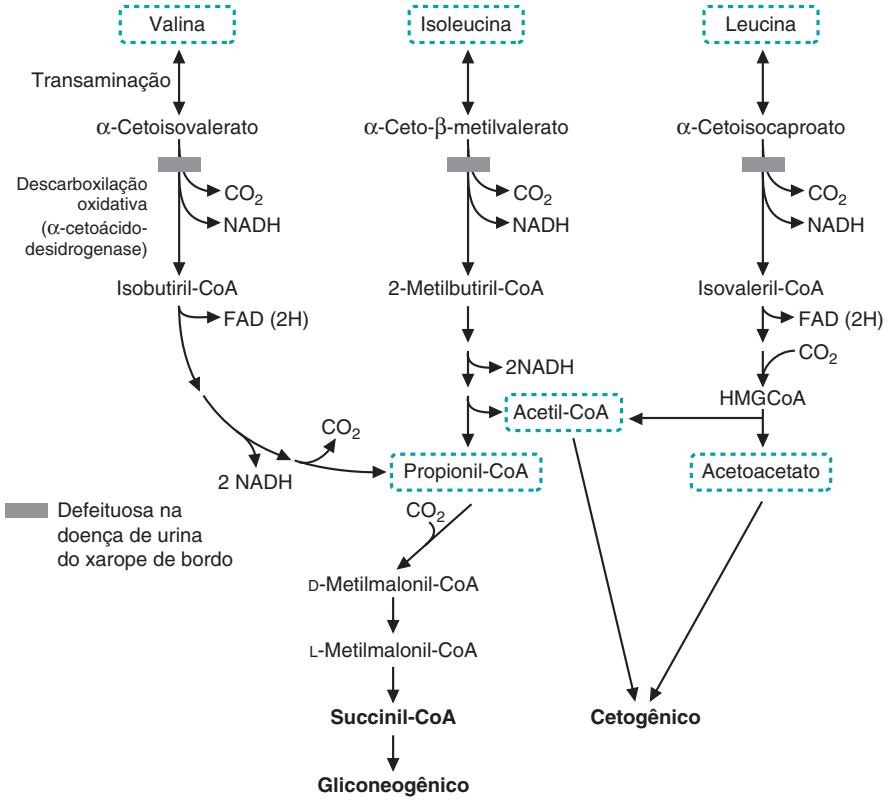


Figura 39.15 Degradação de aminoácidos de cadeia ramificada. A valina forma propionil-CoA, a isoleucina forma propionil-CoA e acetil-CoA, e a leucina forma acetoacetato e acetil-CoA.

IV. AMINOÁCIDOS QUE FORMAM ACETIL-COA E ACETOACETATO

Sete aminoácidos formam acetil-CoA ou acetoacetato e, portanto, são classificados como cetogênicos. Desses, a isoleucina, a treonina e os aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) são convertidos em compostos que produzem tanto glicose quanto acetil-CoA ou acetoacetato (Figura 39.16). A leucina e a lisina não produzem glicose; elas produzem acetil-CoA e acetoacetato.

A. Fenilalanina e Tirosina

A fenilalanina é convertida em tirosina, a qual sofre degradação oxidativa (Figura 39.17). O último passo da via produz fumarato e o corpo cetônico acetoacetato. Deficiências de diferentes enzimas nessa via resultam em fenilcetonúria, tirosinemia e alcaptonúria.

A fenilalanina é hidroxilada para formar tirosina por uma oxidase de função mista, a fenilalanina-hidroxilase (PAH, do inglês ***p**henyl**a**lanine **h**ydroxylase*), a qual requer oxigênio molecular e tetraidrobiopterina (Figura 39.18). O co-fator tetraidrobiopterina é convertido em diidrobiopterina-quinonóide por essa reação. A tetraidrobiopterina não é sintetizada a partir de uma vitamina; ela pode ser sintetizada pelo organismo a partir de GTP, o qual, como ocorre com outros co-fatores, existe em quantidades limitadas no corpo. Conseqüentemente, a diidrobiopterina deve ser reconvertida em tetraidrobiopterina para que a reação continue a produzir tirosina.

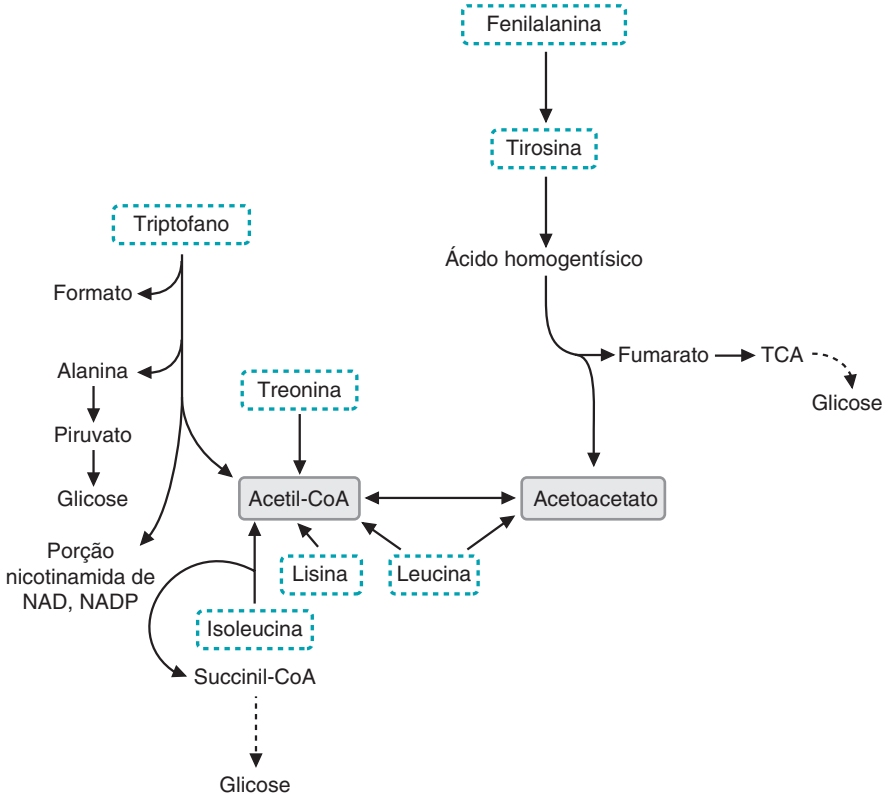


Figura 39.16 Aminoácidos cetogênicos. Alguns desses aminoácidos (triptofano, fenilalanina e tirosina) também contêm carbonos que podem formar glicose. A leucina e a lisina são estritamente cetogênicas; elas não formam glicose.

A alcaptonúria ocorre quando o homogentisato, um intermediário do metabolismo da tirosina, não pode ser oxidado, uma vez que a próxima enzima na via, a homogentisato-oxidase, está defeituosa. O homogentisato se acumula e se auto-oxida, formando um pigmento escuro, o qual altera a cor da urina e mancha a fralda dos bebês afetados. Na idade adulta, o acúmulo crônico desse pigmento nas cartilagens pode causar dor articular artrítica.

A tirosinemia transitória é freqüentemente observada em bebês recém-nascidos, especialmente em prematuros. Na maioria dos casos, a condição parece ser benigna, e a restrição dietética de proteína faz com que os níveis plasmáticos de tirosina retornem ao normal. O defeito bioquímico mais provável é um baixo nível, devido à imaturidade, da 4-hidroxifenilpiruvato-dioxigenase. Como essa enzima requer ascorbato, a suplementação dessa vitamina também auxilia na redução dos níveis circulantes de tirosina.

Outros tipos de tirosinemia estão associados a defeitos em enzimas específicas (ver Figura 39.17). A tirosinemia II é causada por uma deficiência genética da tirosina-aminotransferase (TAT) e pode levar a lesões nos olhos e na pele, bem como a problemas neurológicos. Os pacientes são tratados com uma dieta com baixa tirosina e baixa fenilalanina.

A tirosinemia I (também chamada de tirosinose) é causada por uma deficiência genética da fumarilacetoacetato-hidrolase. A forma aguda está associada a insuficiência hepática, odor semelhante a repolho e morte nos primeiros anos de vida.

R: Além de metionina, treonina, isoleucina e valina (ver Figura 39.14), os últimos três carbonos da extremidade ω de ácidos graxos de cadeia ímpar formam succinil-CoA por essas rotas (ver Capítulo 23).

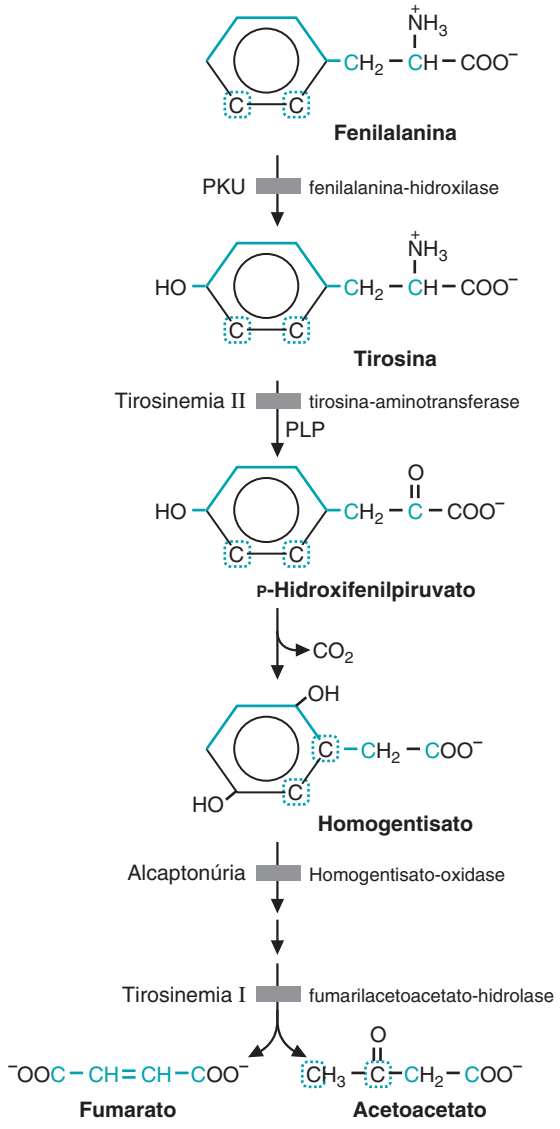


Figura 39.17 Degradação de fenilalanina e tirosina. O carbono carboxil forma CO_2, e os outros carbonos formam fumarato ou acetoacetato (como indicado). Deficiências de enzimas (barras cinza) resultam nas doenças indicadas. PKU = fenilcetonúria.

Um pequeno subgrupo de pacientes com hiperfenilalaninemia mostra uma redução apropriada nos níveis de fenilalanina no plasma com a restrição dietética desse aminoácido, entretanto, tais pacientes desenvolvem sintomas neurológicos progressivos e convulsões e geralmente morrem nos dois primeiros anos de vida (hiperfenilalaninemia "maligna"). Essas crianças apresentam a atividade da fenilalanina-hidroxilase (PAH) normal, mas têm uma deficiência na diidrobiopterina-redutase (DHPR), uma enzima necessária para a regeneração de tetraidrobiopterina (BH_4), um co-fator da PAH (ver Figura 39.18). Menos freqüentemente, a atividade da DHPR é normal, porém existe um defeito na biossíntese de BH_4. Em ambos os casos, a terapia dietética corrige a hiperfenilalaninemia. Entretanto, BH_4 é também um co-fator para outras duas hidroxilações necessárias para a síntese de neurotransmissores no cérebro: a hidroxilação de triptofano a 5-hidroxitriptofano e de tirosina a L-dopa (ver Capítulo 48). Tem sido sugerido que a deficiência resultante na atividade dos neurotransmissores no sistema nervoso central é, ao menos em parte, responsável pelas manifestações neurológicas e conseqüente morte desses pacientes.

B. Triptofano

O triptofano é oxidado para produzir alanina (a partir dos carbonos que não fazem parte do anel), formato e acetil-CoA. O triptofano é, portanto, glicogênico e cetogênico (Figura 39.19).

NAD e NADP podem ser produzidos a partir da estrutura do anel do triptofano. Por essa razão, o triptofano "poupa" o requerimento dietético de niacina. Quanto mais altos os níveis dietéticos de triptofano, menores os níveis de niacina requeridos para prevenir os sintomas da deficiência.

Se os níveis dietéticos de niacina e triptofano são insuficientes, ocorre a condição conhecida como pelagra. Os sintomas da pelagra são dermatite, diarréia, demência e, finalmente, morte. Além disso, ocorre um metabolismo anormal de triptofano na deficiência de vitamina B6. Intermediários de quinurenina na degradação do triptofano não podem ser clivados, uma vez que a quinureninase requer PLP, derivado da vitamina B6. Conseqüentemente, esses intermediários entram em uma via menor para metabolismo de triptofano que produz o ácido xanturênico, o qual é excretado na urina.

C. Treonina, Isoleucina, Leucina e Lisina

Como discutido anteriormente, a principal rota de degradação de treonina em seres humanos é a treonina-desidratase (ver Seção III.D.2). Em uma via menor, a degradação pela treonina-aldolase produz glicina e acetil-CoA no fígado.

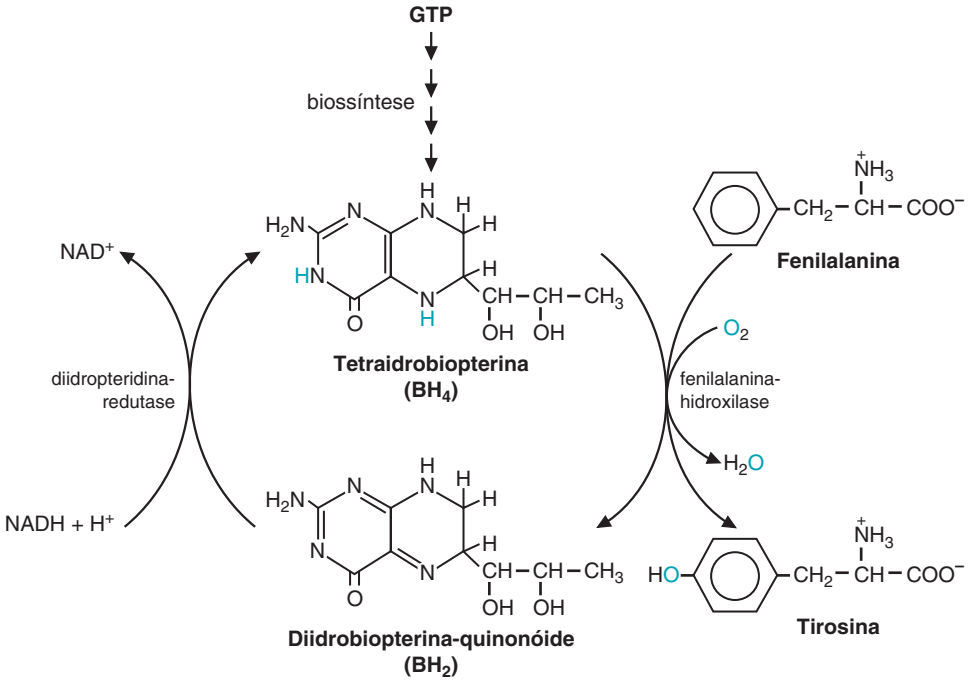


Figura 39.18 Hidroxilação da fenilalanina. A fenilalanina-hidroxilase (PAH) é uma oxidase de função mista, isto é, o oxigênio molecular (O_2) doa um átomo para a água e um para o produto, a tirosina. O co-fator tetraidrobiopterina (BH_4) é oxidado a diidrobiopterina (BH_2) e deve ser reduzido de volta a BH_4 para que a fenilalanina continue formando tirosina. O BH_4 é sintetizado no organismo a partir de GTP. A PKU resulta de deficiências da PAH (a forma clássica), da diidropteridina-redutase ou de enzimas da via de biossíntese de BH_4.

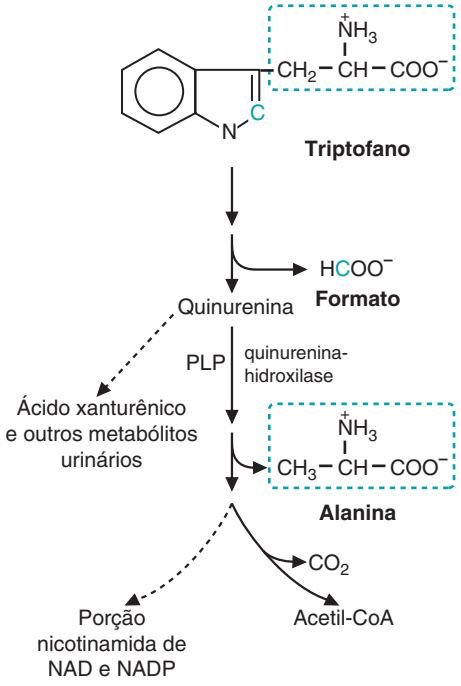
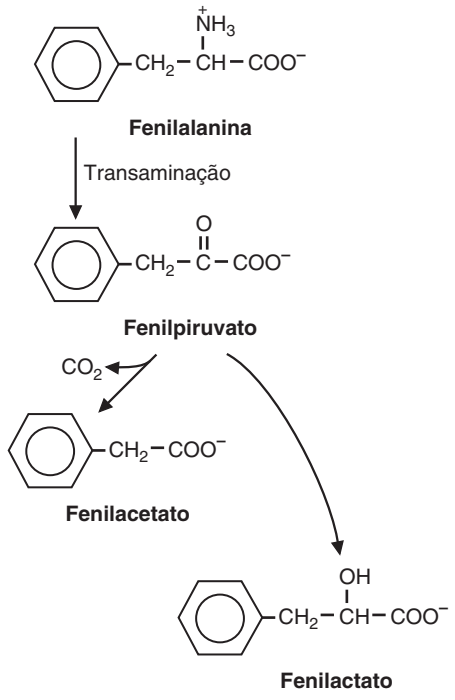


Figura 39.19 Degradação do triptofano. Um dos carbonos do anel produz formato. A porção fora do anel forma alanina. A quinurenina é um intermediário que pode ser convertido em uma série de produtos de excreção urinária (p. ex., xanturenato), degradado a CO_2 e acetil-CoA, ou convertido na porção nicotinamida de NAD e NADP, a qual também pode ser formada a partir da vitamina niacina.

No teste decisivo no sangue de **Piquet Yuria**, o nível plasmático de fenilalanina estava elevado a 18 mg/dL (valor de referência < 1,2). Várias fenilcetonas e outros produtos do metabolismo da fenilalanina, os quais dão à urina um odor característico, foram encontrados em quantidades significativas na urina do bebê.



Uma biópsia de fígado foi enviada para o laboratório de pesquisa química especializada, onde foi determinado que o nível de atividade da fenilalanina-hidroxilase (PAH) de **Piquet** foi menor do que 1% do encontrado em bebês normais. Foi feito um diagnóstico de fenilcetonúria (PKU) "clássica".

Até que a terapia gênica permita a substituição do gene defeituoso da PAH pelo seu equivalente normal *in vivo*, o suporte principal da terapia na PKU clássica é a manutenção dos níveis de fenilalanina no sangue entre 3 e 12 mg/dL por meio da restrição dietética desse aminoácido essencial.

A isoleucina produz tanto succinil-CoA quanto acetil-CoA (ver Seção III.D.3).

A leucina é puramente cetogênica e produz hidroximetilglutaril-CoA (HMG-CoA), o qual é clivado para formar acetil-CoA e o corpo cetônico acetoacetato (ver Figuras 39.15 e 39.16). A maioria dos tecidos nos quais ela é oxidada pode utilizar corpos cetônicos como substrato energético, com exceção do fígado. Da mesma forma que a valina e a isoleucina, a leucina é um substrato energético universal, com seu metabolismo primário ocorrendo no músculo.

A lisina não pode ser transaminada diretamente em qualquer de seus dois grupos amino. Ela é degradada por uma via complexa na qual sacaropina, α-cetoadipato e crotonil-CoA são intermediários. Durante a via de degradação, NADH e $FADH_2$ são gerados para produzir energia. Finalmente, a lisina gera acetil-CoA (ver Figura 39.16) e é estritamente cetogênica.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Piquet Yuria. A incidência geral de hiperfenilalaninemia é aproximadamente 100 a cada um milhão de nascimentos, com uma ampla variação geográfica e étnica. A PKU ocorre por uma transmissão autossômica recessiva de um gene PAH defeituoso, causando acúmulo de fenilalanina no sangue muito acima da concentração normal em crianças jovens e adultos (menos de 1 a 2 mg/dL). No recém-nascido, o limite superior de normalidade é quase duas vezes esse valor. Valores acima de 16 mg/dL são geralmente encontrados em pacientes com PKU "clássica", tais como **Piquet Yuria**.

Pacientes com PKU clássica geralmente parecem normais ao nascimento. Se a doença não é reconhecida e tratada no primeiro mês de vida, a criança gradualmente desenvolverá graus variáveis de retardo mental irreversível (escores de QI freqüentemente abaixo de 50), maturação psicomotora retardada, tremores, convulsões, eczema e hiperatividade. As seqüelas neurológicas podem resultar, em parte, da interação competitiva da fenilalanina com os sistemas de transporte de aminoácidos do cérebro e da inibição da síntese de neurotransmissores. Essas alterações bioquímicas levam à diminuição da síntese de mielina e ao desenvolvimento neuronal retardado, os quais resultam no quadro clínico de pacientes como **Piquet Yuria**. Devido à simplicidade do teste para PKU (níveis elevados de fenilalanina no sangue), ele é solicitado para todos os recém-nascidos nos EUA. A detecção precoce da doença pode levar ao tratamento precoce, e as conseqüências neurológicas da doença podem ser evitadas.

Para restringir os níveis de fenilalanina na dieta, preparações semi-sintéticas especiais, como Lofenalac® ou PKUaid®, são utilizadas nos EUA. O uso de tais preparações reduz a ingestão diária de fenilalanina para 250 a 500 mg/dia enquanto mantém a ingestão normal de todos os outros nutrientes da dieta. Embora seja geralmente aceito que a aderência cuidadosa a esse regime seja mandatória na primeira década de vida, existe menos consenso quanto ao seu uso indefinido. Contudo, há evidências de que, sem adesão à restrição dietética de fenilalanina por toda vida, mesmo adultos desenvolverão, no mínimo, seqüelas neurológicas de PKU. Uma mulher grávida com PKU deve ter particularmente cuidado em manter níveis plasmáticos satisfatórios de fenilalanina durante toda a gestação para evitar os efeitos adversos de hiperfenilalaninemia sobre o feto.

Os pais de Piquet receberam instruções dietéticas cuidadosas, as quais eles seguiram com atenção. Embora o pediatra não estivesse otimista, esperava-se que a lesão do sistema nervoso antes da terapia dietética fosse mínima e que seu desenvolvimento psicomotor subseqüente lhe permitisse levar uma vida relativamente normal.

Homer Sistine. Os aspectos bioquímicos mais característicos do distúrbio que afeta **Homer Sistine**, uma deficiência de cistationina-β-sintase, são a presença de um acúmulo, no sangue, tanto de homocist(e)ina quanto de metionina no sangue. Devido ao fato de a reabsorção tubular renal de metionina ser altamente

eficiente, esse aminoácido pode não aparecer na urina. A homocistina, o dissulfeto de homocisteína, é reabsorvida menos eficientemente, e quantidades além de 1 mmol podem ser excretadas na urina a cada dia.

No tipo de homocistinúria no qual o paciente tem deficiência de cistationina-β-sintase, suspeita-se que a elevação de níveis séricos de metionina seja resultado de taxas aumentadas de conversão de homocisteína em metionina, causada pela disponibilidade aumentada de homocisteína (ver Figura 39.14). Nos tipos II e III de homocistinúria, nos quais há uma deficiência na síntese de metil-cobalamina e de N^5-metiltetraidrofolato (ambos necessários para a metilação de homocisteína para formar metionina), respectivamente, os níveis séricos de homocisteína estão elevados, mas os de metionina estão baixos (ver Figura 39.14).

Eventos vasculares agudos são comuns nesses pacientes. Trombos (coágulos sangüíneos) e êmbolos (coágulos que se liberaram e se deslocam para um local distante no sistema vascular) têm sido relatados em quase todas as principais artérias e veias, bem como em vasos menores. Tais coágulos resultam em infartos em órgãos vitais, como o fígado, o miocárdio (músculo cardíaco), os pulmões, os rins e muitos outros tecidos. Embora níveis séricos aumentados de homocisteína tenham sido relacionados com agregação plaquetária aumentada e lesão das células endoteliais vasculares (levando a coagulação e aterosclerose acelerada), ainda não há um mecanismo geralmente aceito para esses eventos vasculares.

O tratamento é direcionado para redução precoce dos níveis elevados de homocisteína e metionina no sangue. Além de uma dieta com pouca metionina, doses orais muito altas de piridoxina (vitamina B6) têm diminuído significativamente os níveis plasmáticos de homocisteína e metionina em alguns pacientes com deficiência de cistationina-β-sintase. ("Respondedores" geneticamente determinados ao tratamento com piridoxina correspondem a cerca de 50% de homocistinúricos do tipo I.) O PLP serve como um co-fator para a cistationina-β-sintase; contudo, as propriedades moleculares da enzima defeituosa que conferem responsividade à terapia com B6 não são conhecidas.

Os termos *hipermetioninemia*, *homocistinúria* (ou *-emia*) e *cistationinúria* (ou *-emia*) indicam anormalidades bioquímicas, e não doenças clínicas específicas. Cada uma delas pode ser causada por mais de um defeito genético específico. Por exemplo, pelo menos sete alterações genéticas distintas podem causar excreção aumentada de homocistina na urina. Uma deficiência de cistationina-β-sintase é a causa mais comum de homocistinúria; mais de 600 de tais casos foram estudados.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Fenilcetonúria. Várias doenças de deficiências enzimáticas que afetam as vias de metabolismo dos aminoácidos têm sido descobertas. Tais doenças têm auxiliado os pesquisadores a elucidar as vias de metabolismo de aminoácidos em seres humanos, nos quais a manipulação experimental é, na melhor das hipóteses, antiética. Essas mutações espontâneas ("experimentos" da natureza), embora devastadoras para os pacientes, têm resultado na compreensão de tais doenças, o que atualmente permite o tratamento de erros inatos do metabolismo que eram considerados intratáveis.

A PKU clássica é causada por mutações no gene localizado no cromossomo 12 que codifica a enzima fenilalanina-hidroxilase (PAH). Essa enzima normalmente catalisa a hidroxilação de fenilalanina a tirosina, o passo limitante na principal via pela qual a fenilalanina é catabolizada.

Nos primeiros experimentos, a seqüência de análises de clones mutantes indicou uma única substituição no gene com uma troca de G para A no sítio de *splice* doador 5' do íntron 12 e a expressão de um produto protéico incompleto não-estável. Essa proteína perde a região C-terminal, uma alteração estrutural que leva à produção de menos de 1% da atividade normal da PAH.

Os achados patológicos em que subjazem as características clínicas manifestadas por **Homer Sistine** parecem ser uma conseqüência das elevações crônicas de homocisteína (e talvez de outros compostos, p. ex., metionina) no sangue e nos tecidos, mas isso ainda não foi provado. As fibras zonulares, que normalmente mantêm o cristalino do olho na posição correta, tornam-se friáveis e se rompem, causando o deslocamento do cristalino. O esqueleto revela uma perda de substância óssea (osteoporose), a qual pode explicar a curvatura da espinha. O alongamento de ossos longos, além do seu tamanho normal geneticamente determinado, leva à estatura alta.

Experimentos com animais sugerem que as concentrações aumentadas de homocisteína e metionina no cérebro podem seqüestrar adenosina na forma de *S*-adenosil-homocisteína, diminuindo os níveis de adenosina. Já que a adenosina age normalmente como um depressor do sistema nervoso central, sua deficiência pode estar associada a uma diminuição do limiar de convulsão, bem como a uma redução na função cognitiva.

Tabela 39.1 Distúrbios Genéticos do Metabolismo de Aminoácidos

Via de Degradação do Aminoácido	Enzima-Deficiente	Produto que Acumula	Doença	Sintomas
Fenilalanina	Fenilalanina-hidroxilase	Fenilalanina	PKU (clássica)	Retardo mental
	Diidropteridina-redutase	Fenilalanina	PKU (não-clássica)	Retardo mental
Tirosina	Homogentisato-oxidase	Ácido homogentísico	Alcaptonúria	Urina escura, artrite
	Fumarilacetoacetato-hidrolase	Fumarilacetoacetato	Tirosinemia I	Insuficiência hepática, morte precoce
	Tirosina-aminotransferase	Tirosina	Tirosinemia II	Defeitos neurológicos
	Cistationase	Cistationina	Cistationinúria	Benigna
Metionina	Cistationina-β-sintase	Homocisteína	Homocisteinemia	Complicações cardiovasculares e problemas neurológicos
Glicina	Glicina-transaminase	Glioxilato	Oxalúria primária tipo I	Insuficiência renal devido à formação de pedras
Aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, isoleucina, valina)	Desidrogenase de α-cetoácido de cadeia ramificada	α-Cetoácidos de aminoácidos de cadeia ramificada	Doença do xarope de bordo	Retardo mental

Desde esses estudos iniciais, análises de DNA têm mostrado mais de 100 mutações (*missense*, *nonsense*, inserções e deleções) no gene da PAH associadas à PKU e à hiperfenilalaninemia não-PKU. A heterogeneidade fenotípica da PKU é sustentada por estudos que medem a atividade da PAH em amostras de biópsia por punção obtidas de fígados de um grande grupo de pacientes com vários graus de hiperfenilalaninemia. A atividade da PAH varia de menos de 1% do normal em pacientes com PKU clássica a até 35% do normal naqueles com uma forma de hiperfenilalaninemia não-PKU (como um defeito na produção de BH_4; ver Capítulo 48).

As doenças genéticas que afetam a degradação dos aminoácidos que foram discutidas neste capítulo estão resumidas na Tabela 39.1.

Leituras Sugeridas

Burton BK. Inborn errors of metabolism in infancy: a guide to diagnosis. Pediatrics 1998; 102: e69.

Mudd S, Levy H, Klaus, JP. Disorders of transsulfuration. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, vol. II, 8th Ed. New York: McGrawHill, 2001:2007-2056.

St. Joer ST, Howard BV, et al. Dietary protein and weight reduction. A statement for healthcare professionals from the nutrition committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism of the American Heart Association. Circulation 2001; 104:1869-1874.

Scriver C, Kaufman S,. Hyperphenylalanemia: Phenylalanine hydroxylase deficiency. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, vol. II, 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:1667-1724.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 39

1. Se um indivíduo tem uma deficiência de vitamina B6, qual dos seguintes aminoácidos ainda pode ser sintetizado e considerado não-essencial?

   A. Tirosina
   B. Serina
   C. Alanina
   D. Cisteína
   E. Aspartato

2. A degradação dos aminoácidos pode ser classificada em famílias, as quais são denominadas pelos produtos finais da via degradativa. Qual dos seguintes compostos é um desses produtos finais?

   A. Citrato
   B. Gliceraldeído-3-fosfato
   C. Frutose-6-fosfato
   D. Malato
   E. Succinil-CoA

3. Uma criança recém-nascida apresentou altos níveis de fenilalanina e fenilpiruvato em seu sangue. Qual das seguintes enzimas deve estar deficiente nesse bebê?

   A. Fenilalanina-desidrogenase
   B. Fenilalanina-oxidase
   C. Diidropteridina-redutase
   D. Tirosina-hidroxilase
   E. Tetraidrofolato-sintase

4. O piridoxal-fosfato é necessário para qual das seguintes vias ou reações individuais?

   A. Fenilalanina → tirosina
   B. Metionina → cisteína + α-cetobutirato
   C. Propionil-CoA → succinil-CoA
   D. Piruvato → acetil-CoA
   E. Glicose → glicogênio

5. Uma deficiência de ácido fólico poderia interferir na síntese de qual dos seguintes aminoácidos a partir dos precursores indicados?

   A. Aspartato a partir de oxaloacetato e glutamato
   B. Glutamato a partir de glicose e amônia
   C. Glicina a partir de glicose e alanina
   D. Prolina a partir de glutamato
   E. Serina a partir de glicose e alanina

40 Tetraidrofolato, Vitamina B12 e *S*-Adenosilmetionina

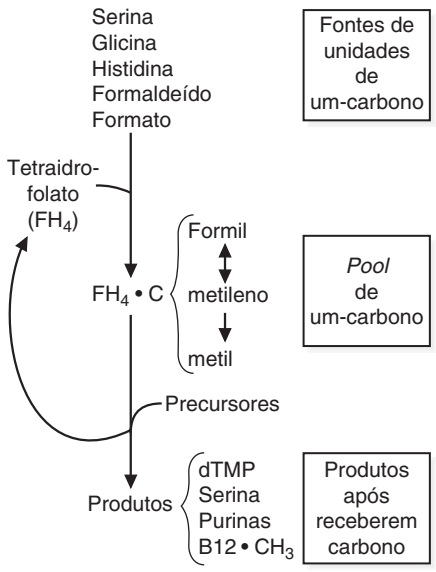


Figura 40.1 Visão geral do *pool* de um carbono. O FH_4•C indica o tetraidrofolato (FH_4) contendo uma unidade de um carbono que está no nível de oxidação formil, metileno ou metil (ver Figura 40.3). A origem dos carbonos está indicada, bem como os produtos finais após a transferência de um carbono.

Grupos contendo um único átomo de carbono podem ser transferidos de um composto para outro. Esses átomos de carbono podem estar em diferentes estados de oxidação. A forma mais oxidada, o CO_2, é transferida pela biotina. Grupos de um-carbono em menores níveis de oxidação do que o CO_2 são transferidos por reações envolvendo tetraidrofolato (FH_4), vitamina B12 e S-adenosilmetionina (SAM).

Tetraidrofolato: *O tetraidrofolato, que é produzido a partir da **vitamina folato**, é o principal transportador de um-carbono no organismo. Essa vitamina obtém unidades de um carbono a partir de serina, glicina, histidina, formaldeído e formato (Figura 40.1). Enquanto ligados ao FH_4, esses carbonos podem estar oxidados ou reduzidos. Por essa razão, o folato pode existir em uma variedade de formas químicas. Entretanto, uma vez que o carbono tenha sido reduzido ao nível metil (metil-FH_4), ele não pode ser reoxidado. Coletivamente, esses grupos de um-carbono ligados ao seu transportador FH_4 são conhecidos como **pool de um-carbono**. O termo folato é utilizado para representar uma vitamina do complexo B solúvel em água que age na transferência de grupos de um único carbono em vários estados de oxidação.*

*Os grupos de um-carbono transportados pelo FH_4 são utilizados para várias reações biossintéticas. Por exemplo, unidades de um-carbono são transferidas para a base pirimídica do monofosfato de desoxiuridina (**dUMP**) para formar monofosfato de desoxitimidina (**dTMP**), para o aminoácido **glicina** para formar **serina**, para precursores das bases púricas para produzir os carbonos C2 e C8 do **anel de purina** e para a **vitamina B12**.*

Vitamina B12: *A vitamina B12 está envolvida em duas reações no organismo. Ela participa no rearranjo do grupo metila da L-metilmalonil-CoA para formar succinil-CoA e transfere o grupo metila, obtido a partir do FH_4, para homocisteína, formando metionina.*

S-Adenosilmetionina (SAM): *a SAM, produzida a partir de metionina e trifosfato de adenosina (ATP), transfere o grupo metila para precursores formando numerosos compostos, incluindo creatina, fosfatidilcolina, adrenalina, melatonina, nucleotídeos metilados e DNA metilado.*

O metabolismo da metionina é muito dependente tanto de FH_4 quanto de vitamina B12.

*A **homocisteína** é derivada do metabolismo da metionina e pode ser convertida de volta em metionina, utilizando metil-FH_4 e vitamina B12. Essa é a única reação na qual o metil-FH_4 pode doar o grupo metila. Se a enzima que catalisa essa reação está defeituosa, ou se os níveis de vitamina B12 ou FH_4 são insuficientes, a homocisteína poderá acumular. Níveis elevados de homocisteína têm sido relacionados a doenças cardiovasculares e neurológicas. A deficiência de vitamina B12 pode ser causada pela perda do **fator intrínseco**, uma proteína gástrica requerida para a absorção da B12 da dieta. Uma conseqüência da deficiência de B12 é o acúmulo de metil-FH_4 e a diminuição de outros derivados do folato. Isso é conhecido como a **hipótese do seqüestro de metila**, no qual, devido à deficiência de B12, a maior parte dos carbonos do* pool *de FH_4 ficam aprisionados na forma metil-FH_4, que é a mais estável. Os carbonos não podem ser liberados a partir do folato, porque a única reação na qual eles participam não pode ocorrer devido à deficiência de B12. Isso poderá, conseqüentemente, levar à uma deficiência funcional de folato, ainda que os níveis totais de folato*

estejam normais. Uma deficiência de folato (quer funcional ou real) levará à ***anemia megaloblástica*** *causada por uma incapacidade das células precursoras do sangue para sintetizar DNA e, portanto, para se dividir. Isso faz com que células grandes parcialmente replicadas sejam liberadas no sangue na tentativa de repor as células que morreram. As deficiências de folato também estão relacionadas a uma incidência aumentada de* ***defeitos do tubo neural****, como espinha bífida, de mães que engravidaram durante a deficiência de folato.*



SALA DE ESPERA



Após a ressecção do câncer do intestino grosso, e após ter completado um ciclo de quimioterapia pós-operatória com 5-fluorouracil (5-FU), **Colin Tuma** retornou ao gastrenterologista para uma colonoscopia de acompanhamento de rotina. Seu cólon estava completamente normal, com excelente cicatrização no sítio da anastomose. O médico expressou grande otimismo com relação à cura da doença maligna prévia de Colin, mas o alertou sobre a necessidade de exames colonoscópicos nos primeiros anos seguintes.



Bea Twelvlow, uma mulher de 75 anos de idade, foi ver seu médico porque tinha formigamento e falta de sensação nos braços. A história nutricional indicou uma dieta saudável e normal, porém Bea não estava tomando nenhum suplemento vitamínico. Os resultados laboratoriais indicaram um leve aumento de ácido metilmalônico, o que levou o médico a suspeitar de deficiência de vitamina B12. A medição direta de níveis séricos de B12 indicou uma deficiência, mas os resultados do teste de Schilling foram normais.



O perfil laboratorial inicial, realizado quando **Jean Ann Tonich** foi pela primeira vez ao médico com evidência de hepatite inicial induzida por álcool, incluiu uma análise hematológica que mostrou que Jean Ann estava anêmica. A hemoglobina estava em 11,0 g/dL (valores de referência = 12 a 16 para uma mulher adulta). A contagem de eritrócitos (células sangüíneas vermelhas) era de 3,6 milhões de células/mm^3 (valores de referência = 4,0 a 5,2 para uma mulher adulta). O volume médio das células sangüíneas vermelhas (volume corpuscular médio, ou VCM) era 108 fL (valores de referência 80 a 100), e o laboratório de hematologia relatou uma variação surpreendente no tamanho e na forma das células sangüíneas vermelhas em um esfregaço de sangue periférico (ver Capítulo 44). Os núcleos dos leucócitos granulocíticos circulantes tinham segmentação nuclear aumentada (neutrófilos polissegmentados). Como esses achados eram sugestivos de anemia macrocítica (na qual as células sangüíneas são maiores do que o normal), foram solicitadas medidas de níveis séricos de folato e vitamina B12 (cobalamina).

I. TETRAIDROFOLATO (FH_4)

A. Estrutura e Formas de FH_4

Os folatos existem em várias formas químicas. A forma de coenzima que funciona recebendo grupos de um-carbono é o tetraidrofolato-poliglutamato (Figura 40.2), geralmente referido somente como tetraidrofolato ou FH_4. Ele tem três componentes estruturais principais: um anel de pteridina bicíclico, o ácido para-aminobenzóico e uma cadeia de poliglutamato, que consiste em vários resíduos de glutamato unidos em



No teste de Schiling, o paciente ingere vitamina B12 cristalina radioativa (Co^{60}), e uma amostra de urina de 24 horas é coletada. A radioatividade na amostra de urina é comparada com a administrada, e a diferença representa a quantidade de B12 absorvida pelo trato digestivo.



As deficiências de folato freqüentemente ocorrem em indivíduos com alcoolismo crônico. Vários fatores estão envolvidos: consumo inadequado de folato na dieta, dano nas células intestinais e nas enzimas da membrana da borda em escova – o que interfere na absorção do folato da dieta –, um defeito na circulação entero-hepática – o que reduz a absorção de folato –, lesão no fígado causando decréscimo da produção hepática de proteínas plasmáticas e interferência na reabsorção renal de folato.

Devido à possibilidade de um efeito tóxico direto do álcool sobre os tecidos hematopoéticos em **Jean Ann Tonich,** um aspirado de medula óssea foi obtido. O aspirado continha um número maior do que o normal de precursores de células vermelhas e brancas do sangue, muitas das quais apresentavam tamanho maior do que o normal. As células vermelhas sangüíneas grandes são chamadas de megaloblastos.

Essas células precursoras hematopoéticas, quando expostas a quantidades muito baixas de folato e/ou vitamina B12 apresentam diminuição da velocidade de divisão celular, porém o desenvolvimento citoplasmático ocorre em velocidade normal. Conseqüentemente, as células megaloblásticas tendem a ser grandes, com aumento da relação de RNA para DNA. Progenitores eritróides megaloblásticos são, em geral, destruídos pela medula óssea (embora alguns entrem na circulação). Desse modo, a celularidade da medula é freqüentemente aumentada, mas a produção de células é diminuída, uma condição chamada de "eritropoese ineficaz".

Portanto, Jean Ann teve uma anemia megaloblástica, característica de deficiência de folato ou de B12.

O nível sérico de ácido fólico de Jean Ann foi 3,1 ng/mL (faixa de referência = 6 a 15) e o de B12 foi 154 pg/mL (faixa de referência = 150 a 750). Seu nível sérico de ferro foi normal. Isso torna claro, portanto, que a anemia megaloblástica de Jean Ann foi causada pela deficiência de folato (embora seu nível de B12 estivesse próximo do limite inferior da normalidade). A conduta em uma deficiência pura de folato em pacientes alcoólatras é a interrupção da ingestão de álcool e a implementação de uma dieta rica em folato.



A abreviação fL significa fentolitro. Um fL é 10^{-12} mililitros (mL).

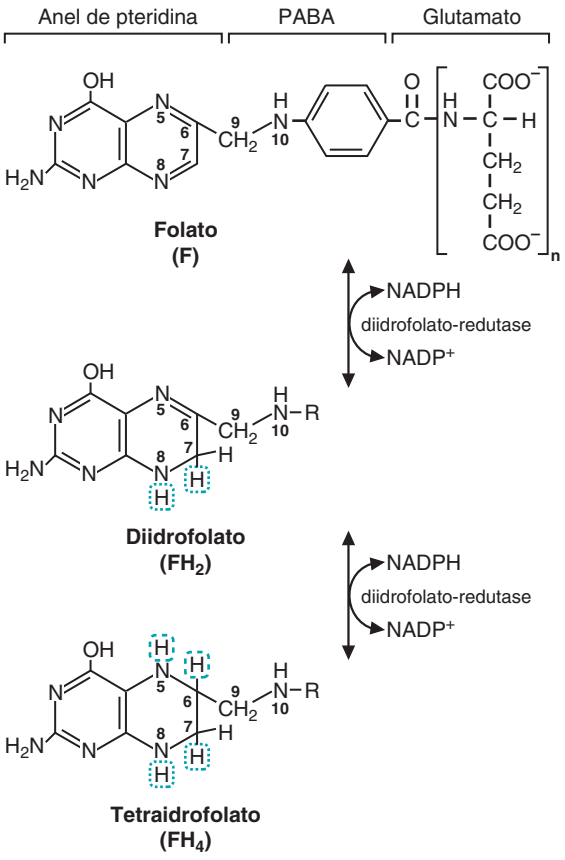


Figura 40.2 Redução do folato a tetraidrofolato (FH_4). A mesma enzima, a diidrofolato-redutase, catalisa ambas as reações. Múltiplos resíduos de glutamato são adicionados no interior das células (n ~ 5). As plantas podem sintetizar folato, mas os seres humanos não. Portanto, o folato é um requerimento dietético. R é a porção da molécula do folato mostrada à direita de N^{10}. Os diferentes precursores de FH_4 estão indicados na figura. PABA= ácido para-aminobenzóico.

As sulfas são fármacos análogos ao ácido para-aminobenzóico utilizados para tratar algumas infecções bacterianas. Elas impedem o crescimento e a divisão celular em bactérias por interferir na síntese de folato. Como os seres humanos não podem sintetizar o folato, as sulfas não afetam as células humanas por essa via.

A Recomendação Dietética Adequada (RDA) atual para equivalentes de folato é de aproximadamente 400 μg para homens e mulheres adultos. O folato está presente em vegetais folhosos verdes, e outras boas fontes dessa vitamina são fígado, levedura, legumes e algumas frutas. O cozimento prolongado desses alimentos, entretanto, pode inativar mais de 90% do seu conteúdo de folato. Uma dieta-padrão norte-americana fornece de 50 a 500 μg de folato absorvível por dia. A deficiência de folato em mulheres grávidas, especialmente no mês anterior e no seguinte à concepção, aumenta o risco de defeitos do tubo neural, como espinha bífida, no feto. Para reduzir riscos potenciais de defeitos do tubo neural em mulheres aptas a engravidar, a recomendação é a ingestão de 400 μg de ácido fólico diariamente em uma pílula multivitamínica. Para as mulheres que tiveram crianças com defeito do tubo neural, essa quantidade é aumentada para 4.000 μg/dia, um mês antes e um mês após a concepção. Nos Estados Unidos, produtos que contêm farinha atualmente são suplementados com folato para reduzir o risco de defeitos do tubo neural em recém-nascidos.

ligação amida. O grupo de um-carbono que é aceito pela coenzima e, então, transferido a outro composto é ligado ao N^5, ao N^{10} ou a ambos.

Formas distintas de folato podem diferir no estado de oxidação do grupo de um-carbono, no número de resíduos de glutamato ligados ou no grau de oxidação do anel de pteridina. Quando os termos folato ou ácido fólico são empregados para uma forma química específica, ela é a forma mais oxidada do anel de pteridina (ver Figura 40.2). O folato é reduzido a diidrofolato e, então, a tetraidrofolato pela diidrofolato-redutase presente nas células. A redução é a direção favorecida da reação; por essa razão, a maior parte do folato existente no organismo está presente na forma de coenzima reduzida, o FH_4.

B. A Vitamina Folato

Os folatos são sintetizados em bactérias e em plantas superiores e são ingeridos, na dieta, em vegetais verdes folhosos, frutas e legumes. A vitamina folato recebeu esse nome devido à sua presença em vegetais verdes folhosos (*foliage*; folhado). A maior parte do folato da dieta derivado de alimentos de origem natural está presente na forma de coenzima reduzida. Entretanto, suplementos vitamínicos e alimentos enriquecidos contêm principalmente a forma oxidada do anel de pteridina.

Quando o folato da dieta passa pelo terço proximal do intestino delgado, folato-conjugases da borda em escova do lúmen retiram resíduos de glutamato para produzir a forma monoglutamato do folato, a qual é, então, absorvida (ver Figura 40.2, a estrutura mais acima, quando n=1). No interior das células intestinais, o folato é convertido

principalmente em N^5-metil-FH_4, que entra na veia porta hepática e vai para o fígado. Menores quantidades de outras formas de folato também seguem essa rota.

O fígado, que estoca metade do folato do organismo, capta uma grande quantidade de folato proveniente da circulação portal; a captação pode ser por transporte ativo ou por endocitose mediada por receptor. Dentro do fígado, o FH_4 é reconjugado para a forma poliglutamato antes de ser usado nas reações. Uma pequena quantidade de folato é parcialmente degradada, e seus componentes vão para a urina. Uma fração relativamente grande de folato entra na bile e é, subseqüentemente, reabsorvida (de forma muito similar ao destino dos sais biliares na circulação entero-hepática).

O N^5-metil-FH_4, a principal forma de folato no sangue, é fracamente ligado a proteínas plasmáticas, em particular à albumina sérica.

C. Oxidação e Redução de Grupos de Um-Carbono do Tetraidrofolato

Grupos de um-carbono transferidos pelo FH_4 são ligados ao nitrogênio N^5 ou N^{10}, ou formam pontes entre N^5 e N^{10}. O conjunto de grupos de um-carbono ligados ao FH_4 é conhecido como *pool* de um-carbono. Enquanto estão ligadas ao FH_4, essas unidades de um-carbono podem ser oxidadas e reduzidas (Figura 40.3). Conseqüentemente, reações requerendo um carbono em um estado de oxidação particular podem usar carbonos do *pool* de um-carbono que foram doados em diferentes estados de oxidação.

Os passos individuais para a redução de grupos de um-carbono são mostrados na Figura 40.4. A forma mais oxidada é o N^{10}-formil-FH_4, e a forma mais reduzida é o N^5-metil-FH_4. Uma vez que o grupo metila seja formado, *este não é prontamente reoxidado de volta a N^5,N^{10}-metileno-FH_4, e, desse modo, o N^5-metil-FH_4 tenderá a se acumular na célula.*

D. Fontes de Grupos de Um-Carbono Transportados pelo FH_4

As fontes de carbono para o *pool* de um-carbono incluem serina, glicina, formaldeído, histidina e formato (ver Figura 40.4). Esses doadores transferem os carbonos ao folato em diferentes estados de oxidação. A serina é a principal fonte de grupos de um-carbono em seres humanos. Seu grupo hidroximetila é transferido para o FH_4 em uma reação reversível, catalisada pela enzima serina-hidroximetiltransferase. Essa reação produz glicina e N^5,N^{10}-metileno-FH_4. Como a serina pode ser sintetizada a partir de 3-fosfoglicerato, um intermediário da glicólise, os carboidratos da dieta podem servir como uma fonte de carbonos para o *pool* de um-carbono. A glicina que é produzida pode continuar sendo degradada pela doação de um carbono para o folato. Doadores adicionais que formam N^5,N^{10}-metileno-FH_4 estão listados na Tabela 40.1.

Tabela 40.1 *Pool* de Um-Carbono e Substâncias Recipientes de Carbono

Fonte[a]	Formas Produzidas de Doador de Um-Carbono[b]	Substâncias Recipientes	Produto Final
Formato	N^{10}-formil-FH_4	Precursor de purina	Purina (C2 e C8)
Serina	N^5,N^{10}-metileno-FH_4	dUMP	dTMP
Glicina		Glicina	Serina
Formaldeído			
N^5,N^{10}-metileno-FH_4	N^5-metil-FH_4	Vitamina B12	Metilcobalamina
Histidina	N^5-formimino-FH_4 é convertido em N^5,N^{10}-metileno-FH_4		
Colina	Betaína	Homocisteína	Metionina e Dimetilglicina
Metionina	S-adenosilmetionina (SAM)	Glicina (existem vários outros; ver Figura 40.9B)	N-metilglicina (sarcosina)

[a] A principal fonte de carbono é a serina.
[b] A unidade de carbono ligada ao FH_4 pode ser oxidada e reduzida (ver Figura 40.3). No nível metil, a reoxidação não ocorre.

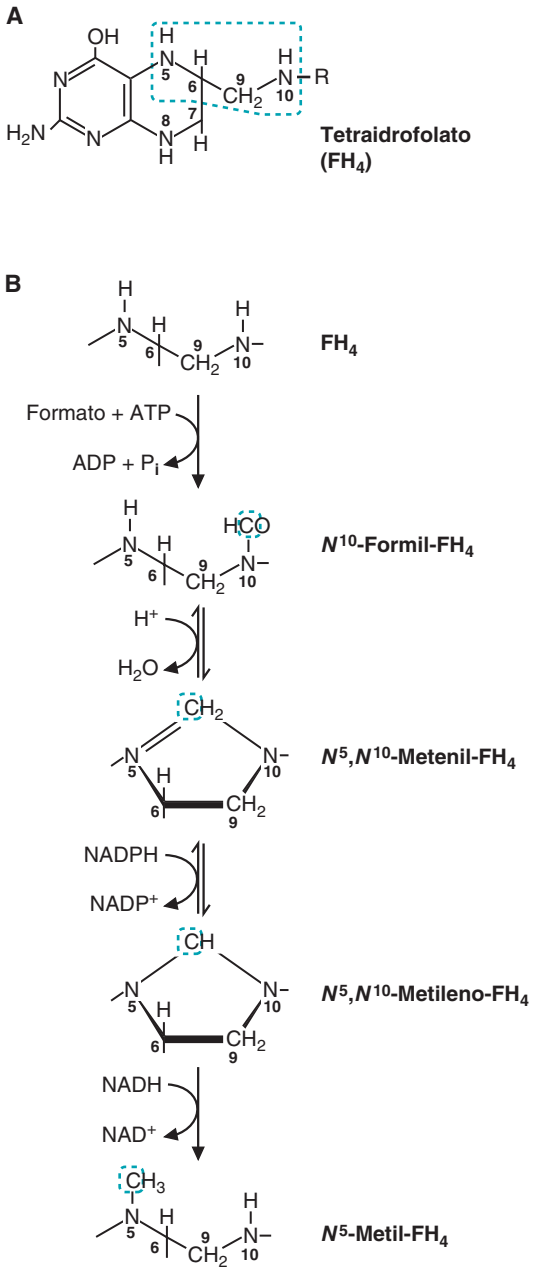


Figura 40.3 Unidades de um carbono ligadas ao FH_4. **A.** Forma ativa de FH_4. Para definição de R, ver Figura 40.2. **B.** Interconversões de unidades de um carbono do FH_4. Somente a porção de N^5 até N^{10} do FH_4 é mostrada, a qual está indicada pela linha tracejada na Parte A. Após um grupo formila formar uma ponte entre N^5 e N^{10}, duas reduções podem ocorrer. Observe que o N^5-metil-FH_4 não pode ser reoxidado. A forma mais oxidada de FH_4 está na parte superior da figura, enquanto a mais reduzida está na inferior.



A deficiência de folato resulta no acúmulo de FIGLU, que é excretado na urina. Um teste de carga de histidina pode ser usado para detectar deficiência de folato. Os pacientes recebem uma dose-teste de histidina (uma carga de histidina), e a quantidade de FIGLU que aparece na urina é medida.

A histidina e o formato fornecem exemplos de compostos que doam carbonos em diferentes níveis de oxidação (ver Figura 40.4). A degradação da histidina produz formiminoglutamato (FIGLU), que reage com o FH_4 para doar carbono e nitrogênio (gerando N^5-formimino-FH_4), com isso liberando glutamato. O formato, produzido a partir da oxidação do triptofano, pode reagir com o FH_4 e gerar N^{10}-formil-FH_4, o derivado mais oxidado do folato.

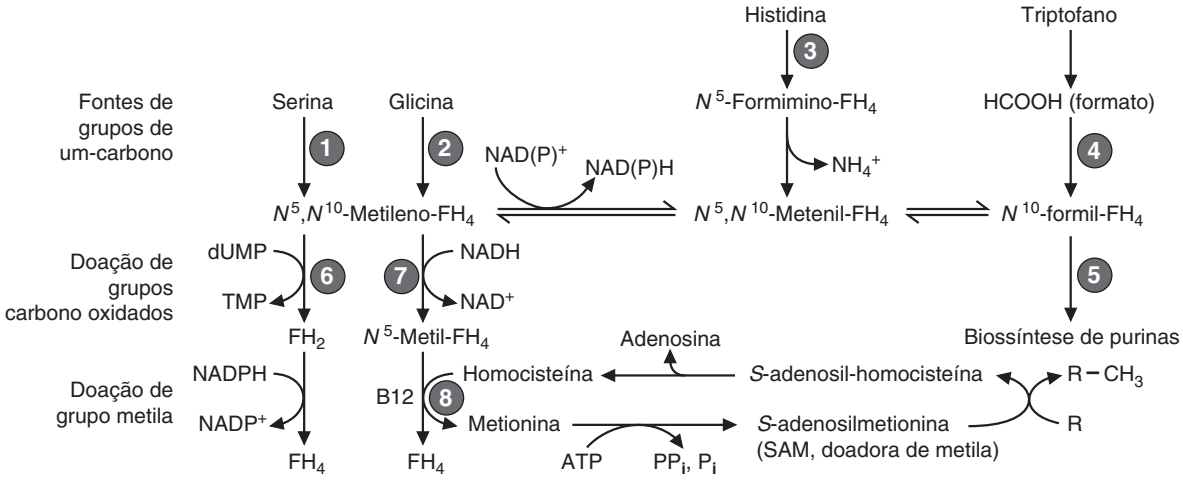


Figura 40.4 Fontes de carbono (reações 1-4) para o *pool* de FH_4 e as substâncias recipientes de carbono (reações 5-8) do *pool*. Na Figura 40.3 pode-se ver os derivados de FH_4 envolvidos em cada reação.

E. Substâncias Recipientes de Grupos de Um-carbono

Os grupos de um-carbono no FH_4 podem ser oxidados ou reduzidos (ver Figura 40.3) e, então, transferidos para outras substâncias (ver Figura 40.4 e Tabela 40.1). Transferências desse tipo estão envolvidas na síntese de glicina a partir de serina, na síntese da base timina requerida para a síntese de DNA, de bases púricas requeridas para as sínteses de DNA e RNA e na transferência de grupos metila para a vitamina B12.

Como a conversão de serina em glicina é prontamente reversível, a glicina pode ser convertida em serina retirando carbonos do *pool* de um-carbono.

O nucleotídeo monofosfato de desoxitimidina (dTMP) é produzido a partir de monofosfato de desoxiuridina (dUMP) por uma reação na qual o dUMP é metilado para formar dTMP (Figura 40.5). A fonte de carbono é o N^5,N^{10}-metileno-FH_4. Dois átomos de hidrogênio provenientes do FH_4 são utilizados para reduzir o carbono doado ao nível metil. Conseqüentemente, diidrofolato (FH_2) é produzido. A redução de FH_2 pelo

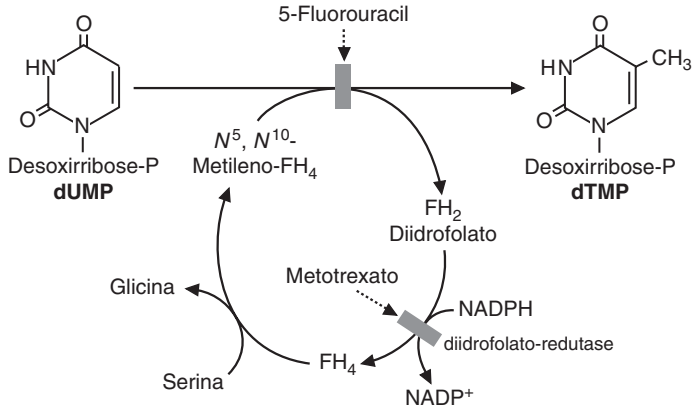


Figura 40.5 Transferência de unidades de um carbono do N^5,N^{10}-metileno-FH_4 ao dUMP para formar dTMP. O FH_4 é oxidado a FH_2 (diidrofolato) nessa reação. O FH_2 é reduzido a FH_4 pela diidrofolato-redutase, e FH_4 é convertido em N^5,N^{10}-metileno-FH_4 utilizando a serina como doadora de carbono. As barras sombreadas indicam os passos nos quais os antimetabólitos 5-fluorouracil (5-FU) e metotrexato agem. O 5-FU inibe a timidilato-sintase, e o metotrexato inibe a diidrofolato-redutase.

O FH_4 é requerido para a síntese de monofosfato de desoxitimidina e das bases púricas utilizadas para produzir os precursores para a replicação do DNA. Por essa razão, o FH_4 é requerido para a divisão celular. O bloqueio na síntese de timina ou de bases púricas, tanto por uma deficiência dietética de folato quanto por fármacos que interferam no metabolismo do folato, resulta em uma taxa diminuída de divisão celular e crescimento.

Um melhor entendimento da estrutura e da função das bases púricas e pirimídicas e do metabolismo do folato levou ao desenvolvimento de compostos com ações antimetabólicas e antifolato úteis no tratamento de doenças neoplásicas. Por exemplo, **Colin Tuma** teve um tratamento bem-sucedido para o câncer de cólon com 5-fluorouracil (5-FU) (ver Capítulo 12 e Figura 40.5). O 5-FU é um análogo de pirimidina que, nas células, é convertido em nucleotídeo fluorodesoxiuridilato (FdUMP). O FdUMP causa a "morte por falta de timina", especialmente em células de tumor, as quais têm um rápido *turnover*. Ele impede o crescimento das células cancerosas pelo bloqueio da reação da timidilato-sintase, ou seja, a conversão de dUMP em dTMP.

A anemia megaloblástica de **Jean Ann Tonich** foi tratada, em parte, com suplementos de folato (ver Comentários Clínicos). Nas primeiras 48 horas de terapia com folato, a eritropoese megaloblástica ou "ineficaz" geralmente diminui, e a eritropoese efetiva inicia.

Uma anemia megaloblástica é causada por uma diminuição na síntese de timina e bases púricas. Essas deficiências levam a uma incapacidade das células eritropoéticas (e outras) de sintetizar DNA e, portanto, de se dividir. Suas tentativas persistentemente frustradas de replicação e reparo do DNA e divisão celular normais produzem células anormalmente grandes (chamadas de megaloblastos), com citoplasma abundante capaz de sintetizar RNA e proteína, mas com acúmulo e fragmentação da cromatina nuclear (ver Capítulo 44). Algumas dessas células grandes, embora imaturas, são liberadas precocemente da medula na tentativa de compensar a anemia. Desse modo, o esfregaço de sangue periférico também irá conter megaloblastos. Entretanto, muitas células imaturas grandes são destruídas na medula e nunca atingem a circulação.

A dieta diária normal nos países ocidentais contém 5 a 30 μg de vitamina B12, dos quais 1 a 5 μg são absorvidos para o sangue (a RDA é 2,4 μg/dia). O conteúdo corporal total dessa vitamina em um adulto é cerca de 2 a 5 mg, dos quais 1 mg está presente no fígado. Como resultado, a deficiência dietética de B12 é incomum e somente é observada após vários anos em uma dieta deficiente nessa vitamina.

Apesar do estado relativamente desnutrido de **Jean Ann Tonich** devido ao alcoolismo crônico, seu nível de cobalamina sérica ainda estava dentro da faixa baixa-para-normal. Se seu estado de subnutrição se prolongasse, uma deficiência de cobalamina teria se desenvolvido.

NADPH na reação catalisada pela diidrofolato-redutase (DHFR) regenera FH_4. Essa é a única reação envolvendo FH_4 na qual o grupo folato é oxidado no momento em que o grupo de um-carbono é doado à substância recipiente. É importante lembrar que a DHFR também é necessária para reduzir a forma oxidada da vitamina que é obtida da dieta (ver Figura 40.2). Desse modo, a DHFR é essencial para a regeneração de FH_2 tanto nos tecidos quanto a partir da dieta. Essas reações contribuem para o efeito da deficiência de folato sobre a síntese de DNA, já que o dTMP é requerido somente para essa síntese.

Durante a síntese de bases púricas, os carbonos 2 e 8 são obtidos a partir do *pool* de um-carbono (ver Capítulo 41). O N^{10}-formil-FH_4 fornece ambos os carbonos. A deficiência de folato também impediria essas reações, contribuindo para a incapacidade de replicar o DNA devido à falta de precursores.

Depois que o grupo carbono carregado pelo FH_4 é reduzido ao nível metil, ele é transferido para a vitamina B12. Essa é a única reação por meio da qual o grupo metila pode ser retirado do FH_4 (lembre-se que a reação que produz N^5-metil-FH_4 não é reversível).

II. VITAMINA B12

A. Estrutura e Formas da Vitamina B12

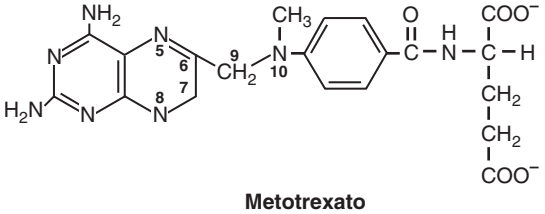
A estrutura da vitamina B12 (também conhecida como cobalamina) é complexa (Figura 40.6). Ela contém um anel corrínico, que é similar ao anel porfirínico encontrado no heme. O anel corrínico difere do heme, entretanto, porque dois dos quatro anéis pirrólicos estão ligados diretamente, e não por ponte metileno. O aspecto mais incomum da estrutura da vitamina B12 é a presença de cobalto, coordenado com o anel corrínico (similar ao ferro coordenado com o anel de porfirina). Esse cobalto pode formar uma ligação com um átomo de carbono. No organismo, ele reage com o carbono de um grupo metila, formando metilcobalamina, ou com o carbono 5' da 5'-desoxiadenosina, formando 5'-desoxiadenosilcobalamina (note que, nesse caso, a designação "desoxi" refere-se ao carbono 5', e não ao carbono 2', como é o caso do açúcar encontrado no DNA). A forma da B12 encontrada nos suplementos vitamínicos é a cianocobalamina, na qual um grupo CN está ligado ao cobalto.

B. Absorção e Transporte de Vitamina B12

Embora a vitamina B12 seja produzida por bactérias, ela não pode ser sintetizada por plantas e animais superiores. As principais fontes de vitamina B12 provenientes da dieta são carne, ovos, produtos lácteos, peixes, aves e frutos do mar. Os animais que servem como fonte desses alimentos obtêm B12 principalmente a partir de bactérias em seu suprimento alimentar. A absorção de B12 da dieta é um processo complexo (Figura 40.7).

A B12 ingerida pode existir em duas formas: livre ou ligada a proteínas da dieta. Se livre, a B12 liga-se a proteínas conhecidas como ligadora-R ou *R-binder* (haptocor-

Q: Indivíduos com linfoma não-Hodgkin recebem vários fármacos para tratar o tumor, incluindo o metotrexato. A estrutura do metotrexato é mostrada abaixo.



Metotrexato

Que composto o metotrexato faz lembrar?

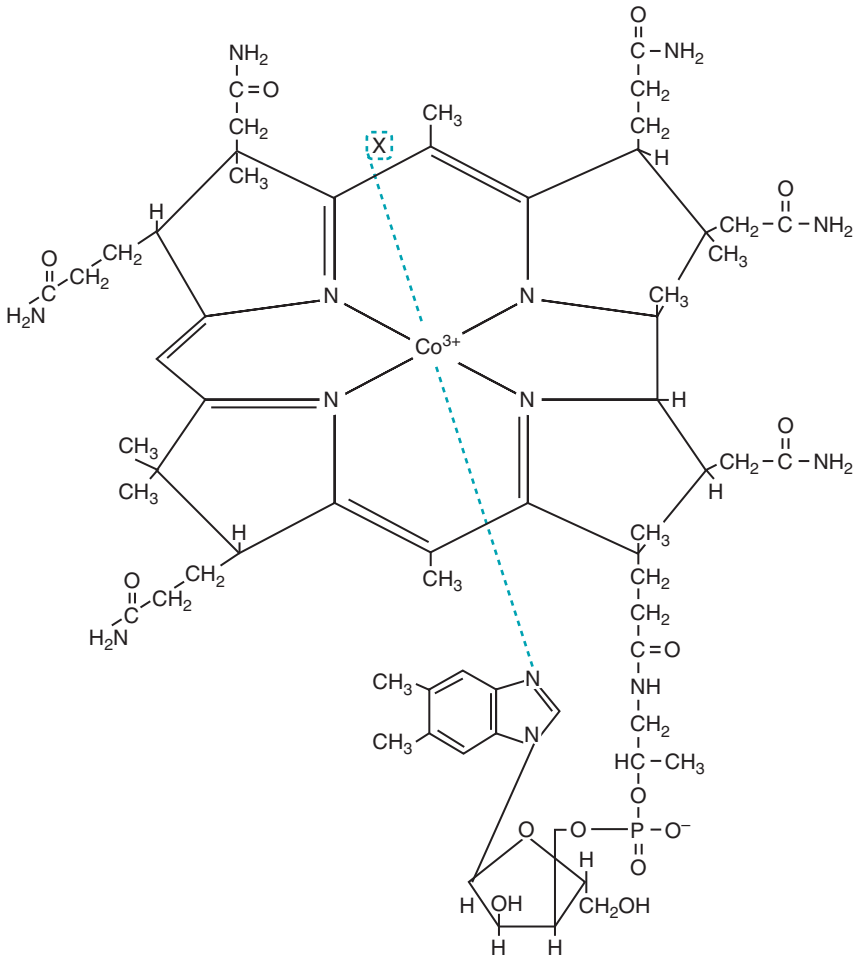


Figura 40.6 Vitamina B12. X = 5′-desoxiadenosina na desoxiadenosilcobalamina; X = CH_3 na metilcobalamina; X = CN na cianocobalamina (a forma comercial encontrada em tabletes da vitamina).

rinas, também conhecidas como transcobalamina I) que são secretadas pelas glândulas salivares e pela mucosa gástrica, tanto na saliva quanto no estômago. Se a B12 ingerida está ligada a proteínas, ela deve ser liberada dessas pela ação de proteases digestivas no estômago e no intestino delgado. Uma vez que a B12 é liberada das proteínas, ela irá ligar-se nas haptocorrinas. No intestino delgado, as proteases pancreáticas digerem as haptocorrinas e liberam a B12, que, então, liga-se ao fator intrínseco, uma glicoproteína secretada pelas células parietais gástricas quando o alimento entra no estômago. O complexo fator intrínseco-B12 se liga a receptores específicos no segmento terminal do intestino delgado conhecido como íleo e, em seguida, é internalizado.

A B12, dentro do enterócito forma complexo com a transcobalamina II e, então, é liberada na circulação. O complexo transcobalamina II-B12 entrega a B12 para os tecidos, os quais possuem receptores específicos para esse complexo. O fígado capta aproximadamente 50% da vitamina B12 e o restante é transportado para os outros tecidos. A quantidade de vitamina estocada no fígado é tão grande que se passam de 3 a 6 anos antes de aparecerem os sintomas da deficiência dietética.

C. Funções da Vitamina B12

A vitamina B12 está envolvida em duas reações no organismo: a transferência de um grupo metila do N^5-metil-FH_4 para a homocisteína para formar metionina e o rearranjo do grupo metila da L-metilmalonil-CoA para formar succinil-CoA (Figura 40.8).

R: O metotrexato tem a mesma estrutura que o folato, exceto por ter um grupo amino em C4 e um grupo metila em N10. Fármacos anticancerígenos, como o metotrexato, são análogos de folato que agem inibindo a diidrofolato-redutase e, assim, prevenindo a conversão de FH_2 em FH_4 (ver Figura 40.5). Então, os *pools* celulares de FH_4 não são reabastecidos, e as reações que requerem FH_4 não ocorrem.

A anemia perniciosa, uma deficiência de fator intrínseco, é um problema relativamente comum causado pela absorção deficiente de cobalamina da dieta. Ela pode resultar de um defeito hereditário – o qual leva a uma capacidade diminuída das células parietais gástricas de sintetizar o fator intrínseco – ou da ressecção cirúrgica de parte do estômago ou do íleo. A produção de fator intrínseco freqüentemente declina com a idade e pode ser baixa em indivíduos com idade avançada. Circunstâncias alternativas que levam ao desenvolvimento de deficiência de B12 são a insuficiência pancreática ou um alto pH intestinal, o qual pode resultar de uma produção muito baixa de ácido pelo estômago. Ambas as condições impedem a degradação do complexo ligadora-R-B12; como resultado, a B12 não será liberada da proteína ligadora-R e, portanto, não pode se ligar ao fator intrínseco.

Q: De que maneira deveria ser administrada a vitamina B12 em um paciente com anemia perniciosa?

R: Como o problema na anemia perniciosa é a falta do fator intrínseco, que resulta em uma incapacidade para absorver a vitamina B12 do trato gastrintestinal, essa não pode ser administrada oralmente para tratar tal condição. No passado, ela era normalmente administrada por injeção. Um *spray* nasal efetivo contendo B12 está sendo recentemente colocado no mercado, e seu uso elimina a necessidade das injeções dessa vitamina por toda a vida.

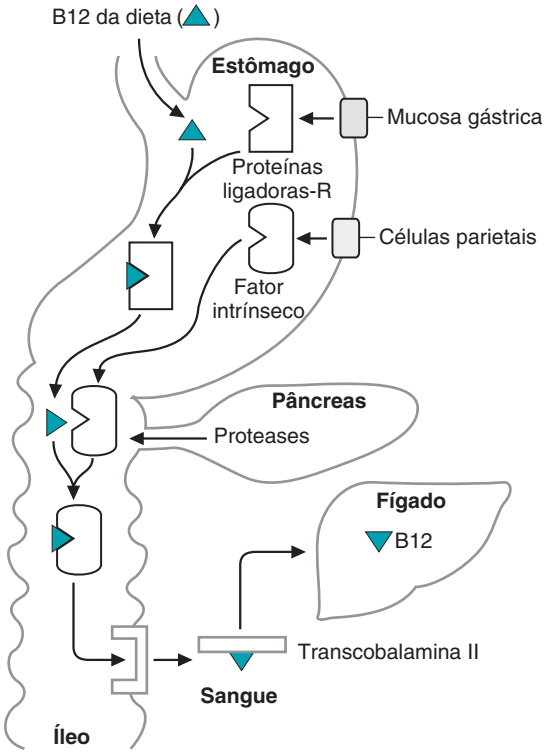


Figura 40.7 Absorção, transporte e armazenamento de vitamina B12. A B12 da dieta se liga nas proteínas ligadoras-R (haptocorrinas) no estômago e vai para o intestino, no qual as ligadoras-R são destruídas pelas proteases pancreáticas. A B12 livre se liga, então, ao fator intrínseco (IF, do inglês ***i**ntrinsic **f**actor*). A B12 é absorvida no íleo e transportada pelas chamadas transcobalaminas (TC) para o fígado, no qual é estocada.

O tetraidrofolato recebe um grupo de um-carbono da serina ou de outras fontes. Tal carbono é reduzido ao nível metil e é transferido para a vitamina B12, formando metil-B12 (ou metilcobalamina). A metilcobalamina transfere o grupo metila para a homocisteína, que é convertida em metionina pela enzima metionina-sintase. A metionina pode, então, ser ativada a SAM para transferir o grupo metila para outros compostos (Figura 40.9).

A vitamina B12 também participa da conversão de L-metilmalonil-CoA em succinil-CoA. Nesse caso, a forma ativa da coenzima é a 5'-desoxiadenosilcobalamina. Essa reação é parte da rota metabólica de conversão de carbonos provenientes de valina, isoleucina, treonina, timina e dos últimos três carbonos de ácidos graxos de cadeia ímpar, todos os quais formam propionil-CoA no intermediário do ciclo do TCA, o succinil-CoA (ver Capítulo 39).

Existem duas manifestações clínicas principais de deficiência de cobalamina (B12). Uma das apresentações é hematopoética (causada por efeitos adversos da deficiência de B12 no metabolismo do folato), e a outra é neurológica (causada por hipomielinização no sistema nervoso).

Os problemas hemopoéticos associados à deficiência de B12 são idênticos àqueles observados na deficiência de folato e, de fato, resultam de uma deficiência de folato secundária à (i.e., causada pela) deficiência de B12 (i.e., hipótese do seqüestro de metil). Quando o *pool* de FH_4 é exaurido, deficiências de derivados de tetraidrofolato necessários para a biossíntese de purinas e dTMP se desenvolvem, levando à anemia megaloblástica característica.

A apresentação clínica clássica da disfunção neurológica associada à deficiência de B12 inclui dormência simétrica e formigamento em mãos e pés, sensibilidades postural e vibratória diminuídas e progressão para um distúrbio deambulatório espástico. O paciente pode se tornar sonolento e extremamente irritável ("demência megaloblástica"). Finalmente, desenvolvem-se pontos cegos na porção central do campo visual acompanhados por alterações na função gustativa (paladar) e na olfativa (olfato). Acredita-se que isso seja causado por uma hipometilação no sistema nervoso, causada pela incapacidade em reciclar homocisteína em metionina e, a partir dessa, *S*-adenosilmetionina. A *S*-adenosilmetionina é a doadora de metil requerida nessas reações. O sistema nervoso não tem a via da betaína de regeneração da metionina e é dependente do sistema B12. Com a deficiência de B12, essa via fica inoperante no sistema nervoso.

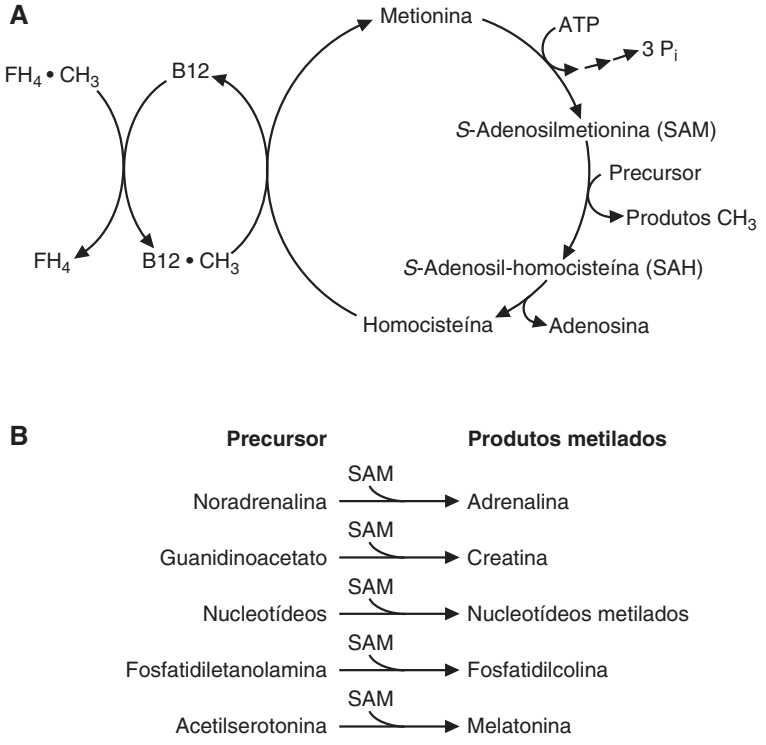


Figura 40.9 Relação entre FH_4, B12 e SAM. **A.** Esquema geral. **B.** Algumas reações específicas que requerem SAM.

III. *S*-ADENOSILMETIONINA

A *S*-adenosilmetionina (SAM) participa da síntese de vários compostos que contêm grupos metila. Ela é usada em reações que adicionam grupos metila a átomos de oxigênio ou nitrogênio em um aceptor (ao contrário dos derivados de folato, que podem adicionar grupos de um-carbono a enxofre ou carbono). Por exemplo, a SAM é requerida para a conversão de fosfatidiletanolamina em fosfatidilcolina, guanidinoacetato em creatina, noradrenalina em adrenalina, acetilserotonina em melatonina e nucleotídeos em nucleotídeos metilados (ver Figura 40.9B). Ela também é requerida para a inativação de catecolaminas e serotonina (ver Capítulo 48). Mais de 35 reações em seres humanos requerem a doação de metil a partir da SAM.

A SAM é sintetizada a partir de metionina e ATP. Assim como na ativação da vitamina B12, o ATP doa a adenosina. Com a transferência do seu grupo metila, a SAM forma *S*-adenosil-homocisteína, que é, subseqüentemente, hidrolisada para formar homocisteína e adenosina.

A metionina, requerida para a síntese de SAM, é obtida da dieta ou produzida a partir de homocisteína, a qual recebe o grupo metila da vitamina B12 (ver Figura 40.9A). Assim, o grupo metila da metionina é regenerado. A porção da metionina que é essencial na dieta é a porção homocisteína. Se houvesse uma fonte dietética de

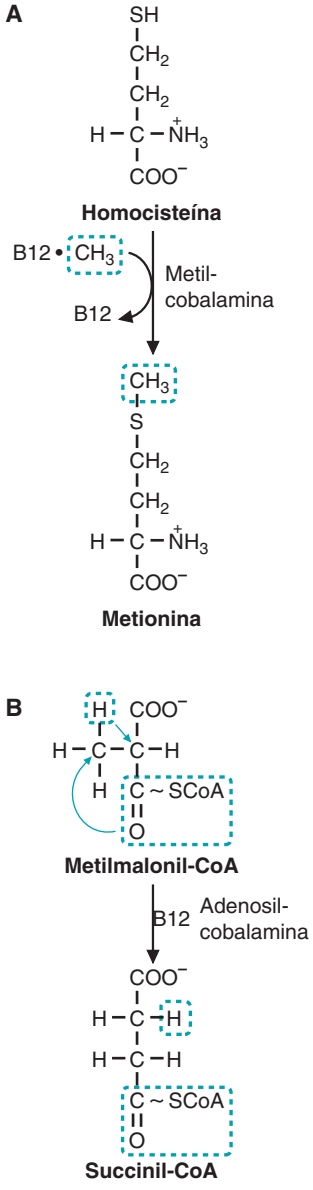


Figura 40.8 As duas reações envolvendo a vitamina B12 em seres humanos.

Muitas lojas de complementos alimentares vendem, atualmente, o SAMe, uma versão estabilizada de *S*-adenosilmetionina. O uso de SAMe tem sido proposto para amenizar a depressão, já que a síntese de certos neurotransmissores requer a metilação por SAM (ver Capítulo 47). Isso levou à hipótese de que, com o aumento nos níveis de SAM no sistema nervoso, a biossíntese desses neurotransmissores seria acelerada, o que pode aliviar os sintomas da depressão. Há relatos na literatura indicando que isso pode ocorrer, mas a sua eficácia como antidepressivo deve ser confirmada. As principais questões que devem ser abordadas incluem a estabilidade do SAMe no sistema digestivo e o nível de captação de SAMe pelas células do sistema nervoso.

homocisteína adequada, a metionina não seria necessária na dieta. Entretanto, não existe uma boa fonte dietética de homocisteína, enquanto a metionina é abundante na dieta.

A homocisteína fornece o átomo de enxofre para a síntese de cisteína (ver Capítulo 39). Nesse caso, a homocisteína reage com a serina para formar cistationina, a qual é clivada, produzindo cisteína e α-cetobutirato. A primeira reação nessa seqüência é inibida por cisteína. Portanto, a metionina, via homocisteína, não é utilizada para a síntese de cisteína, a menos que os níveis de cisteína no organismo estejam menores do que os requeridos para suas funções metabólicas. Um suprimento adequado de cisteína na dieta pode, portanto, "poupar" (ou reduzir) o requerimento dietético de metionina.

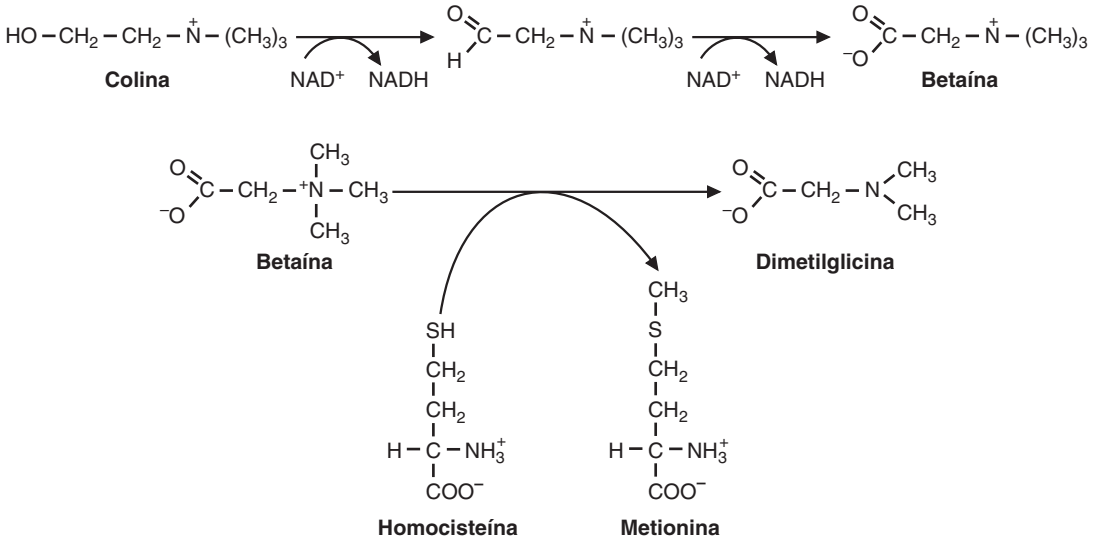
IV. RELAÇÕES ENTRE FOLATO, VITAMINA B12 E SAM

A. A Hipótese do Seqüestro de Metil

A partir da análise do fluxo de carbonos no ciclo do folato, vê-se que o equilíbrio tende na direção da forma N^5-metil-FH_4. Essa parece ser a forma mais estável de carbono ligado à vitamina. Entretanto, o grupo metila pode ser removido do N^5-metil-FH_4, apenas em uma reação, a da metionina-sintase, a qual requer vitamina B12. Então, se a vitamina B12 está deficiente ou se a enzima metionina-sintase é defeituosa, o N^5-metil-FH_4 irá acumular. Conseqüentemente, a maior parte das formas do folato no organismo ficará "seqüestrada" na forma N^5-metil-FH_4. A deficiência funcional de folato ocorre porque os carbonos não podem ser removidos do folato. A manifestação de uma deficiência funcional de folato causada pela carência de B12 é conhecida como a hipótese do seqüestro de metil, e suas implicações clínicas são discutidas nas próximas seções.



Outros compostos envolvidos no metabolismo de um-carbono são derivados dos produtos de degradação da colina. Esta, um componente essencial de certos fosfolipídeos, é oxidada para formar betaína-aldeído, que depois é oxidada à betaína (trimetilglicina). No fígado, a betaína pode doar um grupo metila para a homocisteína para formar metionina e dimetilglicina. Isso permite que o fígado tenha duas rotas de conversão de homocisteína em metionina. Sob condições nas quais a SAM se acumule, a glicina pode ser metilada para formar sarcosina (N-metilglicina). Essa rota é utilizada quando os níveis de metionina estão altos e a metionina em excesso precisa ser metabolizada.



B. Hiperomocisteinemia

Níveis elevados de homocisteína têm sido relacionados a doenças cardiovasculares e neurológicas. Os níveis de homocisteína podem aumentar de diversas maneiras, as quais são relacionadas com os metabolismos de ácido fólico e de vitamina B12. A homocisteína é derivada de *S*-adenosil-homocisteína, que é formada quando a SAM doa um grupo metila (Fig. 40.10). Como a SAM está freqüentemente doando grupos metila, há uma constante produção de *S*-adenosil-homocisteína, o que leva a uma constante produção de homocisteína. Como descrito no Capítulo 39, a homocisteína tem dois destinos bioquímicos. Ela pode ser remetilada a metionina ou condensada com serina para formar cistationina. Existem duas rotas para a produção de metionina. A principal delas é a metilação pelo N^5-metil-FH_4, o que requer vitamina B12. O fígado também contém uma segunda via, na qual a betaína (um produto de degradação da colina) pode doar um grupo metila para a homocisteína para formar metionina, mas essa é uma via menor. A conversão de homocisteína em cistationina requer piridoxal-fosfato. Portanto, se um indivíduo é deficiente em vitamina B12, a conversão de homocisteína em metionina pela via principal está inibida. Isso irá direcionar a homocisteína para a produção de cistationina, a qual, finalmente, produz cisteína. Quando os níveis de cisteína aumentam, a enzima que produz cistationina sofre inibição por *feedback*, e essa via também é inibida (ver Figura 40.10). Isso, de forma geral, leva ao acúmulo de homocisteína, a qual é liberada no sangue.

A homocisteína também se acumula no sangue se uma mutação estiver presente na enzima que converte N^5,N^{10}-metileno-FH_4 em N^5-metil-FH_4. Quando isso ocorre, os níveis de N^5-metil-FH_4 são muito baixos para permitirem que a homocisteína seja convertida em metionina. A perda dessa via, conjuntamente com a inibição por *feedback* pela cisteína na formação de cistationina, também irá levar a níveis elevados de homocisteína no sangue.

Uma terceira maneira que pode elevar os níveis séricos de homocisteína é uma mutação na cistationina-β-sintase ou uma deficiência de vitamina B6, a qual é requerida como co-fator para essa enzima. Esses defeitos bloqueiam a capacidade da homocisteína de se converter em cistationina, e a homocisteína que está acumulada não pode ser, em sua totalidade, normalizada pela conversão em metionina. Conseqüentemente, isso promove o acúmulo de homocisteína.

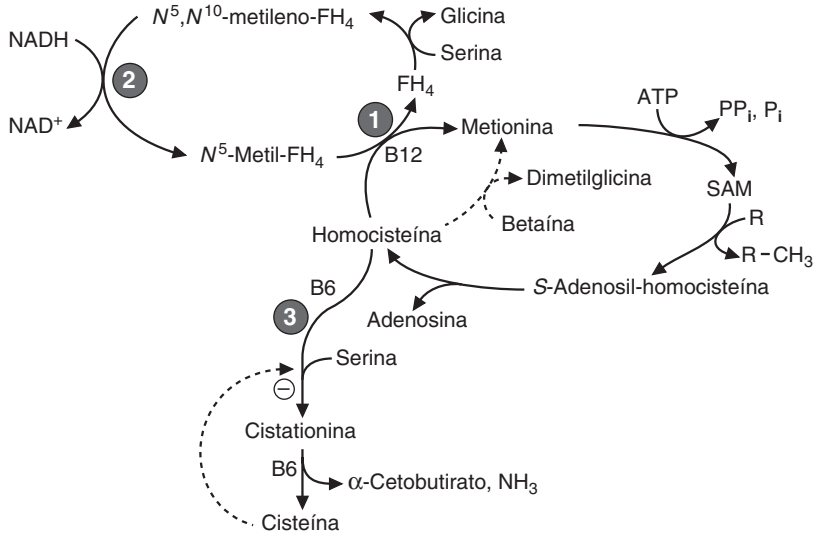


Figura 40.10 Reações das vias que envolvem homocisteína. Defeitos nas enzimas numeradas (1 = metionina-sintase; 2 = N^5,N^{10}-metileno-FH_4-redutase; 3 = cistationina-β-sintase) levam a níveis elevados de homocisteína. Lembre-se que, quando a cisteína se acumula, há uma inibição por *feedback* na cistationina-β-sintase para interromper a produção adicional de cisteína.

C. Defeitos do Tubo Neural

A deficiência de folato durante a gestação tem sido associada a um risco aumentado de defeitos do tubo neural de fetos em desenvolvimento. O risco é significativamente reduzido se as mulheres consumirem suplementos de ácido fólico no período periconcepcional. A relação entre deficiência de folato e defeitos do tubo neural foi inicialmente observada em mulheres com hiperomocisteinemia causada por uma variante termolábil da N^5,N^{10}-metileno-tetraidrofolato-redutase. Essa forma da enzima, que resulta da substituição de um único nucleotídeo (C por T) na posição 677 do gene que codifica a proteína, é menos ativa na temperatura corporal do que em temperaturas mais baixas. Isso resulta na redução do nível de N^5-metil-tetraidrofolato gerado e, conseqüentemente, em um aumento nos níveis de homocisteína. Paralelamente à elevação da homocisteína, as mulheres também apresentavam deficiência de folato. A deficiência de folato e a subseqüente inibição na síntese de DNA levam a defeitos do tubo neural. A elevação da homocisteína é a única indicação de que tal déficit está presente. Esses achados levaram à recomendação de que mulheres com a pretensão de engravidar consumam suplemento de folato antes de a concepção ocorrer e por, no mínimo, um mês após a concepção. Nos Estados Unidos, o Departamento de Agricultura tem, de fato, exigido que o folato seja adicionado a produtos que contêm farinha.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS



Jean Ann Tonich desenvolveu uma deficiência de folato e está próxima de desenvolver uma deficiência de cobalamina (vitamina B12), como conseqüência da desnutrição moderadamente grave prolongada relacionada ao alcoolismo crônico. Antes de iniciar a terapia com folato, o médico deve certificar-se de que a anemia megaloblástica é causada por uma deficiência pura de B12 ou uma deficiência combinada de folato e B12.

Se o folato é dado sem cobalamina para um paciente com deficiência de B12, o fármaco irá corrigir apenas parcialmente a anemia megaloblástica, porque ela vai "desviar" o seqüestro de metilfolato e fornecer a coenzima FH_4 adequada para a conversão de dUMP em dTMP e para a retomada da síntese de purinas. Como resultado, a síntese e o reparo de DNA e a divisão celular ocorrem normalmente. Contudo, a síndrome neurológica resultante da hipometilação no tecido nervoso pode progredir, a menos que o médico perceba que a suplementação com B12 é necessária. No caso de Jean Ann, no qual a concentração sérica de B12 estava no limite inferior e a história nutricional apoiava a possibilidade de deficiência de B12, uma combinação de suplementos de folato e B12 é necessária para evitar essa potencial armadilha terapêutica.



Colin Tuma continuou bem e retornou fielmente para seus exames colonoscópicos regulares.



Bea Twelvlow teve diagnóstico de uma incapacidade em absorver B12 da dieta, mas não a B12 cristalina (o resultado do teste de Schilling foi normal). Uma das conseqüências do envelhecimento é uma produção reduzida de ácido pela mucosa gástrica (gastrite atrófica), o que limita a capacidade de a pepsina agir nas proteínas da dieta. A diminuição da eficiência da pepsina reduziria, então, a quantidade de B12 ligada liberada das proteínas da dieta, e, como resultado, a B12 não estaria disponível para absorção. Como Bea absorve B12 cristalina sem problema, sua condição pode ser facilmente tratada pela administração oral de suplemento de vitamina B12.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



Deficiências de Folato e Síntese de DNA. As deficiências de folato resultam em uma disponibilidade diminuída de desoxitimidina e de nucleotídeos da purina que servem como precursores para a síntese do DNA. A concentração diminuída de tais precursores afeta não somente a síntese de DNA que ocorre durante a replicação, antes da divisão celular, mas também a que ocorre como um passo no processo de reparo de danos no DNA.

A metilação diminuída de monofosfato de desoxiuridina (dUMP) para formar monofosfato de desoxitimidina (dTMP), uma reação que requer N^5,N^{10}-metileno-tetraidrofolato como coenzima (ver Figura 40.5), leva a um aumento na relação dUTP/dTTP intracelular. Tal alteração causa um aumento significativo na incorporação de uracil no DNA. Embora a maior parte desse uracil possa ser removido pelas enzimas de reparo, a menor disponibilidade de dTTP bloqueia o passo de reparo de DNA catalisado pela DNA-polimerase. O resultado é a fragmentação do DNA, bem como o bloqueio da replicação normal.

Esses processos nucleares anormais são responsáveis pelo acúmulo e pela polissegmentação observados nos núcleos de leucócitos neutrófilos na medula óssea e no sangue periférico de pacientes com anemia megaloblástica causada por uma deficiência primária de folato ou secundária de B12. As anormalidades na síntese e no reparo do DNA levam a uma perda irreversível da capacidade de divisão celular e, finalmente, à morte celular.

Leituras Sugeridas

Fenech M. The role of folic acid and vitamin B12 in genomic stability of human cells. Mutation Research 2000;475:57-67.

Herbert V. Folic acid. In: Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross AC, eds. Modern Nutrition in Health and Disease. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 1999:433-446.

Selhub J. Homocysteine metabolism. Annu Rev Nutr 1999;19:217-246.

Van der Put NMJ, Van Straaten HWM, Trijbels FJM, Blom HJ. Folate, homocysteine and neural tube defects: An overview. Exp Biol Med 2001;226:243-270.

Weir DG, Scott JM. Vitamin B12 "cobalamin". In: Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross AC, eds. Modern Nutrition in Health and Disease. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 1999:447-458.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 40

1. Qual das seguintes reações requer N^5,N^{10}-metileno-FH_4 como doador de carbono?

   (A) De homocisteína para metionina
   (B) De serina para glicina
   (C) De betaína para dimetilglicina
   (D) De dUMP para dTMP
   (E) A biossíntese *de novo* do anel de purina

2. O acúmulo de ácido propiônico a partir da degradação de aminoácidos poderia resultar da deficiência de qual das seguintes vitaminas?

   (A) Vitamina B6
   (B) Biotina
   (C) Ácido fólico
   (D) Vitamina B12
   (E) Vitamina B1
   (F) Vitamina B2

3. Uma deficiência dietética de vitamina B12 pode resultar de qual das seguintes afirmações?

   (A) Produção excessiva de fator intrínseco pelas células parietais gástricas
   (B) Ingestão de uma dieta rica em proteína animal
   (C) Insuficiência pancreática
   (D) Absorção aumentada de ácido fólico
   (E) Incapacidade de conjugar a vitamina com o ácido glutâmico

4. Qual das seguintes formas de tetraidrofolato é requerida para a síntese de metionina a partir de homocisteína?

   (A) N^5,N^{10}-metileno-tetraidrofolato
   (B) N^5-metil-tetraidrofolato
   (C) N^5,N^{10}-metenil-tetraidrofolato
   (D) N^{10}-formil-tetraidrofolato
   (E) N^5-formimino-tetraidrofolato

5. Qual dos seguintes é um método alternativo para metilar a homocisteína para formar metionina?

   (A) Utilização de glicina e FH_4 como doadores de metil
   (B) Utilização de dimetilglicina como doadora de metil
   (C) Utilização de colina como doadora de metil
   (D) Utilização de sarcosina como doadora de metil
   (E) Utilização de betaína como doadora de metil

41 Metabolismo de Purinas e Pirimidinas

As purinas e as pirimidinas são necessárias para a síntese de ***nucleotídeos*** *e* ***ácidos nucleicos****. Essas moléculas podem ser sintetizadas* **de novo** *ou* ***recuperadas*** *a partir de bases existentes. A captação, na dieta, de bases púricas e pirimídicas é baixa, pois a maioria dos ácidos nucleicos ingeridos são metabolizados pelas células epiteliais do intestino.*

A rota de novo *da síntese de purinas é complexa, consistindo em 11 etapas e necessitando de seis moléculas de ATP para cada purina sintetizada. Os precursores que doam componentes para produzir nucleotídeos púricos incluem* ***glicina***, ***ribose-5-fosfato***, ***glutamina***, ***aspartato***, ***dióxido de carbono*** *e* N^{10}***-formil-FH***$_4$ *(Figura 41.1). As purinas são sintetizadas como* ***ribonucleotídeos****, sendo que a purina inicial sintetizada é o* ***monofosfato de inosina*** *(****IMP****, do inglês* inosine monophosphate*). O monofosfato (AMP, do inglês* adenosine monophosphate*) e o monofosfato de guanosina (GMP, do inglês* guanosine monophosphate*) são derivados de IMP em duas rotas de reação, com duas etapas cada.*

A rota de recuperação de nucleotídeos púricos permite que bases púricas livres sejam convertidas em nucleotídeos, nucleotídeos em nucleosídeos e nucleosídeos em bases livres. As enzimas incluídas nessa rota são ***AMP*** *e* ***adenosina-desaminase***, ***adenosina-quinase***, ***purina-nucleosídeo-fosforilase***, ***adenina-fosforribosil-transferase*** *(****APRT, do inglês*** **adenine phosphoribosyltransferase***) e* ***hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferase*** *(****HGPRT, do inglês*** **hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase***). Mutações em alguma dessas enzimas levam a doenças graves. Uma deficiência na purina-nucleosídeo-fosforilase e na adenosina-deaminase leva a distúrbio de* ***imunodeficiência****, e uma deficiência de HGPRT leva à* ***síndrome de Lesch-Nyhan****. O* ***ciclo de nucleotídeos púricos****, no qual carbonos do aspartato são convertidos em fumarato para reabastecer os intermediários do ciclo do TCA no músculo em atividade e o nitrogênio do aspartato é liberado como amônia, utiliza componentes da rota de recuperação de nucleotídeos púricos.*

As bases pirimídicas são primeiro sintetizadas como base livre e, então, convertidas em um nucleotídeo. O ***aspartato*** *e o* ***carbamoil-fosfato*** *formam todos os componentes do anel pirimídico. A ribose-5-fosfato, a qual é convertida em fosforribosil-pirofosfato (PRPP), é necessária para doar o glicídeo fosfato para formar um nucleotídeo. O primeiro nucleotídeo pirimídico a ser produzido é* ***monofosfato de orotato*** *(****OMP, do inglês*** **orotate monophosphate***). O OMP é convertido em* ***monofosfato de uridina*** *(****UMP, do inglês*** **uridine monophosphate***), que se torna o precursor para a produção de* ***trifosfato de citidina*** *(****CTP, do inglês*** **cytidine triphosphate***) e* ***monofosfato de desoxitimidina*** *(****dTMP, do inglês*** **deoxythimidine monophosphate***).*

A formação de desoxirribonucleotídeos necessita da atividade da ***ribonucleotídeo-redutase****, a qual catalisa a redução da ribose de substratos nucleotídeo difosfato em 2'-desoxirribose. Os substratos para a enzima incluem o difosfato de adenosina (ADP, do inglês* adenosine diphosphate*), difosfato de guanosina (GDP, do inglês* guanosine diphosphate*), o difosfato de citidina (CDP, do inglês* cytidine diphosphate*) e difosfato de uridina (UDP, do inglês uridine diphosphate). A regulação da enzima é complexa. Existem dois sítios alostéricos principais; um controla a atividade total da enzima, enquanto o outro determina a especificidade por substrato da enzima. Todos os desoxirribonucleotídeos são sintetizados utilizando essa única enzima.*

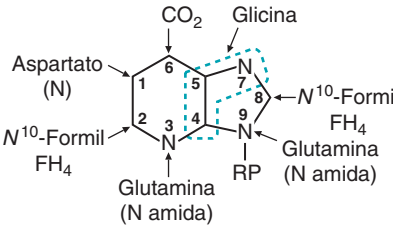


Figura 41.1 Origem dos átomos da base purina. FH_4 = tetraidrofolato.

*A **regulação** da biossíntese de nucleotídeos púricos ocorre em quatro pontos da rota. As enzimas **PRPP-sintetase**, **amidofosforribosil-transferase**, **IMP-desidrogenase** e **adenilossuccinato-sintetase** são reguladas por modificadores alostéricos, à medida que ocorrem as ramificações-chave ao longo da rota. A síntese de pirimidina é regulada na primeira etapa, a qual corresponde à síntese de carbamoil-fosfato citoplasmático, pela enzima **carbamoil-fosfato-sintetase II** (**CPS-II, do inglês carbamoyl phosphate synthetase II**).*

*As purinas, quando degradadas, não podem produzir energia, e o anel púrico não pode ser substancialmente modificado. O produto final da degradação do anel púrico é o **ácido úrico**, o qual é excretado na urina. O ácido úrico tem solubilidade limitada, e, se ele acumula, formam-se cristais que precipitarão nos tecidos do corpo com a redução de temperatura (como o dedão do pé). Essa inflamação dolorosa aguda dos tecidos moles específicos e das articulações é chamada de **gota**. As pirimidinas, contudo, quando degradadas, dão origem a compostos hidrossolúveis, como uréia e dióxido de carbono, e não levam a um estado de doença se o catabolismo de pirimidinas está aumentado.*



SALA DE ESPERA



O processo de inflamação aguda que levou **Lotta Topaigne** a ter um ataque doloroso de artrite gotosa respondeu rapidamente à terapia com colchicina (ver Capítulo 10). Várias semanas após os sinais e sintomas inflamatórios no dedão do pé direito terem diminuído, Lotta passou a receber alopurinol, um fármaco que reduz a síntese de ácido úrico. O nível de ácido úrico sérico diminuiu gradualmente de um nível pré-tratamento de 9,2 mg/dL para a faixa normal (2,5 a 8,0 mg/dL). A paciente permanecia sem sintomas de gota quando retornou ao médico para a consulta de acompanhamento.

I. PURINAS E PIRIMIDINAS

Como foi visto em capítulos anteriores, os nucleotídeos têm diversas funções em rotas diferentes. Por exemplo, os nucleotídeos são os precursores ativados de DNA e RNA, formam as porções estruturais de muitas coenzimas (p. ex., NADH, FAD e coenzima A), são elementos importantes do metabolismo de energia (ATP, GTP). Derivados de nucleotídeos são, freqüentemente, intermediários ativados em muitas biossínteses. Por exemplo, a UDP-glicose e o CDP-diacilglicerol são precursores de glicogênio e fosfoglicerídeos, respectivamente. A *S*-adenosilmetionina carrega um grupo metila ativado. Além disso, os nucleotídeos atuam como segundos mensageiros na sinalização intracelular (p. ex., AMPc, GMPc). Finalmente, nucleotídeos e nucleosídeos atuam como reguladores alostéricos. Pense nas enzimas que foram estudadas que são reguladas por níveis de ATP, ADP e AMP.

A captação de bases púricas e pirimídicas da dieta é mínima. A dieta contém ácidos nucleicos, e o pâncreas secreta deoxirribonuclease e ribonuclease, juntamente com enzimas proteolíticas e lipolíticas. Isso permite que ácidos nucleicos digeridos sejam convertidos em nucleotídeos. As células epiteliais intestinais contêm atividade de fosfatase alcalina, a qual converte nucleotídeos em nucleosídeos. Outras enzimas, dentro das células epiteliais, tendem a metabolizar os nucleosídeos em ácido úrico, ou a recuperá-los para suas próprias necessidades. Cerca de 5% dos nucleotídeos ingeridos irão para a circulação, ou como base livre ou como nucleosídeo. Devido à captação mínima, na dieta, dessas moléculas importantes, a síntese *de novo* de purinas e pirimidinas é necessária.

II. BIOSSÍTNESE DE PURINAS

As bases púricas são produzidas *de novo* por rotas metabólicas que utilizam aminoácidos como precursores e produzem nucleotídios. A maioria das sínteses *de novo* ocorre no fígado (Figura 41.2), e as bases nitrogenadas e os nucleosídeos são, então, transportados para outros tecidos por células sangüíneas vermelhas. O cérebro também sintetiza quantidades significativas de nucleotídeos. Como a rota *de novo* necessita de seis ligações ricas em energia por purina produzida, uma rota de recuperação, a qual é utilizada por muitos tipos celulares, pode converter bases livres e nucleosídeos em nucleotídeos.

A. Síntese *De Novo* de Nucleotídeos Púricos

1. SÍNTESE DE IMP

As purinas são formadas a partir da ribose (ver Figura 41.2) – uma forma ativada desse monossacarídeo é utilizada para iniciar a rota biossintética de purina. A 5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP, do inglês *5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate*) é a fonte ativada da porção ribose. Ela é sintetizada a partir de ATP e ribose-5'-fosfato (Figura 41.3), a qual é produzida a partir de glicose pela rota da pentose-fosfato (ver Capítulo 29). A enzima que catalisa essa reação, PRPP-sintetase, é uma enzima regulatória (ver Seção II.A.5); contudo, essa etapa não é exclusiva da biossíntese de purinas. A PRPP tem muitas outras utilizações, as quais são descritas à medida que o capítulo progride.

Na primeira etapa, exclusiva da rota de biossíntese de purinas, a PRPP reage com glutamina para formar fosforribosilamina (Figura 41.4). Essa reação, a qual fornece o nitrogênio 9 do anel púrico, é catalisada pela glutamina-fosforribosil-amidotransferase, uma enzima altamente regulada.

Na próxima etapa da rota, a molécula de glicina inteira é adicionada ao precursor em formação. A glicina fornece os carbonos 4 e 5 e o nitrogênio 7 do anel púrico (Figura 41.5).

Subseqüentemente, o carbono 8 é fornecido por N^{10}-Formil-FH_4, o nitrogênio 3 por glutamina, o carbono 6 por CO_2, o nitrogênio 1 por aspartato, e o carbono 2 por formil-tetraidrofolato (ver Figura 41.1). Observe que seis moléculas de ATP são necessárias (iniciando com ribose-5-fosfato) para sintetizar o primeiro nucleotídeo púrico monofosfato de inosina (IMP). Tal nucleotídeo contém a base hipoxantina unida por uma ligação *N*-glicosídica do nitrogênio 9 do anel púrico com o carbono 1 da ribose (Figura 41.6).

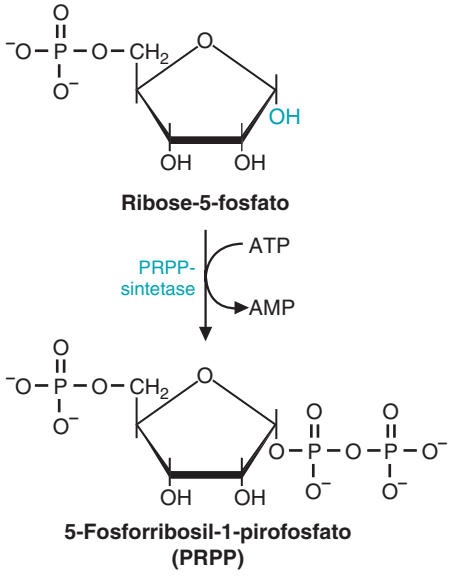


Figura 41.3 Síntese de PRPR. Ribose-5-fosfato é produzida a partir de glicose pela rota da pentose-fosfato.

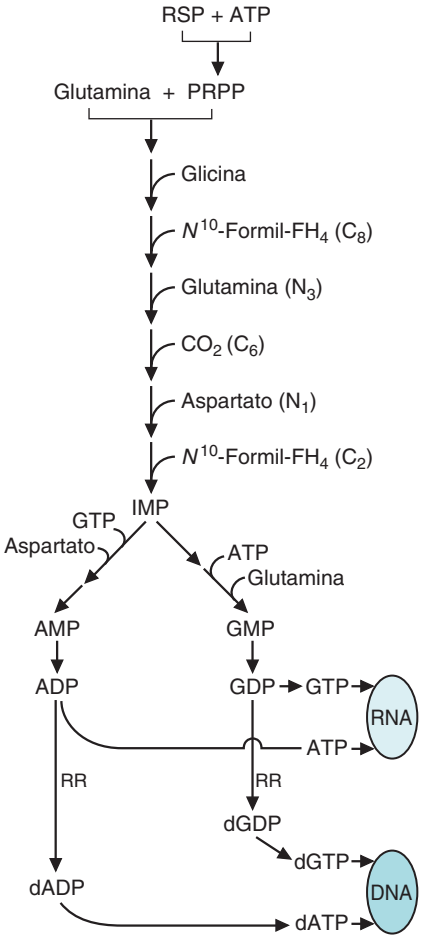


Figura 41.2 Visão geral da produção de purina, iniciando com glutamina, ribose-5-fosfato e ATP. As etapas que necessitam de ATP também estão indicadas nessa figura. RR = ribonucleotídeo-redutase. FH4 = tetraidrofolato. PRPP = 5-fosforribosil-1-pirofosfato.

Concentrações celulares de PRPP e glutamina estão, em geral, abaixo de seu K_m para a glutamina-fosforribosil-amidotransferase. Portanto, qualquer situação que leva a um aumento de sua concentração pode levar a um aumento na biossíntese *de novo* de purina.

A base hipoxantina é encontrada no anticódon de moléculas de tRNA (ela é formada pela desaminação de uma base adenina). O papel da hipoxantina no tRNA é permitir que pares de bases variáveis se formem, uma vez que a base hipoxantina pode formar pares de base com adenina, citosina ou uracil. A variação permite que uma molécula de tRNA forme, potencialmente, pares de base com três códons diferentes.

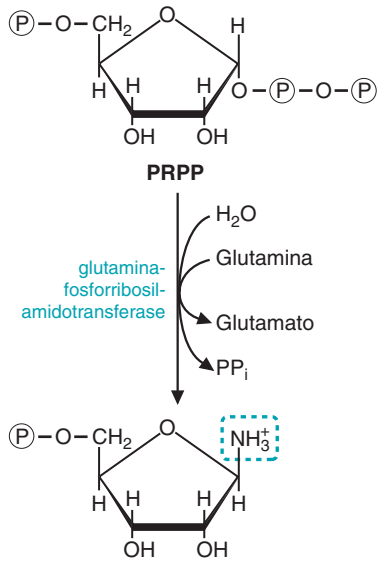


Figura 41.4 A primeira etapa da biossíntese de purina. A base púrica é montada sobre a porção ribose. A disponibilidade do substrato PRPP é o principal determinante da velocidade de dessa reação.

A conversão de aspartato em fumarato também ocorre no ciclo da uréia. Em ambos os casos, o aspartato doa um nitrogênio para o produto, enquanto seus carbonos são liberados como fumarato.

2. SÍNTESE DE AMP

O IMP serve como ponto de ramificação a partir do qual os nucleotídeos adenina e guanina podem ser produzidos (ver Figura 41.2). O monofosfato de adenosina (AMP) é derivado de IMP em duas etapas (Figura 41.7). Na primeira etapa, é adicionado aspartato ao IMP para formar adenilossuccinato, uma reação similar àquela catalisada pela argininossuccinato-sintetase no ciclo da uréia. Observe que essa reação necessita de uma ligação rica em energia, doada pelo GTP. O fumarato é, então, liberado a partir de adenilossuccinato pela enzima adenilossuccinase para formar AMP.

3. SÍNTESE DE GMP

O GMP também é sintetizado a partir de IMP em duas etapas (Figura 41.8). Na primeira etapa, a base hipoxantina é oxidada pela IMP-desidrogenase para produzir a base xantina e o nucleotídeo monofosfato de xantosina (XMP). A glutamina, então, doa o nitrogênio amida para o XMP para formar GMP em uma reação catalisada pela GMP sintetase. Essa segunda reação necessita de energia na forma de ATP.

4. FOSFORILAÇÃO DE AMP E GMP

AMP e GMP podem ser fosforilados para os níveis de di e trifosfato. A produção de nucleosídeos difosfato necessita de nucleosídeo monofosfato-quinases, enquanto a produção de nucleosídeos trifosfato necessita de nucleosídeos difosfato-quinases, as quais são ativas com uma ampla faixa de nucleosídeos-difosfato. Os nucleosídeos púricos trifosfato também são utilizados para os processos, na célula, que necessitam de energia e também como precursores para a síntese de RNA (ver Figura 41.2).

5. REGULAÇÃO DA SÍNTESE DE PURINA

A regulação da síntese de purina ocorre em vários sítios (Figura 41.9). Quatro enzimas-chave são reguladas: PRPP-sintetase, amidofosforribosil-transferase, adenilossuc-

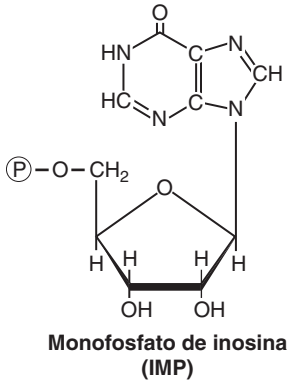


Figura 41.6 Estrutura do monofosfato de inosina (IMP). A base é hipoxantina.

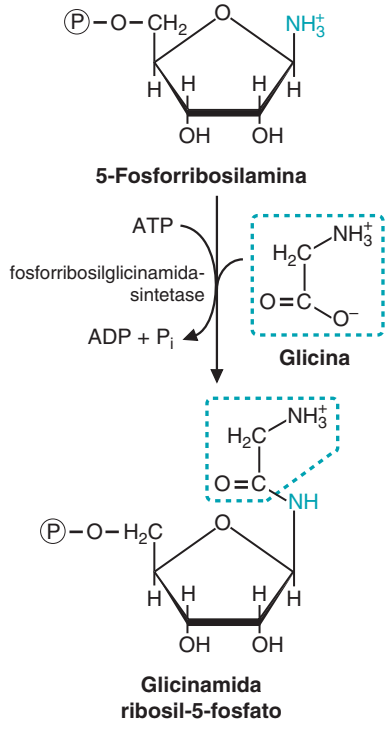


Figura 41.5 Incorporação de glicina no precursor da purina. O ATP é necessário para a condensação do grupo carboxílico da glicina com o grupo 1′-amino da Fosforribosil-1-amina.

cinato-sintetase e IMP-desidrogenase. As duas primeiras enzimas regulam a síntese de IMP; as duas últimas regulam a produção de AMP e GMP, respectivamente.

Um sítio primário de regulação é a síntese de PRPP. A PRPP-sintetase é negativamente afetada por GDP e, em um sítio alostérico distinto, por ADP. Assim, a ligação simultânea de uma oxipurina (p. ex., GDP) e uma aminopurina (p. ex., ADP) pode ocorrer, com o resultado sendo uma inibição sinergística da enzima. Essa enzima não é etapa exclusiva da biossíntese de purina; o PRPP também é utilizado na síntese de pirimidina e nas rotas de recuperação de purina e pirimidina.

A etapa exclusiva da síntese de purina é a formação de 5-fosforribosil-1-amina pela glutamina-fosforribosil-amidotransferase. Essa enzima é fortemente inibida por GMP e AMP (os produtos finais da rota de biossíntese de purina). A enzima também é inibida pelos nucleosídeos di e trifosfato correspondentes, mas, sob condições celulares, esses compostos provavelmente não têm um papel central na regulação. A enzima ativa é um monômero de 133.000 dáltons, mas é convertida em um dímero inativo (270.000 dáltons) pela ligação dos produtos finais.

As enzimas que convertem IMP em XMP e adenilossuccinato são, ambas, reguladas. O GMP inibe a atividade da IMP-desidrogenase, e o AMP inibe a adenilossuccinato-sintetase. Observe que a síntese de AMP é dependente de GTP (do qual GMP é um precursor), enquanto a síntese de GMP é dependente de ATP (o qual é formado a partir de AMP). Isso serve como um tipo de mecanismo regulatório positivo para balancear o fundo comum (*pools*) desses precursores: quando os níveis de ATP estiverem altos, o GMP estará sendo formado; quando os níveis de GTP estiverem altos, a síntese de

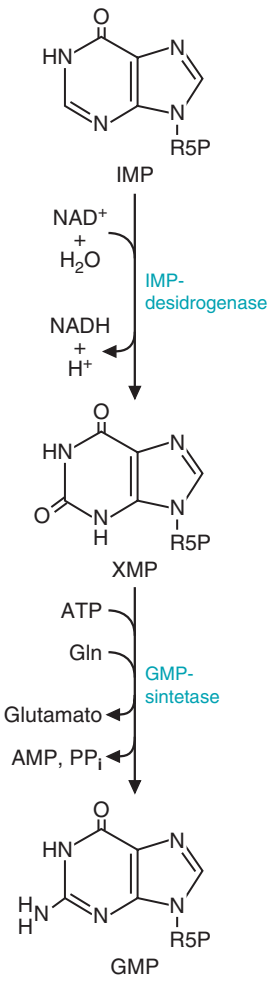


Figura 41.8 A conversão de IMP em GMP. Observe que ATP é requerido para a síntese de GMP.

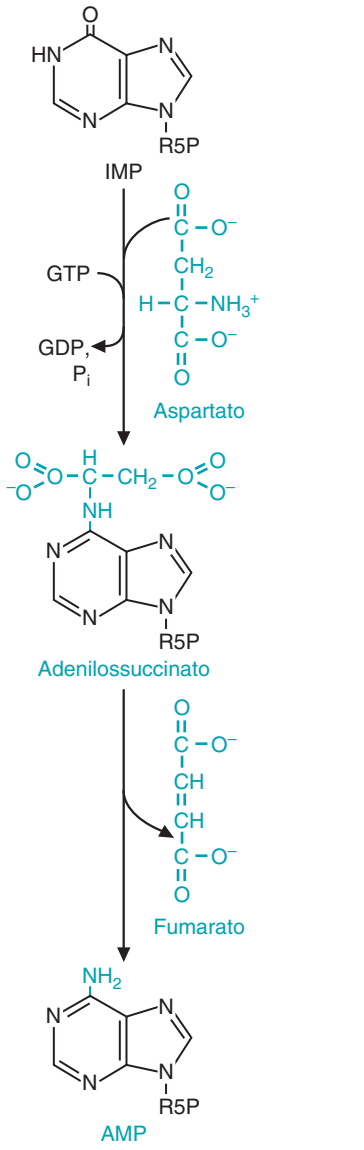


Figura 41.7 A conversão de IMP em AMP. Observe que GTP é necessário para a síntese de AMP.

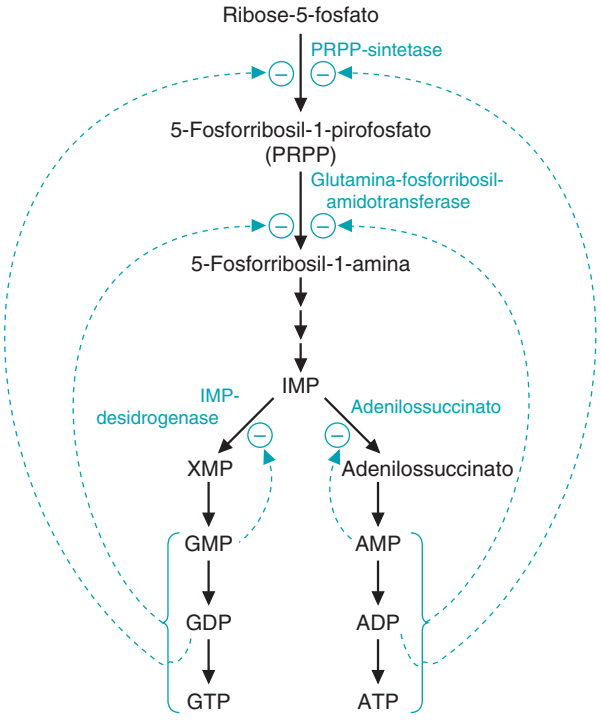


Figura 41.9 A regulação da síntese de purina. A PRPP-sintetase tem dois sítios alostéricos, um para ADP e outro para GDP. A glutamina-fosforribosil-amidotransferase contém sítios de ligação para os nucleotídeos adenina e guanina; os monofosfatos são os mais importantes, embora os di e trifosfatos também se liguem e inibam a enzima. A adenilossuccinato-sintetase é inibida por AMP; a IMP-desidrogenase é inibida por GMP.

AMP ocorrerá. GMP e AMP atuam como efetores negativos em pontos de ramificação, um exemplo clássico de inibição por retroalimentação.

B. Rotas de Recuperação de Purina

A maioria da síntese *de novo* das bases dos nucleotídeos ocorre no fígado e, em alguma extensão, no cérebro, nos neutrófilos e em outras células do sistema imune. No fígado, os nucleotídeos podem ser convertidos em nucleosídeos ou bases livres, as quais podem ser transportadas para outros tecidos através de células sangüíneas vermelhas na circulação. Além disso, as pequenas quantidades de bases ou nucleosídeos da dieta que são absorvidas também entram nas células dessa forma. Assim, a maioria das células podem recuperar essas bases para gerar nucleotídeos para a síntese de RNA e DNA. Para certos tipos celulares, como os linfócitos, a recuperação de bases é a principal forma de produção de nucleotídeos.

O quadro geral da recuperação é mostrado na Figura 41.10. As rotas permitem que bases livres, nucleosídeos e nucleotídeos sejam facilmente interconvertidos. As principais enzimas são a nucleosídeo-purina-fosforilase, a fosforribosil-transferase e a desaminase.

A nucleosídeo-purina-fosforilase catalisa uma reação de fosforólise da ligação N-glicosídica que liga a base à porção glicídica nos nucleosídeos guanosina e inosina (Figura 41.11). Assim, guanosina e inosina são convertidas em guanina e hipoxantina, respectivamente, junto com a ribose-1-fosfato. A ribose-1-fosfato pode ser isomerizada a ribose-5-fosfato e, então, a bases livres recuperadas ou degradadas, dependendo das necessidades celulares.

As enzimas fosforribosil-transferases catalisam a adição de um grupo ribose-5-fosfato a uma base livre, produzindo nucleotídeo e pirofosfato (Figura 41.12). Duas enzimas fazem isso, a adenina-fosforribosil-transferase (APRT, do inglês *adenine*



Uma deficiência na atividade da nucleosídeo-purina-fosforilase leva a um distúrbio imune no qual a imunidade da célula T está comprometida. A imunidade da célula B, ao contrário, pode ser apenas levemente comprometida ou mesmo normal. Crianças sem essa atividade têm infecções mais recorrentes, e mais da metade apresenta complicações neurológicas. Os sintomas do distúrbio aparecem inicialmente entre seis meses e quatro anos de idade.

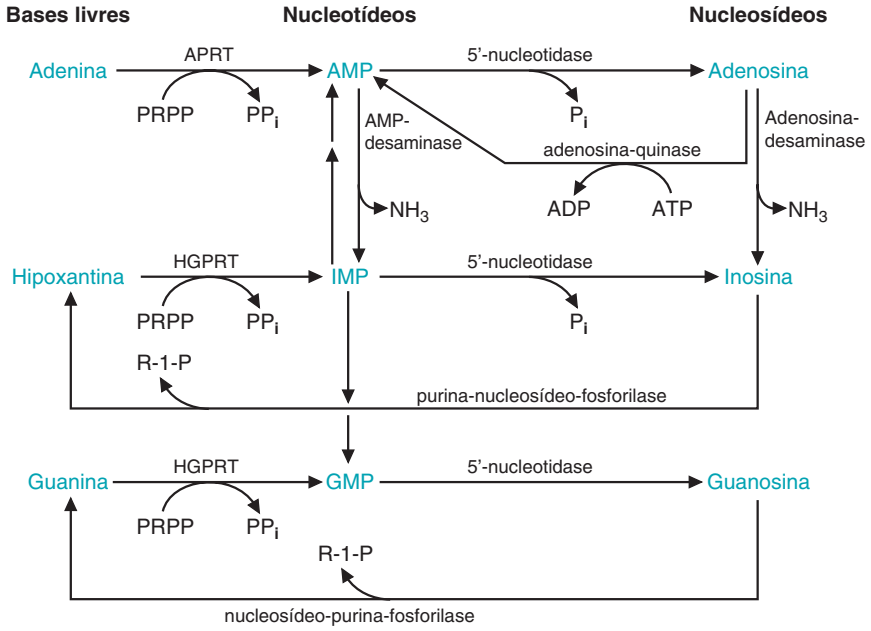


Figura 41.10 Recuperação de bases. As bases púricas hipoxantina e guanina reagem com PRPP para formar os nucleotídeos monofosfato de inosina e monofosfato de guanosina, respectivamente. A enzima que catalisa a reação é a hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferase (HGPRT). A adenina forma AMP em uma reação catalisada pela adenina-fosforribosil-transferase (APRT). Nucleotídeos são convertidos em nucleosídeos pela 5'-nucleotidase. Bases livres são produzidas a partir de nucleosídeos pela nucleosídeo-purina-fosforilase. Ocorre desaminação da base adenina com AMP e adenosina-desaminase. Das purinas, apenas a adenosina pode ser novamente fosforilada a nucleotídeo de forma direta, pela adenosina-quinase.

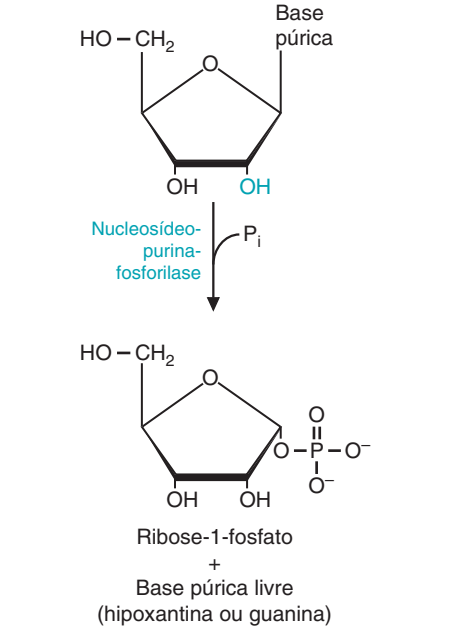


Figura 41.11 A reação da nucleosídeo-purina-fosforilase, convertendo guanosina ou inosina a ribose-1-fosfato mais as bases livres guanina ou hipoxantina.

phosphoribosyl transferase) e a hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferase (HGPRT, do inglês *hipoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase*). As reações que elas catalisam são as mesmas, diferindo apenas na sua especificidade de substrato.

A adenosina e o AMP podem ser desaminados por adenosina-desaminase e AMP-desaminase, respectivamente, para formar inosina e IMP (ver Figura 41.10). A adenosina também é o único nucleosídeo a ser diretamente fosforilado a nucleotídeo pela adenosina-quinase. A guanosina e a inosina devem ser convertidas em bases livres pela nucleosídeo-purina-fosforilase antes de poderem ser convertidas em nucleotídeos pela HGPRT.

Uma porção da rota de recuperação que é importante no músculo é o ciclo do nucleotídeo purina (Figura 41.13). O efeito total dessas reações é a desaminação de aspartato a fumarato (quando AMP é sintetizado a partir de IMP e, então, desaminado novamente a IMP pela AMP-desaminase). Sob condições nas quais o músculo deve produzir energia, o fumarato derivado do ciclo do nucleotídeo purina é utilizado de forma anaplerótica para fornecer intermediários ao ciclo TCA e permitir que o ciclo opere em alta velocidade. Deficiências nas enzimas desse ciclo levam a fadiga muscular durante o exercício.

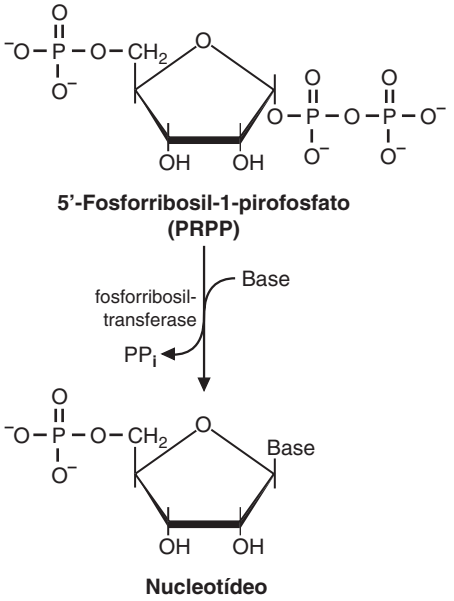


Figura 41.12 A reação da fosforribosil-transferase. A APRT utiliza a base livre adenina; a HGPRT pode usar também hipoxantina ou guanina com substrato.

A síndrome de Lesch-Nyhan é causada pela deficiência de hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferase (HGPRT) (ver Figura 41.12). Nessa condição, as bases púricas não podem ser recuperadas. Em vez disso, elas são degradadas, formando quantidades excessivas de ácido úrico. Indivíduos com essa síndrome sofrem de retardo mental. Eles também tendem a roer seus dedos e a realizar outras ações de automutilação.

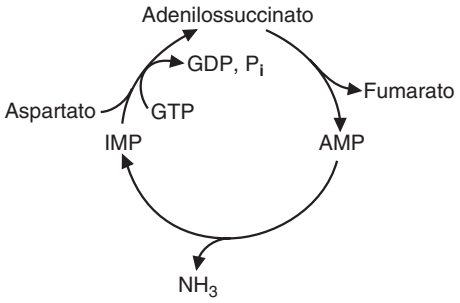


Figura 41.13 O ciclo do nucleotídeo purina. Utilizando uma combinação de enzimas de biossíntese e de recuperação, o efeito líquido é a conversão de aspartato em fumarato mais amônia, com o fumarato tendo um papel anaplerótico no músculo.

Nas bactérias, a aspartato-transcarbamoilase é a etapa regulada da produção de pirimidina. Ela é uma enzima muito complexa e serviu como um modelo de sistema para compreender de que forma as enzimas alostéricas eram reguladas. Em humanos, contudo, essa enzima não é regulada.

III. SÍNTESE DE NUCLEOTÍDEOS PIRIMIDINA

A. Rotas *De Novo*

Na síntese dos nucleotídeos pirimídicos, a base é sintetizada primeiro e, então, é ligada à porção ribose-5'-fosfato (Figura 41.14). A origem dos átomos do anel (aspartato e carbamoil-fosfato, o qual é derivado de dióxido de carbono e glutamina) é mostrada na Figura 41.15. Em uma reação inicial da rota, glutamina se combina com bicarbonato e ATP para formar carbamoil-fosfato. Essa reação é análoga à primeira reação do ciclo da uréia, exceto pelo fato de que ela utiliza glutamina como fonte de nitrogênio (em vez de amônia) e ocorre no citosol (no lugar da mitocôndria). A reação é catalisada pela carbamoi-fosfato-sintetase II, que é a etapa reguladora da rota. A reação análoga na síntese da uréia é catalisada pela carbamoil-fosfato-sintetase I, a qual é ativada por *N*-acetilglutamato. As similaridades entre essas duas enzimas carbamoil-fosfato-sintetases estão descritas na Tabela 41.1.

Na etapa seguinte da biossíntese de pirimidina, toda a molécula de aspartato é adicionada ao carbamoil-fosfato em uma reação catalisada pela aspartato-transcarbamoilase. Subseqüentemente, a molécula se fecha para produzir um anel (catalisada pela diidroorotase), o qual é oxidado para formar ácido orótico (ou seu ânion, orotato) por meio das ações da diidroorotato-desidrogenase. A enzima orotato-fosforribosiltransferase catalisa a transferência de ribose 5-fosfato a partir de PRPP para orotato, produzindo orotidina-5'-fosfato, a qual é descarboxilada pela ácido-orotidílico-desi-

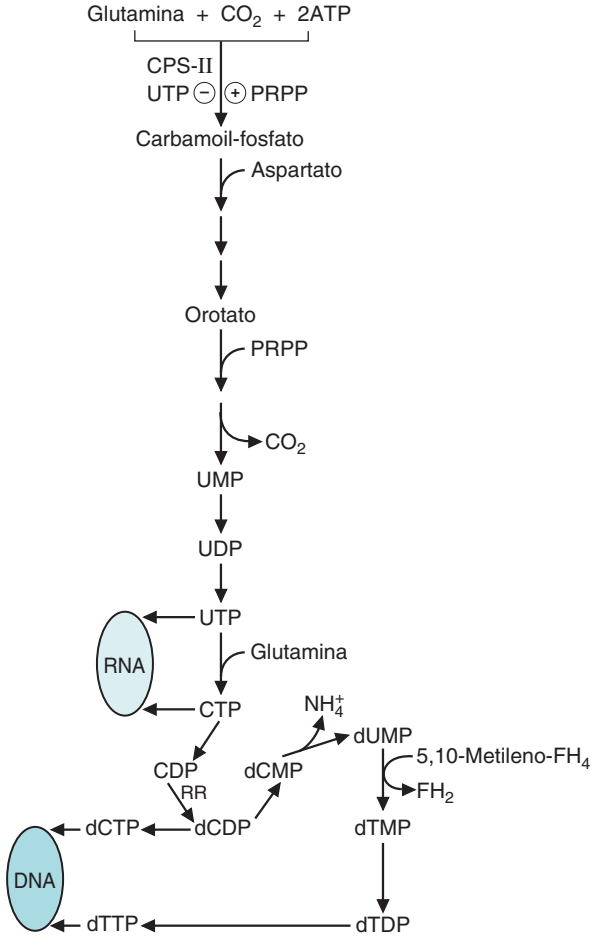


Figura 41.14 Síntese de bases pirimídicas. CPSII = carbamoil-fosfato-sintetase II. RR = ribonucleotídeo-redutase; ⊕ = estimulado por; ⊖ = inibido por; FH_2 e FH_4 = formas de folato.

Tabela 41.1 Comparação das Carbamoil-Fosfato-Sintetases (CPSI e CPSII)

	CPSI	CPSII
Rota	Ciclo da uréia	Biossíntese de pirimidina
Fonte de nitrogênio	NH_4^+	Glutamina
Localização	Mitocôndria	Citosol
Ativador	N-Acetilglutamato	PRPP
Inibidor	–	UTP

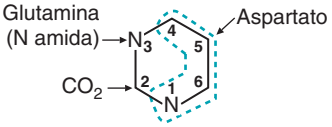


Figura 41.15 A origem das bases no anel de pirimidina.

drogenase para formar monofosfato de uridina (UMP) (Figura 41.16). Em mamíferos, as primeiras três enzimas da rota (carbamoil-fosfato-sintetase II, aspartato-transcarbamoilase e diidroorotase) estão localizadas no mesmo polipeptídeo, chamado CAD. As últimas duas enzimas da rota estão similarmente localizadas em um polipeptídeo conhecido como UMP-sintase (as atividades de orotato-fosforribosil-transferase e ácido orotidílico-desidrogenase).

O UMP é fosforilado a UTP. Um grupo amino, derivado da amida da glutamina, é adicionado ao carbono 4 para produzir CTP pela enzima CTP-sintetase (essa reação não pode ocorrer no nível do nucleotídeo-monofosfato). UTP e CTP são precursores para a síntese de RNA (ver Figura 41.14). A síntese de trifosfato de timidina (TTP) será descrita na Seção IV.

B. Recuperação de Bases Pirimídicas

As bases pirimídicas normalmente são recuperadas por uma rota de duas etapas. Primeiro, uma nucleosídeo-pirimidina-fosforilase não-específica converte bases pirimídicas em seus respectivos nucleosídeos (Figura 41.17). Observe que a direção preferida para tal reação é o inverso da reação da fosforilase, na qual o fosfato está sendo liberado e não está sendo utilizado como nucleófilo para liberar a base pirimídica do nucleosídeo. As nucleosídeo-quinases mais específicas reagem, então, como os nucleosídeos, formando nucleotídeos (Tabela 41.2). Como com as purinas, ocorre uma fosforilação posterior por quinases progressivamente mais específicas; a rota da nucleosídeo-fosforilase – nucleosídeo-quinase para a síntese de nucleosídeos pirimídicos monofosfatos é relativamente ineficiente para a recuperação de bases pirimídicas, pois a concentração de bases no plasma e nos tecidos é muito baixa.

A pirimidina-fosforilase pode utilizar todas as pirimidinas, mas tem preferência por uracil e é algumas vezes chamada de uridina-fosforilase. A fosforilase utiliza bem a citosina, mas tem uma baixa afinidade por timina; portanto um ribonucleosídeo contendo timina quase nunca é formado *in vivo*. Uma segunda fosforilase, a timina-fosforilase, tem uma afinidade muito maior por timina e adiciona um resíduo de desoxirribose (ver Figura 41.17).

Das várias ribonucleosídeo e desoxirribonucleosídeo-quinases, uma que merece menção especial é a *timidina-quinase (*TK, do inglês *thymide linase*). Essa enzima é alostericamente inibida por dTTR. A atividade da timidina-quinase em uma célula é estreitamente relacionada ao estado proliferativo dessa célula. Durante o ciclo celular, a atividade de TK se eleva muito quando a célula entra na fase S, e células se dividindo rapidamente em geral têm níveis altos dessa enzima. A timidina radioativamente marcada é bastante utilizada para a marcação isotópica de DNA, por exemplo, em investigações auto-radiográficas ou para estimar a velocidade intracelular de síntese de DNA.

Tabela 41.2 Reações de Recuperação para Conversão de Nucleosídeos Pirimidina em Nucleotídeos

Enzima	Reação
Uridina-citidina-quinase	Uridina + ATP→ UMP + ADP Citidina + ATP → CMP + ADP
Desoxitimidina-quinase Desoxicitidina-quinase	Desoxitimidina + ATP → dTMP + ADP Desoxicitidina + ATP → dCMP + ADP



Na acidúria orótica hereditária, o ácido orótico é excretado na urina devido a um defeito nas enzimas que o convertem em monofosfato de uridina a orotato-fosforribosil-transferase e a orotidina-5-fosfato-descarboxilase (ver Figura 41.16). Pirimidinas não podem ser sintetizadas, e, portanto, não ocorre crescimento normal. A administração oral de uridina é utilizada para tratar tal condição. A uridina, a qual é convertida em UMP, desvia do bloqueio metabólico e supre o corpo com uma fonte de pirimidinas, uma vez que CTP e dTMP podem ser produzidos a partir de UMP.

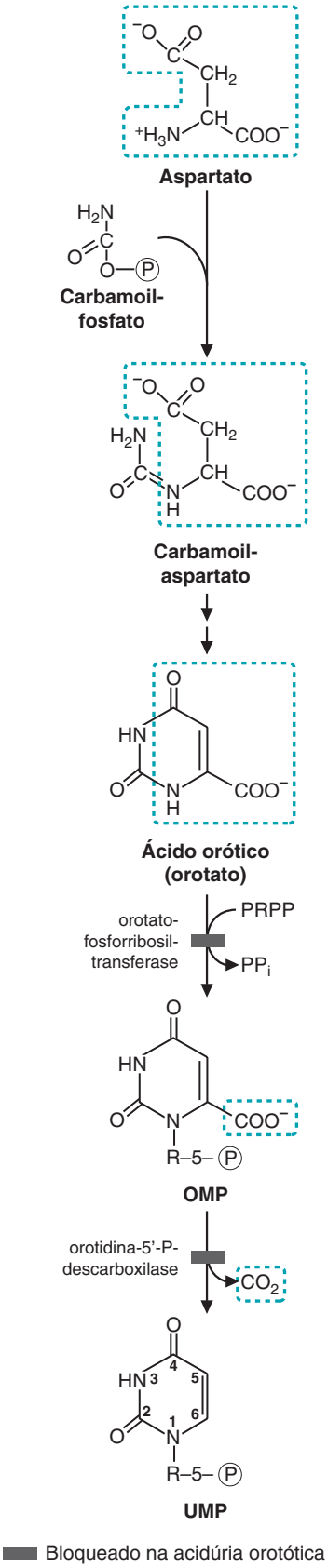


Figura 41.16 Conversão de carbamoil-fosfato e aspartato em UMP. As enzimas defeituosas na acidúria orótica hereditária estão indicadas (▬).

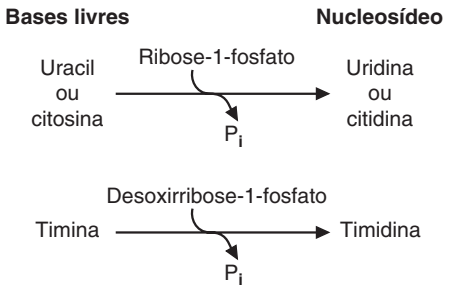


Figura 41.17 Reações de recuperação para a produção do nucleosídeo pirimidina. A timina-fosforilase utiliza desoxirribose-1-fosfato como substrato, de tal forma que a ribotimidina raramente é formada.

C. Regulação da Síntese *De Novo* de Pirimidina

A etapa regulada da síntese de pirimidina em humanos é a carbamoil-fosfato-sintetase II. A enzima é inibida por UTP e ativada por PRPP (ver Figura 41.14). Assim, quando as pirimidinas diminuem em concentração (como indicado pelos níveis de UTP), a CPSII é ativada, e as pirimidinas são sintetizadas. A atividade também é regulada pelo ciclo celular. Quando as células se aproximam da fase S, a CPSII se torna mais sensível à ativação por PRPP e menos sensível à inibição por UTP. No final da fase S, a inibição por UTP é mais pronunciada, e a ativação por PRPP está reduzida. Essas alterações nas propriedades alostéricas da CPSII estão relacionadas ao seu estado de fosforilação. A fosforilação da enzima em um sítio específico por uma MAP-quinase leva a uma ativação mais fácil da enzima. A fosforilação de um segundo sítio por proteína-quinase dependente de AMPc leva a uma inibição mais fácil da enzima.

IV. A PRODUÇÃO DE DESOXIRRIBONUCLEOTÍDEOS

Para que ocorra síntese de DNA, a porção ribose deve ser reduzida a desoxirribose (Figura 41.18). Essa redução ocorre no nível do dinucleotídeo e é catalisada pela ribonucleotídeo-redutase, a qual necessita da proteína-tiorredoxina. Os desoxirribonucleosídeos difosfato podem ser fosforilados para o nível de trifosfato e utilizados como precursores para a síntese de DNA (ver Figuras 41.2 e 41.14).

A regulação da ribonucleotídeo-redutase é muito complexa. A enzima contém dois sítios alostéricos, um controlando a atividade da enzima e o outro controlando a especificidade do substrato pela enzima. O ATP ligado ao sítio de atividade ativa a enzima; o dATP ligado a esse sítio inibe a enzima. A especificidade do substrato é mais complexa. O ATP ligado ao sítio do substrato ativa a redução de pirimidinas (CDP e UDP), para formar dCDP e dUDP. O dUDP não é utilizado para a síntese de DNA, mas é utilizado para produzir dTMP (ver a seguir). Uma vez produzido o dTMP, ele é fosforilado a dTTP, o qual, então, se liga ao sítio do substrato e induz a redução de GDP. Quando o dGTP se acumula, substitui o dTTP no sítio do substrato e permite que o ADP seja reduzido a dADP. Esse leva ao acúmulo de dATP, o qual inibirá a atividade total da enzima. Essas alterações alostéricas são resumidas na Tabela 41.3.

O dUDP pode ser desfosforilado para formar dUMP, ou, de modo alternativo, o dCMP pode ser desaminado para formar dUMP. O metileno tetraidrofolato transfere um grupo metila para dUMP para formar dTMP (ver Figura 40.5). Reações de fosforilação produzem dTTP, um precursor para síntese de DNA e um regulador da ribonucleotídeo-redutase.

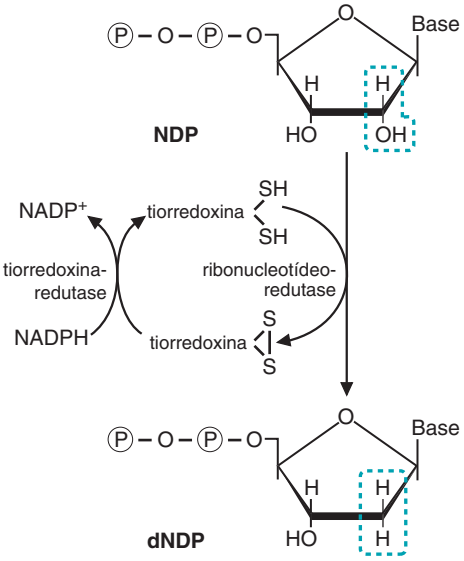


Figura 41.18 Redução da ribose a desoxirribose. A redução ocorre no nível do nucleosídeo-difosfato. Um ribonucleosídeo-difosfato (NDP) é convertido em desoxirribonucleosídeo-difosfato (dNDP). A tiorredoxina é oxidada a um dissulfeto, o qual deve ser reduzido para que a reação continue a produzir dNDP. N = uma base nitrogenada.

V. DEGRADAÇÃO DE BASES PÚRICAS E PIRIMÍDICAS

A. Bases Púricas

A degradação de nucleotídeos púricos (AMP e GMP) ocorre principalmente no fígado (Figura 41.19). São utilizadas enzimas de recuperação para a maioria das reações. O AMP é inicialmente desaminado para produzir IMP (AMP-desaminase). Então, IMP e GMP são desfosforilados (5'-nucleotidase), e a ribose é quebrada da base pela nucleosídeo-purina-fosforilase. Hipoxantina, a base produzida pela quebra de IMP, é convertida, pela xantina-oxidase, a xantina, e guanina é desaminada pela ezima guanase para pro-

Tabela 41.3 Efetores da Atividade da Ribonucleotídeo-redutase

Substrato Preferido	Efetor Ligado ao Sítio de Atividade Geral	Efetor Ligado ao Sítio de Especificidade do Substrato
Nenhum	dATP	Qualquer nucletotídeo
CDP	ATP	ATP ou dATP
UDP	ATP	ATP ou dATP
ADP	ATP	dGTP
GDP	ATP	dTTP

Quando a ornitina-transcarbamoilase está deficiente (distúrbio do ciclo da uréia), o excesso de carbamoil-fosfato da mitocôndria escapa para o citoplasma. Os níveis elevados de carbamoil-fosfato citoplasmática levam à produção de pirimidina, à medida que a etapa reguladora da rota, a reação catalisada pela carbamoil-sintetase II, está sendo desviada. Assim, ocorre acidúria orótica.

Q: A gota é causada por níveis excessivos de ácido úrico no sangue e nos tecidos. Para determinar se uma pessoa com gota desenvolveu esse problema devido a uma produção em excesso de nucleotídeos púricos ou a uma habilidade diminuída de excretar ácido úrico, uma dose oral de aminoácido marcado com N^{15} é utilizada algumas vezes. Quais aminoácidos seriam mais apropriados para esse propósito?

A molécula inteira de glicina é incorporada no precursor dos nucleotídeos púricos. O nitrogênio dessa glicina também aparece no ácido úrico, o produto da degradação de purinas. A glicina marcada com N^{15} poderia ser utilizada, portanto, para determinar se estão sendo produzidas purinas em excesso.

O ácido úrico tem um p*K* de 5,4. Ele é ionizado no corpo para formar urato, o qual não é muito solúvel em um meio aquoso. A quantidade de urato no sangue humano normal é muito próxima da sua constante de solubilidade.

Normalmente, quando as células morrem, seus nucleotídeos púricos são degradados a hipoxantina e xantina, as quais são convertidas em ácido úrico pela xantina-oxidase (ver Figura 41.15). O alopurinol (um análogo estrutural da hipoxantina) também é um substrato para a xantina-oxidase. Ele é convertido em oxipurinol (também chamado de aloxantina), o qual permanece muito ligado à enzima, impedindo posterior atividade catalítica (ver Figura 8.19). Assim, o alopurinol é um inibidor suicida. Ele reduz a produção de ácido úrico e, dessa forma, sua concentração no sangue e nos tecidos (p. ex., a camada sinovial das articulações no dedão do pé de **Lana Topaigne**). A xantina e a hipoxantina se acumulam, e os níveis de urato diminuem. De modo geral, a quantidade de purinas que está sendo degradada é distribuída por três produtos em vez de aparecer em apenas um. Portanto, nenhum dos componentes excede sua constante de solubilidade, não ocorre precipitação, e os sintomas de gota desaparecem gradualmente.

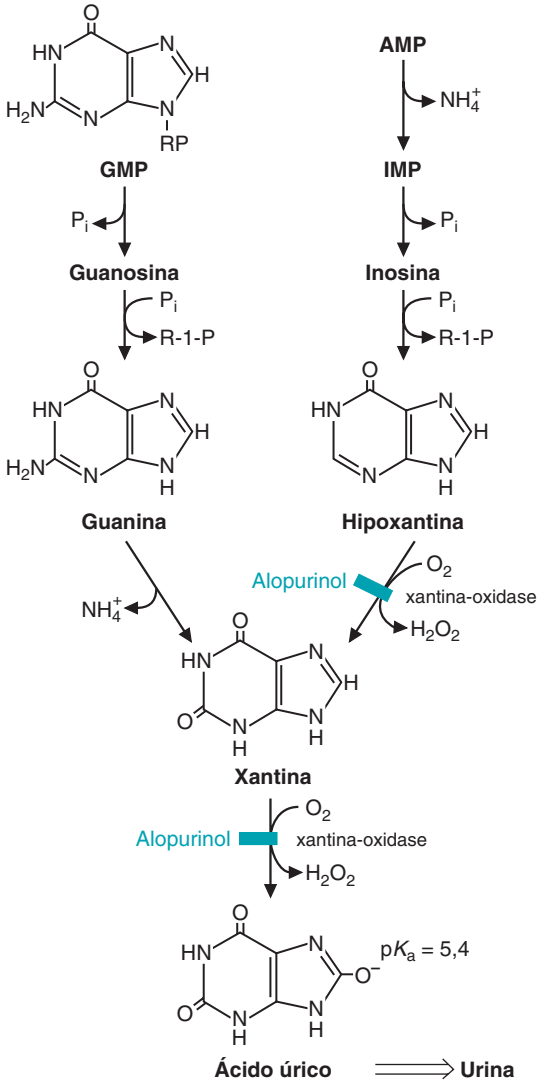


Figura 41.19 Degradação das bases púricas. Em azul, estão indicadas as reações inibidas por alopurinol. Existe uma segunda forma de xantina-oxidase que utiliza NAD^+ no lugar de O_2 como aceptor de elétrons.

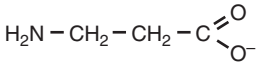
duzir xantina. As rotas para degradação de adenina e guanina se fundem nesse ponto. A xantina é convertida pela xantina-oxidase em ácido úrico, o qual é excretado na urina. A xantina-oxidase é uma enzima que necessita de molibdênio e utiliza oxigênio molecular e produz peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Existe outra forma de xantina-oxidase que utiliza NAD^+ como o aceptor de elétrons (ver Capítulo 24).

Pouca energia é derivada da degradação do anel de purina. Por isso, e pela necessidade de gastar energia pra produzi-lo, é mais vantajoso para as células reciclar e recuperar o anel.

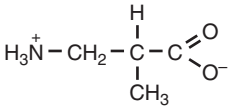
B. Bases Pirimídicas

Os nucleotídeos pirimídicos são desfosforilados, e os nucleosídeos quebrados, para produzir ribose-1-fosfato e as bases pirimídicas livres citosina, uracil, e timina. A citosina é desaminada, formando uracil, o qual é convertido em CO_2, NH_4^+ e β-alanina. A timina é convertida em CO_2, NH_4^+ e β-aminoisobutirato (Figura 41.20). Esses produtos da degradação de pirimidina são excretados na urina ou convertidos em CO_2,

H_2O e NH_4^+ (o qual forma uréia). Eles não causam qualquer problema para o corpo, ao contrário do urato, que é produzido a partir de purinas e pode precipitar, causando gota. Como na rota de degradação de purinas, pouca energia pode ser produzida pela degradação de pirimidina.



β-Alanina



β-Aminoisobutirato

Figura 41.20 Produtos finais hidrossolúveis da degradação de pirimidina.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

A hiperuricemia, no caso de **Lotta Topaigne**, surgiu como uma conseqüência da produção excessiva de ácido úrico. O tratamento com alopurinol não apenas inibe a xantina-oxidase, diminuindo a formação de ácido úrico com um aumento na excreção de hipoxantina e xantina, mas também diminui a síntese total de nucleotídeos púricos. A hipoxantina e a xantina produzidas pela degradação de purina são recuperadas (i.e., convertidas em nucleotídeos) por um processo que necessita do consumo de PRPP. O PRPP é um substrato para a reação da glutamina-fosforribosil-amidotransferase que inicia a biossíntese de purinas. Como os níveis celulares normais de PRPP e glutamina são menores do que o K_m da enzima, alterações no nível do substrato podem acelerar ou reduzir a velocidade da reação. Portanto, níveis diminuídos de PRPP causam síntese diminuída de nucleotídeos púricos.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Uma deficiência na atividade da adenosina-desaminase leva a uma doença de imunodeficiência combinada grave (SCLD, do inglês *severe combined immunodeficiency disease*). Na forma grave de imunodeficiência combinada, as células T (as quais fornecem imunidade celular, ver Capítulo 44) e as células B (as quais produzem anticorpos) estão deficientes, deixando o indivíduo sem sistema imune. Crianças nascidas com esse distúrbio não têm a glândula timo e sofrem de muitas infecções oportunísticas devido à falta de sistema imune funcional. Se a criança não é colocada em um ambiente estéril, ela morre. A administração de adenosina-desaminase modificada com polietilenoglicol obteve sucesso no tratamento dessa doença, e o gene ADA foi o primeiro a ser utilizado em terapia gênica para tratar o distúrbio. A questão que permanece, contudo, é que, embora as células do corpo não tenham atividade ADA, por que as células imunes são os alvos específicos para destruição?

O distúrbio imune específico não é causado por nenhum defeito na rota de recuperação de purina, uma vez que crianças com a síndrome de Lesch-Nyhan têm um sistema imune funcional, mesmo que haja outros problemas nessas crianças. Isso sugere que o acúmulo de precursores de ADA talvez leve a efeitos tóxicos. Três hipóteses foram propostas e são destacadas a seguir.

Na ausência de atividade de ADA, a adenosina e a desoxiadenosina se acumularão. Quando a desoxiadenosina se acumula, a adenosina-quinase pode convertê-la em dAMP. Outras quinases permitirão que dATP se acumule no linfócito. Por que especificamente o linfócito? As outras células do corpo estão secretando a desoxiadenosina que elas não podem utilizar, e ela se acumula na circulação. Quando os linfócitos estão presentes na circulação, eles tendem a acumular esse composto mais do que as outras células que não estão presentes constantemente no sangue. Quando o dATP se acumula, a ribonucleotídeo-redutase é inibida, e as células não podem mais produzir desoxirribonucleotídeos para a síntese de DNA. Assim, células que deveriam crescer e diferenciar em resposta a citoquinas se não podem e, então, morrem.

Uma segunda hipótese sugere que o acúmulo de desoxiadenosina nos linfócitos leva a uma inibição de *S*-adenosil-homocisteína-hidrolase, a enzima que converte *S*-adenosil-homocisteína em homocisteína e adenosina. Isso leva à hipometilação e a um acúmulo de *S*-adenosil-homocisteína na célula. O acúmulo de S-adenosil-homocisteína foi relacionado ao início de apoptose.

A terceira hipótese sugerida é que níveis elevados de adenosina levam à ativação inapropriada de receptores de adenosina. A adenosina é também uma molécula sinalizadora, e a estimulação de receptores da adenosina resulta em ativação da proteína-

Uma vez que a biossíntese e a recuperação de nucleotídeos foram compreendidas no nível da rota, fica rapidamente entendido que uma maneira de inibir a proliferação celular seria bloquear a síntese de purina ou pirimidina. Assim, foram desenvolvidos fármacos que interfeririam na habilidade de uma célula em produzir precursores para a síntese de DNA, inibindo, dessa forma, o crescimento celular. Isso é particularmente importante para células cancerosas, as quais perderam as propriedades regulatórias do crescimento normal. Tais fármacos foram introduzidos previamente em diversos pacientes. **Colin Tuma** foi tratado com 5-fluorouracil, o qual inibe a timidilato-sintase (síntese de dUMP a TMP). **Arlyn Foma** foi tratado, para a leucemia, com metotrexato, que inibe a diidrofolato-redutase, bloqueando, assim, a regeneração do tetraidrofolato e a síntese *de novo* de purina e a síntese de timidina. **Mannie Weitzels** foi tratado com hidroxiuréia para bloquear a atividade da ribonucleotídeo-redutase, com o objetivo de inibir a síntese de DNA nas células leucêmicas. O desenvolvimento desses fármacos não teria sido possível sem uma compreensão da bioquímica da recuperação e da síntese de purina e pirimidina. Tais fármacos também afetam células que se dividem rapidamente, o que causa inúmeros efeitos colaterais nos regimes terapêuticos.

Tabela 41.1 Distúrbios Gênicos no Metabolismo de Purina e Pirimidina

Doença	Defeito Gênico	Metabólitos que Acumulam	Sintomas Clínicos
Gota	Causas múltiplas	Ácido úrico	Articulações dolorosas
Doença de imunodeficiência combinada grave (SCID)	Adenosina-desaminase (rota de recuperação de purina)	Desoxiadenosina e derivados	Perda de sistema imune, incluindo células não T ou B
Doença de imunodeficiência	Purina-nucleosídeo-fosforilase	Nucleosídio purina	Perda parcial do sistema imune; sem células T, mas células B estão presentes
Síndrome de Lesch-Nyhan	Hipoxantina-guanina fosforribosil-transferase	Purinas, ácido úrico	Retardo mental, automutilação
Acidúria orótica hereditária	UMP-sintase	Ácido orótico	Retardo de crescimento

quinase A e níveis elevados de AMPc nos timócitos. Níveis elevados de AMPc nessas células dispara apoptose e parada do desenvolvimento da célula.

Embora ainda não seja claro qual o mecanismo potencial que melhor explica a parada de crescimento de células imunes, é claro que níveis elevados de adenosina e desoxiadenosina são tóxicos. Os distúrbios bioquímicos do metabolismo de purina e pirimidina discutidos neste capítulo estão resumidos na Tabela 41.4.

Leituras Sugeridas

Becker MA. Hyperuricemia and gout. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, vol II, 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:2513–2535.

Hershfield MS, Mitchell BS. Immunodeficiency diseases caused by adenosine deaminase deficiency and purine nucleosede phosphorylase deficiency. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, vol II, 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:2585-2625.

Webster DR, Becroft DMO, Van Gennip AH, Van Kuilenberg ABP. Hereditary orotic aciduria and other disorders of pyrimidine metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. the Metabolic e Molecular Bases of Inherited Disease, vol II, 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:2663-2702.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 41

1. Qual das seguintes alternativas inclui similaridades entre carbamoil-fosfato-sintetase I e carbamoil-fosfato-sintetase II?

   (A) Fonte de carbono
   (B) Localização intracelular
   (C) Fonte de nitrogênio
   (D) Regulação por N-acetilglutamato
   (E) Regulação por UMP

2. Gota pode ser o resultado de uma deficiência na atividade de qual das seguintes enzimas?

   (A) Glutamina-fosforribosil-amidotransferase
   (B) Glicose-6-fosfatase
   (C) Glicose-6-fosfato-desidrogenase
   (D) PRPP-sintetase
   (E) Purina-nucleosídeo-fosforilase

3. A síndrome de Lesch-Nyhan é causada por uma inabilidade de catalisar qual das seguintes reações?

   (A) Adenina a AMP
   (B) Adenosina a AMP
   (C) Guanina a GMP
   (D) Guanosina a GMP
   (E) Timina a TMP
   (F) Timidina a TMP

4. O alopurinol pode ser utilizado para tratar gota devido a sua habilidade de inibir qual das seguintes reações?

   (A) AMP a XMP
   (B) Xantina a ácido úrico
   (C) Inosina a hipoxantina
   (D) IMP a XMP
   (E) XMP a GMP

5. A regulação da ribonucleotídeo-redutase é muito complexa. Assumindo que uma deficiência enzimática leva a níveis bastante elevados de dGTP, qual efeito sobre a redução de ribonucleotídeos a desoxirribonucleotídeos sob essas condições você predizeria?

   (A) Níveis elevados de dCDP serão produzidos.
   (B) A formação de ADP será favorecida.
   (C) O AMP começaria a ser reduzido.
   (D) A tiorredoxina reduzida iria se tornar autolimitante, reduzindo, assim, a atividade da ribonucleotídeo-redutase.
   (E) A desoxi-GTP iria se ligar ao sítio de atividade geral e inibiria o funcionamento da enzima.

42 Relações Interteciduais no Metabolismo de Aminoácidos

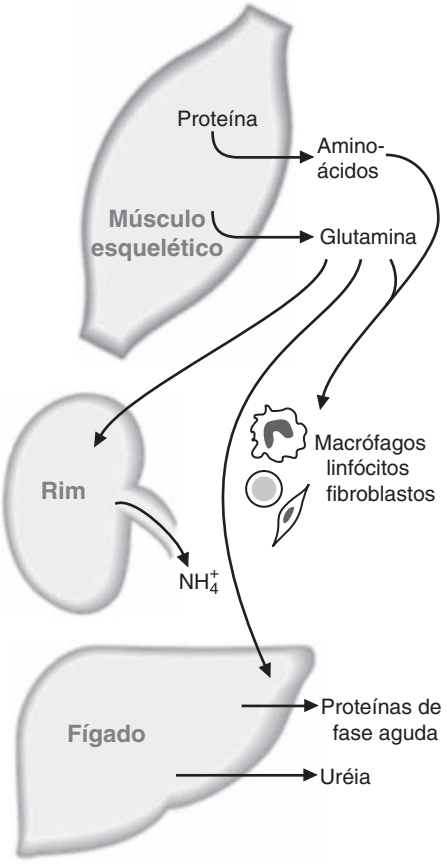


Figura 42.1 Fluxo de aminoácidos em sepse e trauma. Na sepse e na injúria traumática, a glutamina e outros aminoácidos são liberados pelo músculo esquelético para captação pelos tecidos envolvidos na resposta imune e no reparo tecidual, os quais incluem macrófagos, linfócitos, fibroblastos e fígado. A excreção de nitrogênio como uréia e NH_4^+ resulta em um balanço nitrogenado negativo.

O corpo mantém um pool *de aminoácidos livres relativamente grande no sangue, mesmo durante o jejum. Como resultado, os tecidos têm acesso contínuo a aminoácidos individuais para a síntese de proteínas e derivados de aminoácidos essenciais, como neurotransmissores. O* pool *de aminoácidos também fornece ao fígado* ***substratos aminoácidos*** *para a* ***gliconeogênese*** *e uma fonte de* ***substrato energético*** *para vários outros tipos de célula. O* **pool** ***de aminoácidos livres*** *é derivado dos* ***aminoácidos da dieta*** *e do* **turnover** ***de proteínas*** *no corpo. Durante um* ***jejum noturno*** *e nos* ***estados hipercatabólicos***, *a* ***degradação*** *de* ***proteínas*** *lábeis, particularmente as do* ***músculo esquelético***, *é a principal fonte de aminoácidos livres.*

O fígado é o principal local de metabolismo de aminoácidos, ***síntese de uréia*** *e degradação de aminoácidos no corpo. Os hepatócitos oxidam parcialmente a maioria dos aminoácidos, convertendo o esqueleto de carbono em glicose, corpos cetônicos ou CO_2. Como a amônia é tóxica, o fígado converte a maioria do nitrogênio da degradação de aminoácidos em uréia, a qual é excretada na urina. O nitrogênio derivado do catabolismo de aminoácidos em outros tecidos é transportado para o fígado como* ***alanina*** *ou* ***glutamina*** *e convertido em uréia.*

Os ***aminoácidos de cadeia ramificada*** *(BCAA, do inglês* **b**ranched-**c**hain **a**mino **a**cids*) (valina, isoleucina e leucina) são oxidados principalmente no* ***músculo esquelético*** *e em outros tecidos, e não no fígado. No músculo esquelético, os esqueletos de carbono e um pouco do nitrogênio são convertidos em glutamina, que é liberada no sangue. O restante do nitrogênio é incorporado em alanina, a qual é captada pelo fígado e convertida em uréia e glicose.*

A formação e a liberação de glutamina pelo músculo esquelético e por outros tecidos servem a várias funções. No rim, o NH_4^+ carregado pela glutamina é excretado na urina. Esse processo remove prótons formados durante a oxidação de substratos energéticos e ajuda a manter o pH do corpo, especialmente durante acidose metabólica. A ***glutamina*** *também fornece um* ***substrato energético*** *para o* ***rim*** *e o* ***intestino***. *Em células em rápida divisão (p. ex., linfócitos e macrófagos), a glutamina é necessária como substrato energético, como doadora de nitrogênio para reações biossintéticas e como substrato para a síntese protéica.*

Em condições de ***sepse*** *(presença de vários organismos patogênicos, ou suas toxinas, no sangue ou nos tecidos),* ***trauma***, ***injúria*** *ou* ***queimaduras***, *o corpo entra em* ***estado catabólico***, *caracterizado por um* ***balanço nitrogenado negativo*** *(Figura 42.1). O aumento da taxa líquida de degradação protéica no músculo esquelético aumenta a disponibilidade de glutamina e de outros aminoácidos para a divisão celular e a síntese protéica nas células envolvidas na resposta imune e na cicatrização. Nessas condições, uma liberação aumentada de glicocorticóides do córtex adrenal estimula a proteólise.*

SALA DE ESPERA

Katta Bolic, uma mulher moradora de rua de 62 anos, foi encontrada por uma criança da vizinhança que ouviu os gemidos de Katta vindo de um prédio abandonado. A mãe da criança chamou a polícia, a qual levou Katta para a emergência do hospital. A paciente estava semicomatosa, com incontinência urinária, e suas roupas estavam sujas de vômito. Ela tinha febre de 39,4 ºC, estava tremendo de forma descontrolada, parecia estar com uma grave desidratação e tinha uma perda muscular importante. A freqüência cardíaca estava muito rápida, e a pressão sangüínea estava baixa (85/46 mm Hg). O abdômen estava distendido e sem ruídos intestinais. Ela respondia à pressão moderada no abdômen com gemidos e caretas.

Foi enviado sangue para um perfil laboratorial amplo, e exames de cultura de microrganismos em urina, fezes, faringe e sangue foram realizados. Foram iniciados glicose e soro fisiológico via intravenosa e antibióticos de amplo espectro via parenteral. O raio X realizado após os sinais vitais terem estabilizado sugeriu uma perfuração intestinal. Esses achados eram compatíveis com um diagnóstico de ruptura visceral (p. ex., um divertículo colônico infectado que perfurou, permitindo que bactérias colônicas infectassem a cavidade peritoneal, causando peritonite). Outros exames confirmaram que um divertículo tinha rompido, e a cirurgia apropriada foi realizada. Em todas as culturas de sangue arterial cresceu *Escherichia coli*, indicando que Katta também tinha uma infecção gram-negativa no sangue (septicemia), a qual tinha sido inoculada pela proliferação de organismos na cavidade peritoneal. A terapia intensiva com líquidos e eletrólitos e a cobertura com antibióticos foram continuadas. A equipe médica (cirurgiões, residentes e nutricionistas) iniciou um plano terapêutico complexo para reverter o estado catabólico grave de Katta.

I. MANUTENÇÃO DO *POOL* DE AMINOÁCIDOS LIVRES NO SANGUE

O corpo mantém um *pool* relativamente grande de aminoácidos livres no sangue, mesmo na ausência de ingestão de proteínas da dieta. O grande *pool* de aminoácidos livres assegura a disponibilidade contínua de aminoácidos individuais para os tecidos para a síntese de proteínas, neurotransmissores e outros compostos nitrogenados (Figura 42.2). Em um indivíduo normal, bem-nutrido e saudável, cerca de 300 a 600 g de proteína corporal são degradados por dia. Ao mesmo tempo, aproximadamente 100 g de proteína são consumidos na dieta por dia, o que acrescenta aminoácidos adicionais. Desse *pool*, os tecidos utilizam aminoácidos para sua síntese contínua de novas proteínas (300 a 600 g) para repor aquelas degradadas. O *turnover* contínuo de proteínas no corpo faz com que o complemento completo de aminoácidos fique disponível para a síntese de novas e diferentes proteínas, como os anticorpos. O *turnover* protéico permite mudanças na quantidade de diferentes proteínas produzidas nos tecidos em resposta às mudanças no estado fisiológico e remove continuamente as proteínas danificadas ou modificadas. Ele também fornece um *pool* completo de aminoácidos específicos que podem ser utilizados como substratos oxidáveis, precursores para a gliconeogênese e para a síntese de heme, creatina-fosfato, purinas, pirimidinas e neurotransmissores, para a amoniogênese para manter os níveis de pH sangüíneo e para um grande número de outras funções.

A. Fluxo Interórgãos de Aminoácidos no Estado Pós-Absortivo

O estado de jejum proporciona um exemplo de fluxo interórgãos de aminoácidos necessários para manter o *pool* de aminoácidos livres no sangue e suprir os tecidos com seus aminoácidos requeridos (Figura 42.3). Durante o jejum noturno, a síntese protéica no fígado e em outros tecidos continua, mas em uma taxa diminuída em comparação com

A concentração de aminoácidos livres no sangue não é controlada de forma rígida como os níveis de glicose sangüínea. O *pool* de aminoácidos livres no sangue é apenas uma pequena parte (0,5%) do *pool* total de aminoácidos em todas as proteínas do corpo. Devido à grande massa muscular esquelética, cerca de 80% das proteínas totais do corpo encontram-se nesse músculo. Conseqüentemente, a concentração de aminoácidos individuais no sangue é bastante afetada pelas taxas de síntese e degradação protéicas no músculo esquelético, bem como a taxa de captação e utilização de aminoácidos individuais para o metabolismo no fígado e em outros tecidos. Para a maioria dos tecidos, mudanças na taxa de síntese e degradação protéicas acontecem em um lapso de horas.

Q: Quais mudanças nos níveis de hormônios e no metabolismo energético ocorrem durante um jejum noturno?

R: As mudanças hormonais que ocorrem durante um jejum noturno incluem diminuição dos níveis de insulina sangüínea e aumento de glucagon em relação aos níveis encontrados após uma refeição rica em carboidrato. Os níveis de glicocorticóides também aumentam no sangue. Esses hormônios coordenam as mudanças do metabolismo de gorduras, carboidratos e aminoácidos. Ácidos graxos são liberados dos triacilgliceróis do tecido adiposo e são utilizados como o principal substrato energético pelo coração, pelo músculo esquelético, pelo fígado e por outros tecidos. O fígado converte uma porção dos ácidos graxos em corpos cetônicos. Os estoques de glicogênio hepático estão diminuídos, e a gliconeogênese torna-se o principal suporte para os níveis de glicose sangüínea para os tecidos glicose-dependentes. Os principais precursores da gliconeogênese incluem aminoácidos liberados pelo músculo esquelético, lactato e glicerol.

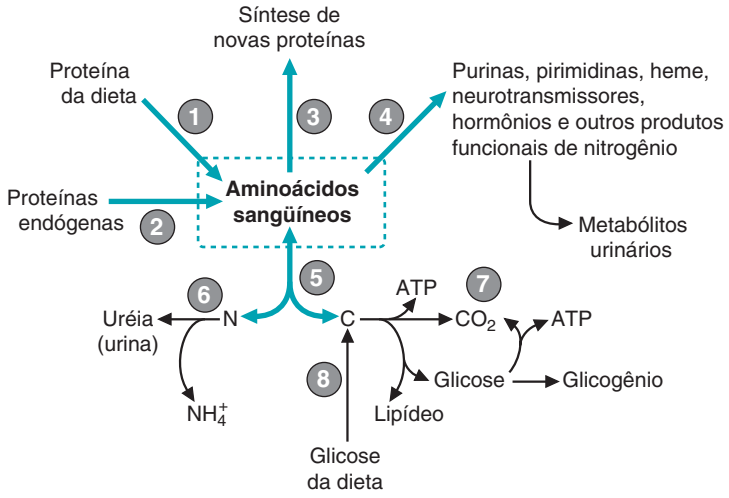


Figura 42.2 Manutenção do *pool* de aminoácidos do sangue. As proteínas da dieta (1) e a degradação de proteínas endógenas (2) são uma fonte de aminoácidos essenciais (aqueles que não podem ser sintetizados nos seres humanos). 3. A síntese de novas proteínas é a principal utilização dos aminoácidos do *pool* de aminoácidos livres. 4. Os compostos sintetizados a partir de precursores aminoácidos são essenciais para as funções fisiológicas. Muitos desses compostos são degradados a metabólitos urinários contendo nitrogênio e não retornam ao *pool* de aminoácidos livres. 5. Nos tecidos, o nitrogênio é removido dos aminoácidos por reações de transaminação e desaminação. 6. O nitrogênio da degradação dos aminoácidos aparece na urina principalmente como uréia ou NH_4^+, o íon amônio. A excreção de amônia é necessária para manter o pH do sangue. 7. Os aminoácidos são utilizados como substratos energéticos tanto diretamente quanto após serem convertidos em glicose pela gliconeogênese. 8. Alguns aminoácidos podem ser sintetizados em seres humanos, desde que fontes de glicose e nitrogênio estejam disponíveis.

o estado pós-prandial. A degradação de proteínas lábeis ocorre no músculo esquelético (que possui a maior massa protéica do corpo) e em outros tecidos.

1. LIBERAÇÃO DE AMINOÁCIDOS DO MÚSCULO ESQUELÉTICO DURANTE O JEJUM

O efluxo de aminoácidos do músculo esquelético sustenta o *pool* de aminoácidos essenciais no sangue (ver Figura 42.3). O músculo esquelético oxida os BCAA (valina, leucina e isoleucina) para produzir energia e glutamina. Os grupos amino dos BCAA, do aspartato e do glutamato saem do músculo esquelético na alanina e na glutamina. A alanina e a glutamina representam aproximadamente 50% do total de nitrogênio α-amino liberado pelo músculo (Figura 42.4).

A liberação de aminoácidos pelo músculo esquelético está estimulada durante um jejum noturno pela diminuição dos níveis de insulina e pelo aumento dos níveis de glicocorticóides no sangue (ver Capítulos 31 e 43). A insulina promove a captação de aminoácidos e a síntese de proteínas em geral. Os mecanismos para a estimulação da síntese protéica no músculo esquelético de seres humanos não são completamente conhecidos, mas provavelmente incluem ativação do sistema A de transporte de aminoácidos (um efeito modesto), efeito generalizado na iniciação da tradução e inibição da proteólise lisossomal. A queda dos níveis de insulina sangüínea durante um jejum noturno resulta em taxa líquida de proteólise e liberação de aminoácidos. Conforme aumenta a liberação de glicocorticóides pelo córtex adrenal, uma indução da síntese de ubiquitina e um aumento da proteólise ubiquitina-dependente também ocorrem.

2. METABOLISMO DE AMINOÁCIDOS NO FÍGADO DURANTE O JEJUM

O principal local de captação de alanina é o fígado, que elimina o nitrogênio amino incorporando-o na uréia (ver Figura 42.3). O fígado também extrai aminoácidos livres, α-cetoácidos e um pouco de glutamina do sangue. A alanina e outros aminoácidos são

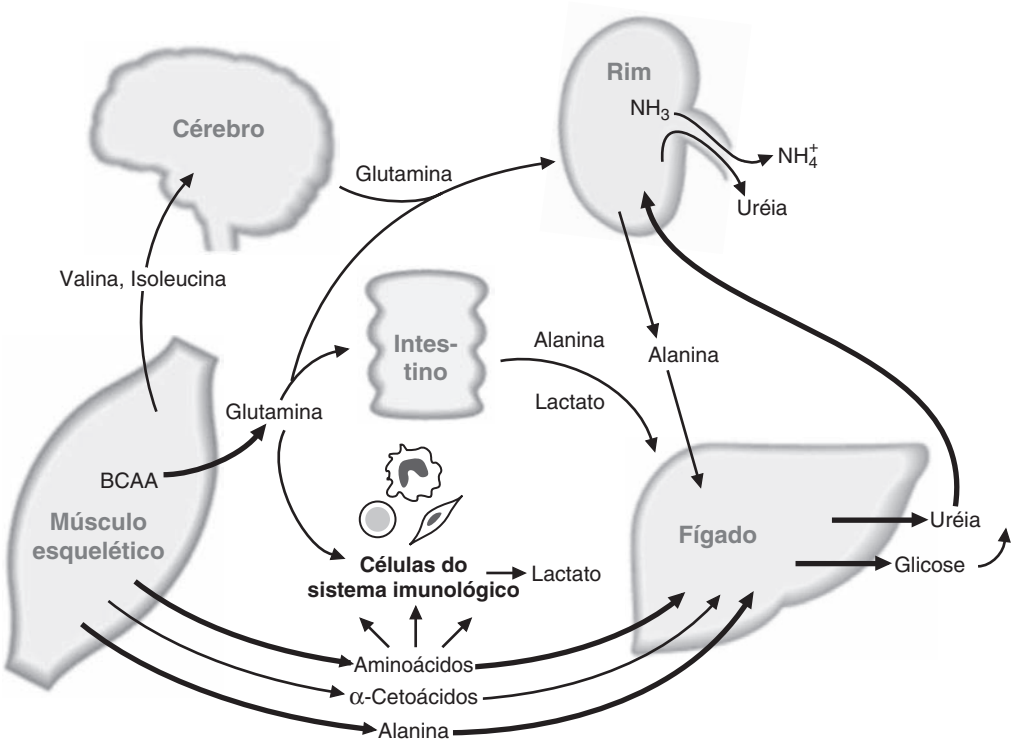


Figura 42.3 Troca interórgãos de aminoácidos após um jejum noturno. Após um jejum noturno (o estado pós-absortivo), a utilização de aminoácidos para síntese protéica, substratos energéticos e síntese de compostos funcionais essenciais continua. O *pool* de aminoácidos livres é mantido, em grande parte, pela taxa líquida de degradação de proteína do músculo esquelético. A glutamina e a alanina servem como transportadores de grupo amino do músculo esquelético para outros tecidos. A glutamina leva NH_4^+ para o rim para a excreção de prótons e serve como substrato energético para o rim, o intestino e as células do sistema imunológico. A alanina transfere grupos amino a partir do músculo esquelético, do rim e do intestino para o fígado, no qual eles são convertidos em uréia para excreção. O cérebro continua a utilizar aminoácidos para a síntese de neurotransmissores.

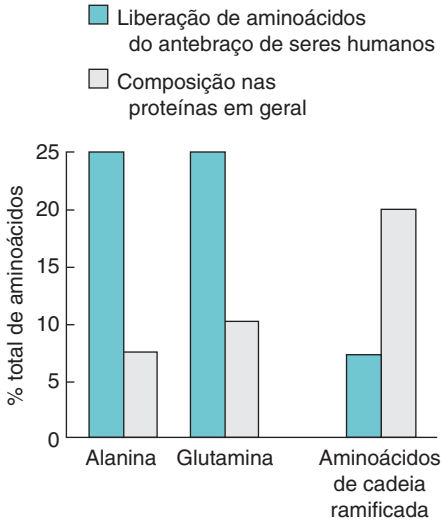


Figura 42.4 Liberação de aminoácidos do músculo esquelético. A diferença arteriovenosa (concentração no sangue arterial menos a concentração no sangue venoso) através do antebraço de seres humanos tem sido medida para muitos aminoácidos. Esse gráfico compara a quantidade de alanina, glutamina e BCAA liberados com as suas composições nas proteínas em geral. A alanina e a glutamina representam uma porcentagem de nitrogênio total liberado muito maior do que o originalmente presente na proteína degradada, uma evidência de que elas estão sendo sintetizadas no músculo esquelético. Os BCAA (leucina, valina e isoleucina) são liberados em quantidades muito menores daquelas presentes nas proteínas degradadas, o que é uma evidência de que eles estão sendo catabolizados. O aspartato e o glutamato também contribuem com nitrogênio para a formação de alanina e glutamina.

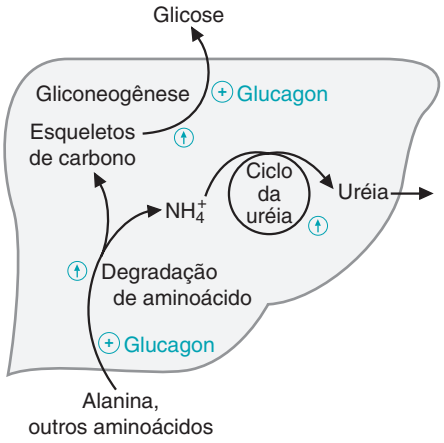


Figura 42.5 Regulação hormonal do metabolismo hepático de aminoácidos no estado pós-absortivo. ⊕ = ativação de enzimas ou proteínas mediada por glucagon; ↑ = indução da síntese de enzimas mediada por glucagon e glicocorticóides. A indução das enzimas do ciclo da uréia ocorre tanto durante o jejum quanto após uma refeição rica em proteína. Como muitas pessoas nos EUA têm, normalmente, uma dieta hiperprotéica, os níveis das enzimas do ciclo da uréia podem não variar muito.

Q: O corpo produz, em geral, cerca de 1 mmol de prótons por quilograma de peso corporal por dia. Apesar disso, o pH do sangue e do fluido extracelular é mantido normalmente entre 7, 36 e 7, 44. A estreita faixa é mantida, principalmente, pelos sistemas tampões do bicarbonato (HCO_3^-), do fosfato (HPO_4^-) e da hemoglobina e pela excreção de uma quantidade de ácido igual à que é produzida. A excreção de prótons pelo rim regenera bicarbonato, que pode ser reaproveitado do filtrado glomerular.

Os ácidos são produzidos a partir do metabolismo normal de substratos energéticos. O principal ácido é o carbônico, o qual é formado a partir de água e CO_2, produzidos no ciclo do TCA e em outras rotas oxidativas. A oxidação de aminoácidos que contêm enxofre (metionina e cisteína) produz, finalmente, ácido sulfúrico (H_2SO_4), que se dissocia em $2H^+ + SO_4^{2-}$, e os prótons e o sulfato são excretados. A hidrólise de ésteres de fosfato produz o equivalente de ácido fosfórico. Quais outros ácidos produzidos durante o metabolismo aparecem no sangue?

oxidados, e seus esqueletos de carbono são convertidos principalmente em glicose. Glucagon e glicocorticóides estimulam a captação de aminoácidos pelo fígado e aumentam a gliconeogênese e a ureagênese (Figura 42.5). O transporte de alanina para o fígado, em particular, é aumentado pelo glucagon. A indução da síntese de enzimas gliconeogênicas por glucagon e glicocorticóides durante o jejum noturno se correlaciona com a indução de muitas das enzimas de degradação de aminoácidos (p. ex., tirosina-aminotransferase) e a indução das enzimas do ciclo da uréia (ver Capítulo 38). A síntese de uréia também aumenta devido ao fornecimento aumentado de NH_4^+ a partir da degradação de aminoácidos no fígado.

3. METABOLISMO DE AMINOÁCIDOS EM OUTROS TECIDOS DURANTE O JEJUM

A glicose produzida pelo fígado é utilizada para fornecer energia para o cérebro e outros tecidos dependentes de glicose, como os eritrócitos. O músculo, sob condições de exercício, quando a proteína-quinase AMP-ativada está ativa, também oxida um pouco dessa glicose a piruvato, o qual é utilizado como esqueleto de carbono da alanina (o ciclo glicose-alanina; ver Capítulo 38).

A glutamina é gerada no músculo esquelético a partir da oxidação dos BCAA e por pulmões e cérebro para a remoção de NH_4^+ formado a partir do catabolismo de aminoácidos ou vindo do sangue. O rim, o intestino e células com taxas rápidas de *turnover*, como as do sistema imunológico, são os principais locais de captação de glutamina (ver Figura 42.3). A glutamina serve como substrato energético para esses tecidos, como doadora de nitrogênio para a síntese de purinas e como substrato para a amoniogênese no rim. Muito do nitrogênio não-utilizado da glutamina é transferido para o piruvato para formar alanina em tais tecidos. A alanina carrega, então, o nitrogênio não-utilizado de volta ao fígado.

O cérebro é dependente de glicose, mas, como muitas células do corpo, pode utilizar BCAA para fornecer energia. Os BCAA também são uma fonte de nitrogênio para a síntese de neurotransmissores durante o jejum. Outros aminoácidos liberados da degradação protéica do músculo esquelético também servem como precursores de neurotransmissores.

B. Princípios que Governam o Fluxo de Aminoácidos Entre os Tecidos

O padrão de fluxo interórgão de aminoácidos é bastante afetado por condições que alteram o suprimento de substratos energéticos (p. ex., o jejum noturno, uma refeição mista, uma refeição rica em proteína) e por condições que aumentam a demanda por aminoácidos (acidose metabólica, estresse cirúrgico, injúria traumática, queimaduras, cicatrização e sepse). O fluxo de carbono e nitrogênio dos aminoácidos nessas diferentes condições é comandado por vários fatores:

1. A amônia (NH_3) é tóxica. Conseqüentemente, ela é transportada entre os tecidos como alanina ou glutamina. A alanina é o principal transportador de nitrogênio de aminoácido dos outros tecidos de volta para o fígado, no qual o ni-



Katta Bolic estava em um estágio grave de balanço nitrogenado negativo quando foi admitida no hospital, o qual foi causado tanto por seu estado de desnutrição quanto por uma infecção intra-abdominal complicada por sepse. A resposta fisiológica ao estado catabólico avançado inclui a degradação de proteínas musculares com liberação de aminoácidos para o sangue. Tal liberação está acoplada com um aumento da captação de aminoácidos para a síntese de proteínas de "fase aguda" pelo fígado (resposta sistêmica) e por outras células, envolvidas na resposta imune à infecção severa e generalizada.



As diferenças no metabolismo de aminoácidos entre os tecidos são comandadas pelos tipos e quantidades de diferentes enzimas e por proteínas de transporte presentes em cada tecido, bem como pela habilidade de cada tecido em responder a diferentes mensagens regulatórias (hormônios e sinais neurais).

trogênio é convertido em uréia e, subseqüentemente, excretado na urina pelos rins. A quantidade de uréia sintetizada é proporcional à quantidade de carbono de aminoácido que está sendo oxidado como substrato energético.

2. O *pool* de glutamina no sangue possui várias funções metabólicas essenciais (Tabela 42.1). Ele fornece amônia para a excreção de prótons na urina como NH_4^+ e serve como substrato energético para o intestino, o rim e as células do sistema imunológico. A glutamina também é requerida pelas células do sistema imunológico e outras células em rápida divisão, nas quais o seu grupo amida serve como fonte de nitrogênio para reações biossintéticas. No cérebro, a formação de glutamina a partir de glutamato e NH_4^+ é uma maneira de remover amônia e de transportar glutamato entre os diferentes tipos celulares no cérebro. A utilização do *pool* de glutamina do sangue é priorizada. Durante acidose metabólica, o rim se torna o local predominante de captação de glutamina, à custa da utilização de glutamina nos outros tecidos. Já durante a sepse, na ausência de acidose, as células envolvidas na resposta imune (macrófagos, hepatócitos) se tornam os locais preferenciais de captação de glutamina.
3. Os BCAA (valina, leucina e isoleucina) formam uma porção significativa da composição de proteínas em geral e podem ser convertidos em intermediários do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) e utilizados como substratos energéticos por quase todos os tecidos. Eles também são os principais precursores de glutamina. Exceto por BCAA, alanina, aspartato e glutamato, o catabolismo de aminoácidos ocorre principalmente no fígado.
4. Os aminoácidos são os principais substratos gliconeogênicos, e a maioria da energia obtida de suas oxidações é derivada da oxidação da glicose formada a partir de seus esqueletos de carbono. Uma porcentagem muito pequena de carbono de aminoácido é convertida em acetil-CoA ou corpos cetônicos e é oxidada. A utilização de aminoácidos para a síntese de glicose para o cérebro e outros tecidos que requerem glicose está sujeita a mecanismos regulatórios hormonais da homeostasia da glicose (ver Capítulos 31 e 36).
5. As taxas relativas de síntese e degradação protéicas (*turnover* de proteínas) determinam o tamanho do *pool* de aminoácidos livres disponível para a síntese de novas proteínas e para outras funções essenciais. Por exemplo, a síntese de novas proteínas que montam uma resposta imune é sustentada pelo aumento líquido da degradação de outras proteínas do corpo.

Tabela 42.1 Funções da Glutamina

Síntese protéica
Amoniogênese para a excreção de prótons
Doadora de nitrogênio para a síntese de:
Purinas
Pirimidinas
NAD^+
Aminoaçúcares
Asparagina
Outros compostos
Doadora de glutamato para a síntese de:
Glutationa
GABA
Ornitina
Arginina
Prolina
Outros compostos

A habilidade em converter intermediários de 4 carbonos do ciclo do TCA em piruvato é necessária para a oxidação tanto de BCAA quanto de glutamina. Essa seqüência de reações requer a PEP-carboxiquinase ou a malato-desidrogenase descarboxilante (enzima málica). A maioria dos tecidos tem uma – ou ambas – dessas enzimas.

R: O ácido lático é produzido a partir do metabolismo de glicose e aminoácidos. Os corpos cetônicos (acetoacetato e β-hidroxibutirato) produzidos durante a oxidação de ácidos graxos também são ácidos. Muitos dos α-cetoácidos, formados pelas reações de transaminação, também são encontrados no sangue.

II. UTILIZAÇÃO DE AMINOÁCIDOS EM TECIDOS INDIVIDUAIS

Como os tecidos diferem em suas funções fisiológicas, eles têm diferentes requerimentos de aminoácidos e contribuem de maneiras distintas para o metabolismo de nitrogênio do corpo. Entretanto, todos os tecidos compartilham necessidades de aminoácidos essenciais para a síntese protéica, e o *turnover* de proteínas é um processo contínuo em todas as células.

A. Rim

Um dos papéis principais do nitrogênio de aminoácidos é fornecer amônia no rim para a excreção de prótons na urina. O NH_4^+ é liberado da glutamina pela glutaminase e pela glutamato-desidrogenase, resultando na formação de α-cetoglutarato (Figura 42.6). O α-cetoglutarato é utilizado como substrato energético pelo rim e é oxidado a CO_2, é convertido em glicose para a utilização nas células da medula renal ou é convertido em alanina para devolver amônia para o fígado para a síntese de uréia.

1. USO DO NITROGÊNIO DA GLUTAMINA PARA TAMPONAR A URINA

A taxa de captação de glutamina do sangue e a sua utilização pelo rim dependem, principalmente, da quantidade de ácido que deve ser excretada para manter um pH normal no sangue. Durante uma acidose metabólica, a excreção de NH_4^+ pelo rim aumenta várias vezes (Tabela 42.2). Como o nitrogênio da glutamina fornece cerca de dois ter-

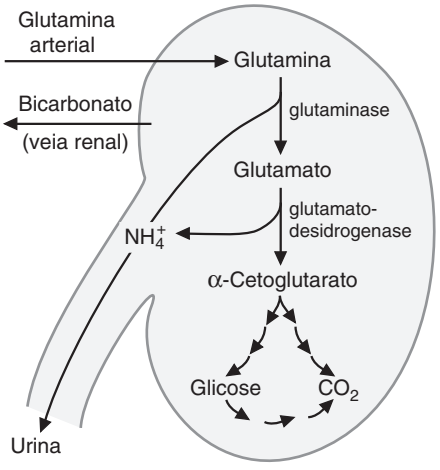


Figura 42.6 Metabolismo renal de glutamina. As células tubulares renais preferencialmente oxidam glutamina. Durante a acidose metabólica, ela é o principal substrato energético para o rim. A conversão de glutamina em α-cetoglutarato gera NH_4^+. A excreção de íon amônio ajuda a tamponar a acidemia sistêmica.

Tabela 42.2 Excreção de Compostos na Urina

Componente	g / 24 h	Nitrogênio (mmol)
H_2O	1.000	–
SO_4^{-2}	2-5	–
PO_4^{-2}	2-5	–
K^+	1-2	–
Uréia	12-20	400-650
Creatinina	1-1,8	25-50
Ácido úrico	0,2-0,8	4-16
NH_4^+	0,2-1 (até 10 na acidose)	11-55 (até 550 na acidose)

ços do NH_4^+ excretado pelo rim, a captação de glutamina pelo rim também aumenta. A utilização de glutamina renal para a excreção de prótons tem prioridade sobre o requerimento de glutamina pelos outros tecidos.

A amônia aumenta a excreção de prótons, pois fornece um tampão para os prótons que são transportados para o fluido tubular renal (esse fluido é transformado em urina na medida em que passa através dos túbulos do rim) (Figura 42.7). Transportadores específicos na membrana das células renais transportam prótons dessas células para o lúmen tubular em troca de Na^+. Os prótons no fluido tubular são tamponados pelo fos-

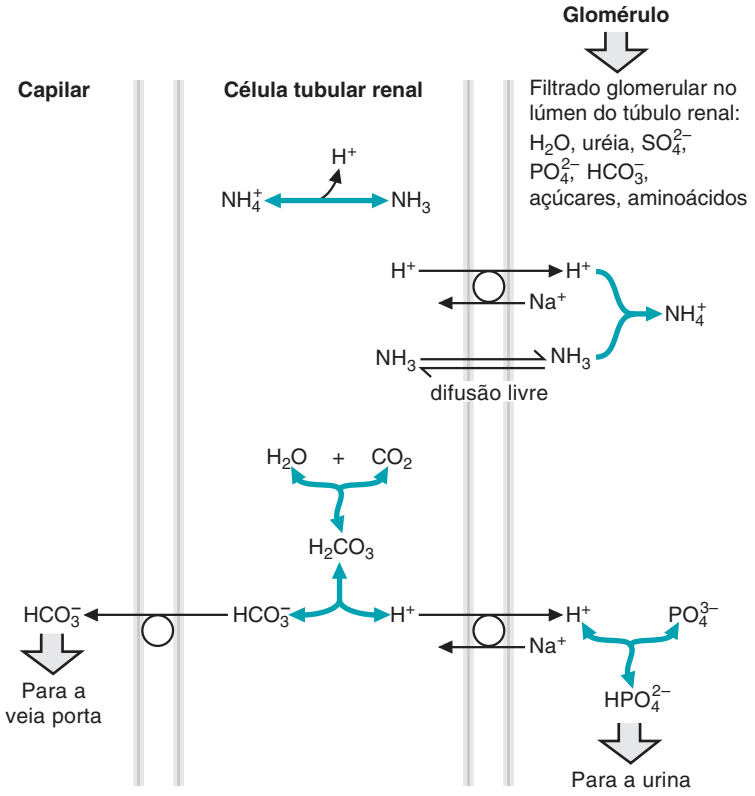


Figura 42.7 Excreção de amônia pelo rim. A amônia aumenta a excreção de prótons combinando-se com um próton para formar o íon amônio no fluido tubular renal, o qual é transformado em urina conforme passa através dos túbulos renais. À medida que o sangue é filtrado no leito capilar dos glomérulos, a uréia, os açúcares, os aminoácidos, os íons e a H_2O entram no fluido tubular renal (o filtrado glomerular). Conforme esse fluido passa através de uma progressão de túbulos (o túbulo contorcido proximal, a alça de Henle, o túbulo contorcido distal e o ducto coletor) no seu trajeto para se transformar em urina, vários componentes são reabsorvidos ou adicionados a ele pelas células epiteliais alinhadas nesses túbulos. Transportadores específicos nas membranas das células tubulares renais transportam prótons para o lúmen tubular em troca de Na^+, de forma que o filtrado glomerular se torna mais ácido conforme é transformado em urina. Os prótons no fluido tubular são tamponados por fosfato, bicarbonato e NH_3. A amônia, que não possui carga, é capaz de se difundir através da membrana das células tubulares renais para a urina. Conforme ela se combina com um próton na urina, ela forma NH_4^+, que não pode ser transportado de volta para as células. A remoção de prótons como NH_4^+ diminui a necessidade de excreção de bicarbonato para tamponar a urina.

Tabela 42.3 Principais Fontes de Substrato Energético para o Rim

% do Total de CO_2 Formado em Diferentes Estados Fisiológicos			
Substrato energético	**Normal**	**Acidose**	**Jejum**
Lactato	45	20	15
Glicose[a]	25	20	0
Ácidos graxos	15	20	60
Glutamina	15	40	25

[a] A glicose utilizada na medula renal é produzida no córtex renal.

fato, pelo bicarbonato e pela amônia. A amônia (NH_3), a qual não possui carga, entra na urina por difusão livre através da membrana celular. Na medida em que se combina com um próton no fluido, ela forma o íon amônio (NH_4^+), que não pode ser transportado de volta para as células e é excretado na urina.

2. GLUTAMINA COMO UM SUBSTRATO ENERGÉTICO PARA O RIM

A glutamina é utilizada como substrato energético pelo rim no estado alimentado normal e, em maior extensão, durante o jejum e a acidose metabólica (Tabela 42.3). O esqueleto de carbono forma α-cetoglutarato, o qual é oxidado a CO_2, convertido em glicose ou liberado como esqueleto de carbono de serina ou alanina (Figura 42.8). O α-cetoglutarato pode ser convertido em oxaloacetato pelas reações do ciclo do TCA, e o oxaloacetato é convertido em fosfoenolpiruvato (PEP, do inglês ***p**hospho**e**nol-**p**yruvate*) pela PEP-carboxiquinase. O PEP pode, então, ser convertido em piruvato e subseqüentemente em acetil-CoA, alanina, serina ou glicose. A glicose é utilizada em especial pelas células da medula renal, que têm uma dependência relativamente alta da glicólise anaeróbica em decorrência de seu baixo suprimento de oxigênio e capacidade mitocondrial. O lactato liberado pela glicólise anaeróbica nessas células é captado e oxidado nas células corticais do rim, as quais têm uma alta capacidade mitocondrial e um suprimento sangüíneo maior.

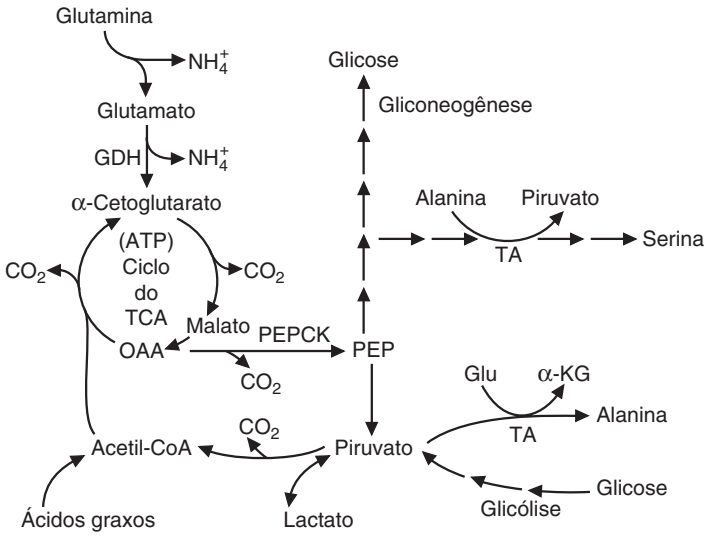


Figura 42.8 Metabolismo da glutamina e de outros substratos energéticos no rim. Para oxidar completamente os carbonos do glutamato a CO_2, ele deve entrar no ciclo do TCA como acetil-CoA. Os carbonos que entram no ciclo do TCA como α-cetoglutarato (α-KG, do inglês α-*ketoglutarate*) saem como oxaloacetato e são convertidos em fosfoenolpiruvato (PEP) pela PEP-carboxiquinase. O PEP é convertido em piruvato, o qual pode ser oxidado a acetil-CoA. O PEP também pode ser convertido em serina, glicose ou alanina. GDH = glutamato-desidrogenase; PEPCK = fosfoenolpiruvato-carboxiquinase; TA = transaminase; OAA = oxaloacetato.

B. Músculo Esquelético

O músculo esquelético, devido à sua grande massa, é o principal local de síntese e degradação protéica em seres humanos. Após uma refeição rica em proteína, a insulina promove a captação de certos aminoácidos e estimula a taxa líquida de síntese protéica. A estimulação da síntese protéica pela insulina é dependente de um suprimento adequado de aminoácidos utilizados para tal síntese. Durante o jejum e outros estados catabólicos, ocorrem degradação de proteína do músculo esquelético e liberação de aminoácidos (ver Figura 42.3). A taxa líquida da degradação de proteínas afeta proteínas funcionais, como a miosina, que são sacrificadas para satisfazer demandas mais urgentes de aminoácidos em outros tecidos. Durante a sepse, a degradação de proteínas do músculo esquelético está estimulada pelo glicocorticóide cortisol. O efeito do cortisol é exercido por meio da ativação da proteólise ubiquitina-dependente. Durante o jejum, a diminuição dos níveis de insulina sangüínea e o aumento dos níveis de cortisol sangüíneo aumentam a taxa líquida de degradação de proteínas.

O músculo esquelético é o principal local de síntese de glutamina, satisfazendo, portanto, a demanda por glutamina durante o estado pós-absortivo, a acidose metabólica, o estresse séptico e o trauma. O esqueleto de carbono e o nitrogênio da glutamina são derivados principalmente do metabolismo dos BCAA. A degradação de aminoácidos no músculo esquelético também é acompanhada pela formação de alanina, que transfere grupos amino do músculo esquelético para o fígado no ciclo glicose-alanina.

1. OXIDAÇÃO DE AMINOÁCIDOS DE CADEIA RAMIFICADA NO MÚSCULO ESQUELÉTICO

Os BCAA exercem um papel especial no músculo e na maioria dos outros tecidos, pois eles são os principais aminoácidos que podem ser oxidados em tecidos que não o fígado. Entretanto, todos os tecidos podem interconverter aminoácidos e intermediários do ciclo do TCA por meio das reações das transaminases, ou seja, alanina ↔ piruvato, aspartato ↔ oxaloacetato e α-cetoglutarato ↔ glutamato. O primeiro passo da rota, a transaminação dos BCAA a α-cetoácidos, ocorre principalmente no cérebro, no coração, no rim e nos músculos esqueléticos. Tais tecidos têm um alto conteúdo de transaminase de BCAA em relação aos níveis baixos no fígado. Os α-cetoácidos dos BCAA são, então, tanto liberados no sangue e captados pelo fígado quanto oxidados a CO_2 ou glutamina no músculo e em outros tecidos (Figura 42.9). Eles podem ser oxidados por todos os tecidos que contêm mitocôndria.

Q: Quando o esqueleto de carbono da alanina é derivado da glicose, o efluxo de alanina do músculo esquelético e a sua captação pelo fígado não permitem a transferência de uma quantidade líquida de carbono de aminoácido para o fígado para a gliconeogênese. Entretanto, alguns carbonos da alanina são derivados de outras fontes que não a glicose. Quais aminoácidos podem fornecer carbono para a formação de alanina? (Dica: ver Figura 42.9.)

As rotas oxidativas dos BCAA convertem o esqueleto de carbono tanto em succinil-CoA quanto em acetil-CoA (ver Capítulo 39 e Figura 42.9). As rotas geram NADH e FAD(2H) para a síntese de ATP antes da conversão do carbono em intermediários do ciclo do TCA, fornecendo, assim, energia ao músculo sem perda de carbono como CO_2. A leucina é "cetogênica" no sentido em que ela é convertida em acetil-CoA e acetoacetato. O músculo esquelético, os adipócitos e a maioria dos outros tecidos são capazes de utilizar esses produtos e, portanto, oxidar diretamente leucina a CO_2. A porção da isoleucina convertida em acetil-CoA também é oxidada diretamente a CO_2. Para a porção da valina e da isoleucina que entra no ciclo do TCA como succinil-CoA ser completamente oxidada a CO_2, ela precisa primeiro ser convertida em acetil-CoA. Para formar acetil-CoA, o succinil-CoA é oxidado a malato no ciclo do TCA, e o malato é, então, convertido em piruvato pela enzima málica (malato + $NADP^+$ → piruvato + NADPH + H^+) (ver Figura 42.9). O piruvato pode, então, ser oxidado a acetil-CoA. Alternativamente, o piruvato pode formar alanina ou lactato.

2. CONVERSÃO DE AMINOÁCIDOS DE CADEIA RAMIFICADA EM GLUTAMINA

A principal rota de catabolismo de valina e isoleucina no músculo esquelético é entrar no ciclo do TCA como succinil-CoA e sair como α-cetoglutarato para fornecer o esqueleto de carbono para a formação de glutamina (ver Figura 42.9). Um pouco da glutamina e do CO_2 que são formados pela degradação de proteínas no músculo esquelético podem também ser provenientes dos esqueletos de carbono do aspartato e

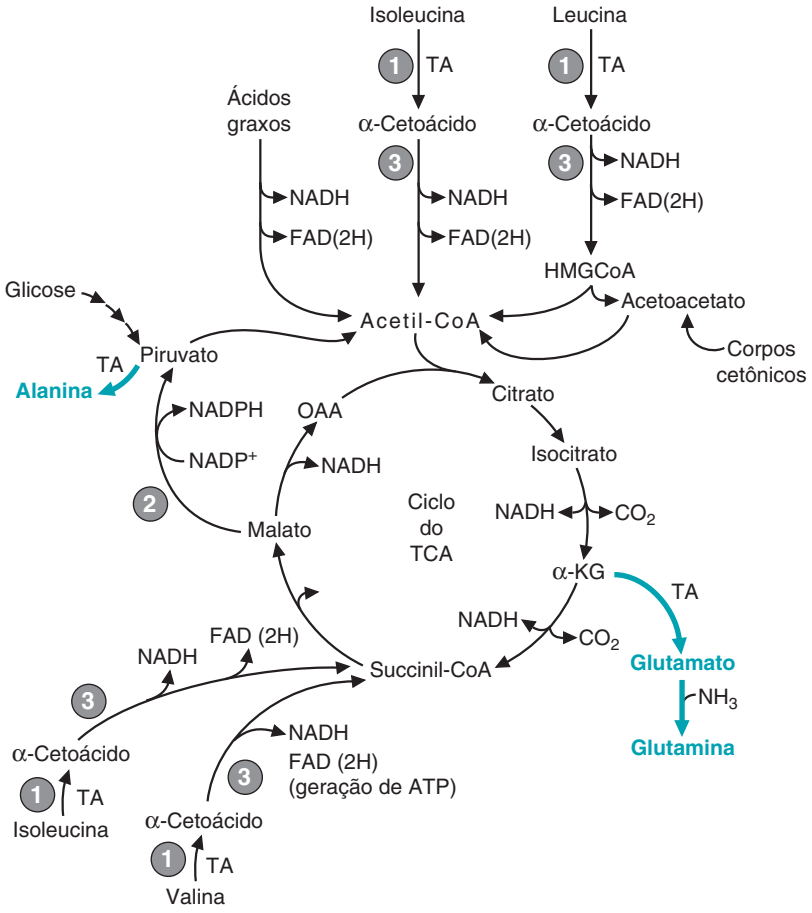


Figura 42.9 Metabolismo de esqueletos de carbono de BCAA no músculo esquelético. 1. O primeiro passo no metabolismo dos BCAA é a transaminação (TA). 2. Carbonos da valina e isoleucina entram no ciclo do TCA como succinil-CoA e são convertidos em piruvato pela malato-desidrogenase-descarboxilante (enzima málica). 3. As rotas oxidativas geram NADH e FAD(2H) mesmo antes de o esqueleto de carbono entrar no ciclo do TCA. A enzima limitante nas rotas oxidativas é o complexo α-cetoácido desidrogenase. O esqueleto de carbono também pode ser convertido em glutamato e alanina (mostrado em azul).

do glutamato. Esses aminoácidos são transaminados, e fazem parte do *pool* de intermediários de 4 carbonos do ciclo do TCA.

O nitrogênio da glutamina é derivado principalmente dos BCAA (Figura 42.10). O grupo α-amino é proveniente das reações de transaminação que formam glutamato a partir de α-cetoglutarato, e o nitrogênio da amida é formado a partir da adição de amônia livre ao glutamato pela glutamina-sintetase. A amônia livre no músculo esquelético surge, principalmente, da desaminação do glutamato pela glutamato-desidrogenase ou do ciclo dos nucleotídeos da purina.

No ciclo dos nucleotídeos da purina (Figura 42.11), a desaminação do AMP a IMP libera NH_4^+. O AMP é ressintetizado com grupos amino fornecidos pelo aspartato. Os grupos amino do aspartato podem ser provenientes dos BCAA por meio de reações de transaminação. O fumarato pode ser utilizado para repor os intermediários do ciclo do TCA.

3. CICLO GLICOSE-ALANINA

O nitrogênio proveniente da oxidação de BCAA no músculo esquelético também pode ser transferido de volta para o fígado como alanina, no ciclo glicose-alanina (Figura 42.12, ver também Figura 41.13). O grupo amino dos BCAA é primeiramente trans-

R: Uma porção da alanina liberada do músculo esquelético é derivada diretamente da degradação protéica. Os esqueletos de carbono de valina, isoleucina, aspartato e glutamato, os quais são convertidos em malato e oxaloacetato no ciclo do TCA, podem ser convertidos em piruvato e, subseqüentemente, transaminados a alanina. A extensão na qual esses aminoácidos contribuem com carbono para o efluxo de alanina nao é a mesma entre os diferentes tipos de músculos em seres humanos. Tais aminoácidos também podem contribuir para o efluxo de alanina do intestino.

O ciclo dos nucleotídeos da purina é encontrado no músculo esquelético e no cérebro, mas está ausente no fígado e em muitos outros tecidos. Uma de suas funções no músculo esquelético é responder à rápida utilização de ATP durante o exercício. Nesse caso, a rápida hidrólise do ATP aumenta os níveis de AMP, resultando na ativação da AMP-desaminase (ver Figura 42.11). Como conseqüência, a concentração celular de IMP aumenta, e amônia é gerada. O IMP, assim como o AMP, ativa a glicogênio-fosforilase muscular durante o exercício (ver Capítulo 22). A amônia gerada pode ajudar a tamponar a produção aumentada de ácido lático que ocorre em músculos esqueléticos durante o exercício vigoroso.

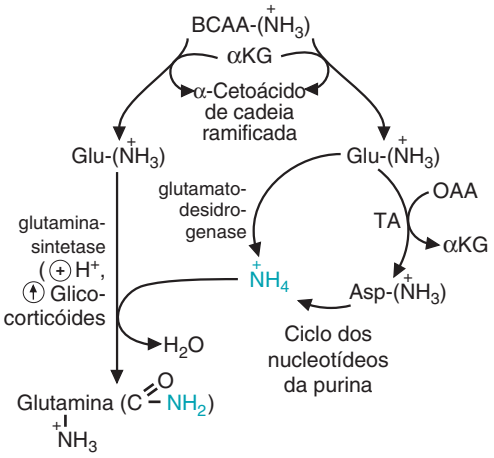


Figura 42.10 Formação de glutamina a partir de grupos amino de BCAA. Os BCAA são primeiramente transaminados com o α-cetoglutarato para formar glutamato e os α-cetoácidos de cadeia ramificada. O nitrogênio do glutamato pode, então, seguir qualquer das duas rotas levando à formação de glutamina. TA = transaminação; OAA = oxaloacetato; α-KG = α-cetoglutarato.

ferido para o α-cetoglutarato para formar glutamato e, então, é transferido ao piruvato para formar alanina por reações de transaminação seqüenciais. O piruvato é proveniente, em especial, da glicose, via rota glicolítica. A alanina liberada pelo músculo esquelético é captada principalmente pelo fígado, no qual o grupo amino é incorporado na uréia, e o esqueleto de carbono pode ser convertido de volta em glicose por meio da gliconeogênese. Embora a quantidade de alanina formada varie com a dieta e o estado fisiológico, o transporte de nitrogênio do músculo para o fígado como alanina ocorre quase que continuamente por todo o ciclo jejum-alimentação diário.

C. Intestino

Os aminoácidos são substratos energéticos importantes para as células da mucosa intestinal após uma refeição que contenha proteína e em estados catabólicos, como o jejum ou o trauma cirúrgico (Figura 42.13). Durante o jejum, a glutamina é um dos principais aminoácidos utilizados pelo intestino. Os principais destinos do carbono da

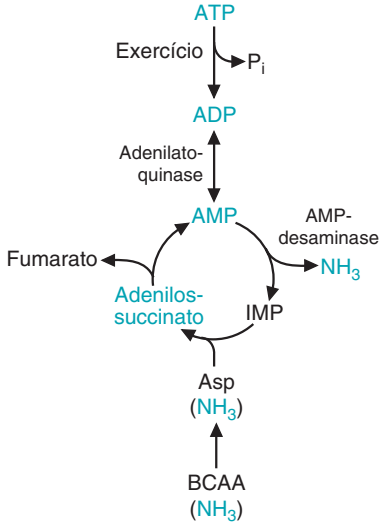


Figura 42.11 Ciclo dos nucleotídeos da purina. No músculo esquelético, o ciclo dos nucleotídeos da purina pode converter os grupos amino dos BCAA em NH_3, que é incorporado na glutamina. Os compostos que contêm grupo amino liberado no ciclo dos nucleotídeos da purina são mostrados em azul.

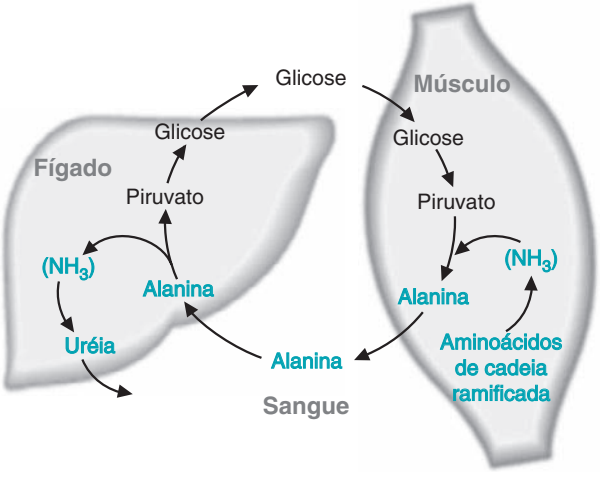


Figura 42.12 Ciclo glicose-alanina. A rota para transferência de grupos amino dos BCAA no músculo esquelético para a uréia no fígado é mostrada em azul.

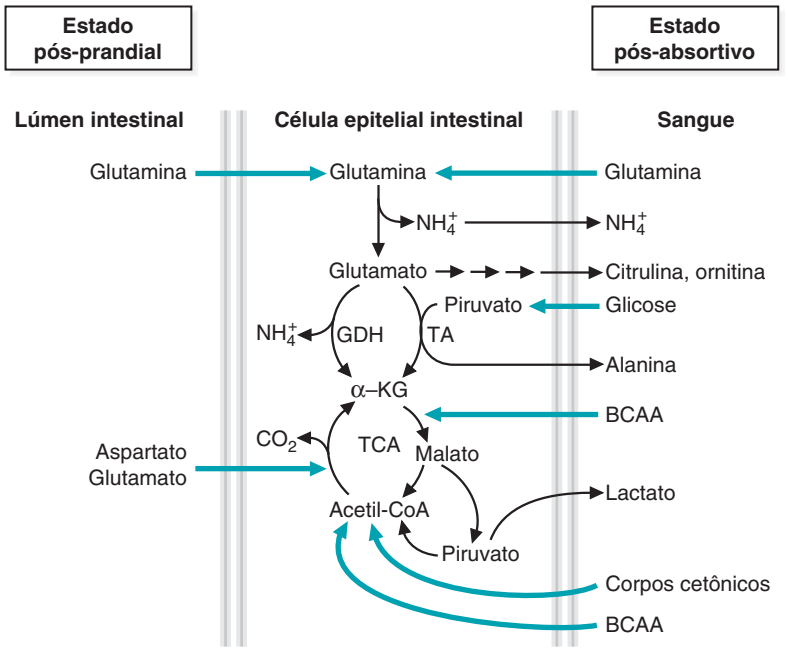


Figura 42.13 Metabolismo de aminoácidos no intestino. As rotas do metabolismo de glutamina no intestino são as mesmas, seja ela fornecida pela dieta (estado pós-prandial) ou pelo sangue (estado pós-absortivo). As células do intestino também metabolizam aspartato, glutamato e BCAA. A glicose é convertida, principalmente, em esqueleto de carbono de alanina. α-KG = α-cetoglutarato; GDH = glutamato-desidrogenase; TA = transaminase.

glutamina no intestino são a oxidação a CO_2 e a conversão em esqueletos de carbono de lactato, citrulina e ornitina. O intestino também oxida BCAA. O nitrogênio derivado da degradação de aminoácidos é convertido em citrulina, alanina, NH_4^+ e outros compostos que são liberados no sangue e captados pelo fígado. Embora a maioria do carbono nessa alanina seja derivada da glicose, a oxidação de glicose a CO_2 não é a principal rota energética para o intestino. Os ácidos graxos também não são uma fonte significativa de substrato energético para as células da mucosa intestinal, embora o que elas realmente utilizem sejam os corpos cetônicos.

Após uma refeição protéica, a glutamina da dieta é o principal substrato energético para o intestino, e os produtos do metabolismo da glutamina são similares aos que aparecem no estado pós-absortivo. O intestino também utiliza aspartato e glutamato da dieta, os quais entram no ciclo do TCA. Os colonócitos (as células do cólon) também utilizam ácidos graxos de cadeia curta derivados da ação bacteriana no lúmen.

A importância do intestino no metabolismo de nitrogênio de todo o corpo advém da alta taxa de divisão e morte das células da mucosa intestinal e da necessidade de provê-las continuamente com aminoácidos para manter as altas taxas de síntese protéica requeridas para a divisão celular. Essas células não são importantes apenas para a captação de nutrientes, elas mantêm uma barreira contra a invasão de bactérias do lúmen intestinal e são, portanto, parte do sistema passivo de defesa. Como resultado dessas importantes funções, as células da mucosa intestinal são supridas com os aminoácidos requeridos para a síntese protéica e a oxidação de substratos energéticos à custa de proteínas mais prescindíveis do músculo esquelético.

O intestino contém as enzimas do ciclo da uréia, mas as $V_{máx}$ para a argininossuccinato-sintetase e para a argininossuccinato-liase são muito baixas, sugerindo que o papel principal das enzimas do ciclo da uréia no intestino seja produzir citrulina a partir de carbonos da glutamina (glutamina → glutamato → glutamato semialdeído → ornitina → citrulina). A citrulina é liberada na circulação para sua utilização pelo fígado.

A utilização de glutamina pelo intestino é diminuída pela acidose metabólica comparada com os estados pós-absortivo e pós-prandial. Durante a acidose metabólica, a captação de glutamina pelo rim está aumentada, e os níveis de glutamina sangüíneos, diminuídos. Como conseqüência, o intestino capta menos glutamina.

D. Fígado

O fígado é o principal local do metabolismo e do catabolismo de aminoácidos e converte a maioria do carbono dos aminoácidos em intermediários do ciclo do TCA ou da rota glicolítica (os quais podem ser convertidos em glicose ou oxidados a CO_2) ou em

acetil-CoA e corpos cetônicos. O fígado também é o principal local para a síntese de uréia. Ele pode captar tanto glutamina quanto alanina e converter o nitrogênio em uréia para eliminação (ver Capítulo 38). Outras rotas no fígado fazem com que ele tenha um requerimento de aminoácidos excepcionalmente alto. O fígado sintetiza proteínas plasmáticas, como albumina sérica, transferrina e proteínas da cascata de coagulação do sangue. Ele é o principal local de síntese de aminoácidos não-essenciais, de conjugação de compostos xenobióticos com glicina, de síntese de heme e nucleotídeos purínicos e de síntese de glutationa.

E. Cérebro e Tecido Nervoso

1. O *POOL* DE AMINOÁCIDOS E A SÍNTESE DE NEUROTRANSMISSORES

A principal função do metabolismo de aminoácidos no tecido neural é a síntese de neurotransmissores. Acredita-se que mais de 40 compostos tenham a função de neurotransmissor, e todos eles contêm nitrogênio derivado de precursores aminoácidos. Os neurotransmissores incluem os aminoácidos (p. ex., glutamato, glicina), as catecolaminas derivadas da tirosina (dopamina e noradrenalina), a serotonina (derivada do triptofano), o GABA (derivado do glutamato), a acetilcolina (derivada da colina, sintetizada no fígado, e da acetil-CoA) e muitos peptídeos. Em geral, os neurotransmissores são formados nos terminais pré-sinápticos dos axônios e armazenados em vesículas até serem liberados por uma mudança transitória no potencial eletroquímico ao longo do axônio. O catabolismo subseqüente de alguns neurotransmissores resulta na formação de produtos de excreção urinários. O rápido metabolismo dos neurotransmissores requer a disponibilidade contínua de precursores do *pool* de aminoácidos para a síntese *de novo* dos neurotransmissores (ver Capítulo 47).

2. METABOLISMO DA GLUTAMINA NO CÉREBRO

O cérebro é um produtor de quantidade líquida de glutamina, principalmente devido à presença de glutamina-sintetase nas células astrogliais (ver Capítulo 47). O glutamato e o aspartato são sintetizados nessas células utilizando grupos amino doados pelos BCAA (principalmente por valina) e intermediários do ciclo do TCA formados a partir de glicose e de esqueletos de carbono dos BCAA (Figura 42.14). O glutamato é convertido em glutamina pela glutamina-sintetase, a qual incorpora o NH_4^+ liberado da desaminação de aminoácidos e da desaminação de AMP no ciclo dos nucleotídeos da purina no cérebro. Essa glutamina pode sair do cérebro, carregando o excesso de NH_4^+ para o sangue, ou servir como precursor de glutamato nas células neuronais.

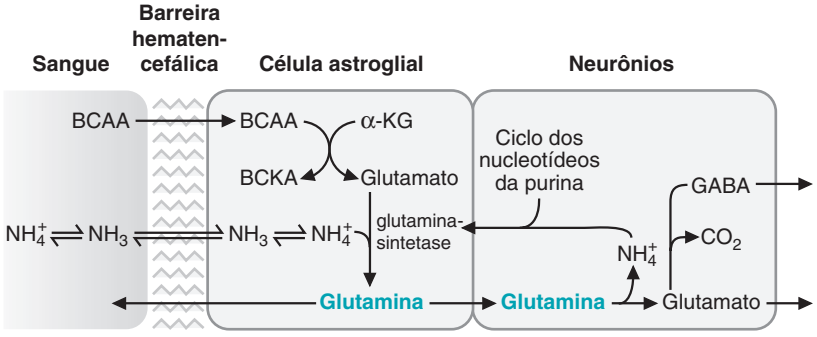


Figura 42.14 Papel da glutamina no cérebro. A glutamina, no cérebro, serve como uma transportadora de nitrogênio para a síntese de muitos neurotransmissores. Diferentes neurônios a convertem em ácido γ-aminobutírico (GABA) ou em glutamato. Ela também transporta o excesso de NH_4^+ do cérebro para o sangue. BCKA = cetoácidos de cadeia ramificada; α-KG = α-cetoglutarato.

A glutamina sintetizada nas células astrogliais é um precursor de glutamato (um neurotransmissor excitatório) e de GABA (um neurotransmissor inibitório) nas células neuronais (Figura 42.14). Ela é convertida em glutamato pela isoenzima da glutaminase neuronal. Nos neurônios GABAérgicos, o glutamato é, então, descarboxilado a GABA, o qual é liberado durante a excitação do neurônio. O GABA é um dos neurotransmissores que é reciclado; uma transaminase o converte em succinaldeído, que é, então, oxidado a succinato. O succinato entra no ciclo do TCA.

III. MUDANÇAS NO METABOLISMO DE AMINOÁCIDOS COM OS ESTADOS DIETÉTICO E FISIOLÓGICO

A taxa e o padrão de utilização de aminoácidos pelos diferentes tecidos mudam com os estados dietético e fisiológico. Dois desses estados, o período pós-prandial seguido de uma refeição rica em proteína e o estado hipercatabólico produzido por sepse ou trauma cirúrgico, diferem do estado pós-absortivo com relação à disponibilidade de aminoácidos e outros substratos energéticos e os níveis dos diferentes hormônios no sangue. Como resultado, o padrão de utilização de aminoácidos é um pouco diferente.

A. Uma Refeição Rica em Proteína

Após uma refeição rica em proteína, o intestino e o fígado utilizam a maioria dos aminoácidos absorvidos (Figura 42.15). O glutamato e o aspartato são utilizados como substratos energéticos pelo intestino, e muito pouco deles entra na veia porta. O intestino também utiliza um pouco de BCAA. O fígado capta de 60 a 70% dos aminoácidos presentes na veia porta. Esses aminoácidos, pelo menos a maioria deles, são convertidos em glicose na rota gliconeogênica.

Após uma refeição de pura proteína, os níveis aumentados dos aminoácidos da dieta chegando ao pâncreas estimulam a liberação de glucagon acima dos níveis de

Durante a hiperamonemia, a amônia (NH_3) pode se difundir do sangue para dentro do cérebro. A amônia é capaz de inibir a isoenzima neural da glutaminase, diminuindo, desse modo, a formação adicional de amônia no cérebro e inibindo a formação de glutamato e seu subseqüente metabolismo para GABA. Esse efeito da amônia deve contribuir para a letargia associada à hiperamonemia encontrada em pacientes com doença hepática.

Os níveis sangüíneos de transtiretina (a qual liga-se à vitamina A e a hormônios da tireóide no sangue) e de albumina sérica podem ser usados como indicadores do grau de desnutrição protéica. Na ausência de doença hepática, níveis diminuídos dessas proteínas no sangue indicam disponibilidade insuficiente de aminoácidos para o fígado sintetizar proteínas séricas.

Q: De que maneiras o metabolismo do fígado, após uma refeição rica em proteína, assemelha-se ao metabolismo do fígado no estado de jejum?

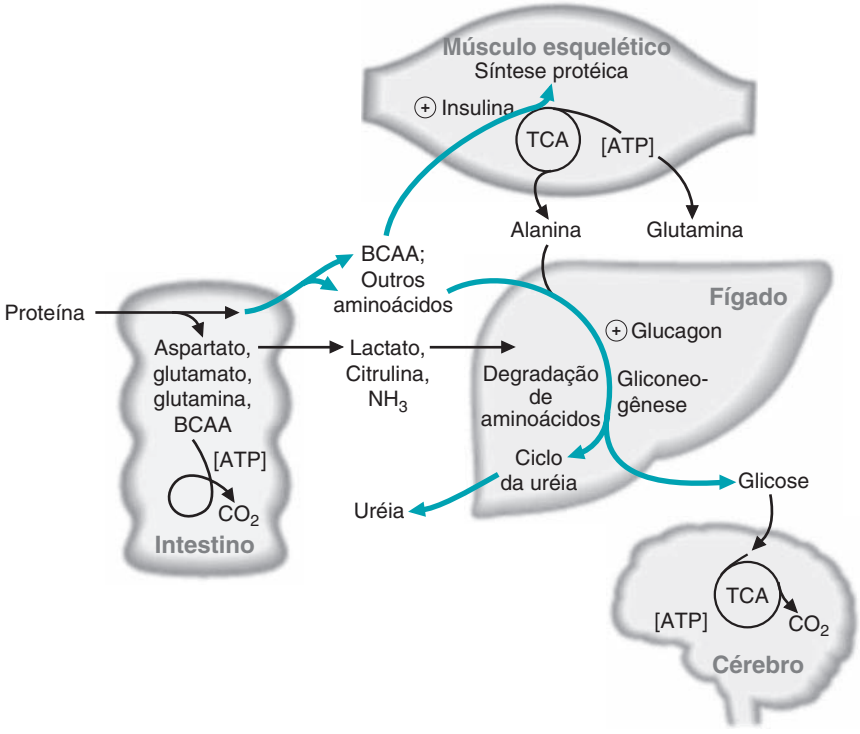


Figura 42.15 Fluxo de aminoácidos após uma refeição rica em proteína.

R: Esses dois estados dietéticos são caracterizados pela elevação de glucagon. O glucagon estimula o transporte de aminoácidos para dentro do fígado, estimula a gliconeogênese por meio da diminuição dos níveis de frutose-2,6-bisfosfato e induz a síntese de enzimas do ciclo da uréia, da rota gliconeogênica e das rotas de degradação de alguns dos aminoácidos.

A dieta de Atkins rica em proteína baseia-se na premissa de que, com a ingestão de refeições ricas em proteína e pobres em carboidrato, os níveis circulantes de insulina serão mantidos baixos, de forma que o armazenamento de energia não seja induzido, e a liberação de glucagon direcionará a razão insulina/glucagon para a mobilização de energia, particularmente a liberação de ácidos graxos pelo adipócito e a sua oxidação pelos tecidos. A falta de armazenamento de energia, juntamente com a perda de gordura, leva à perda de peso.

jejum, aumentando, portanto, a captação de aminoácidos pelo fígado e estimulando a gliconeogênese. A liberação de insulina também está estimulada, mas nem próxima dos níveis alcançados após uma refeição rica em carboidrato. Em geral, a liberação de insulina após uma refeição rica em proteína é suficientemente alta, de forma que a captação de BCAA pelo músculo esquelético e a taxa líquida de síntese protéica estão estimuladas, mas a gliconeogênese no fígado não está inibida. Quanto maior é o conteúdo de carboidrato da refeição, maior é a razão insulina/glucagon e maior é a transferência de aminoácidos da gliconeogênese para as rotas biossintéticas no fígado, como a síntese de proteínas plasmáticas.

A maioria do nitrogênio dos aminoácidos que entra na circulação periférica, após uma refeição rica em proteína ou uma refeição mista, está presente como BCAA. Como o fígado possui baixos níveis de transaminases para esses aminoácidos, ele não pode oxidá-los de maneira significativa, e eles entram na circulação sistêmica. Os BCAA são lentamente captados pelo músculo esquelético e por outros tecidos. Esses tecidos não-hepáticos periféricos utilizam os aminoácidos derivados da dieta principalmente para a taxa líquida de síntese de proteínas.

B. Estados Hipercatabólicos

Cirurgia, trauma, queimaduras e estresse séptico são exemplos de estados hipercatabólicos caracterizados pelo aumento da utilização de substratos energéticos e por um balanço nitrogenado negativo (Figura 42.16). A mobilização das reservas corporais de proteína, de gordura e de carboidrato serve para manter as funções teciduais normais

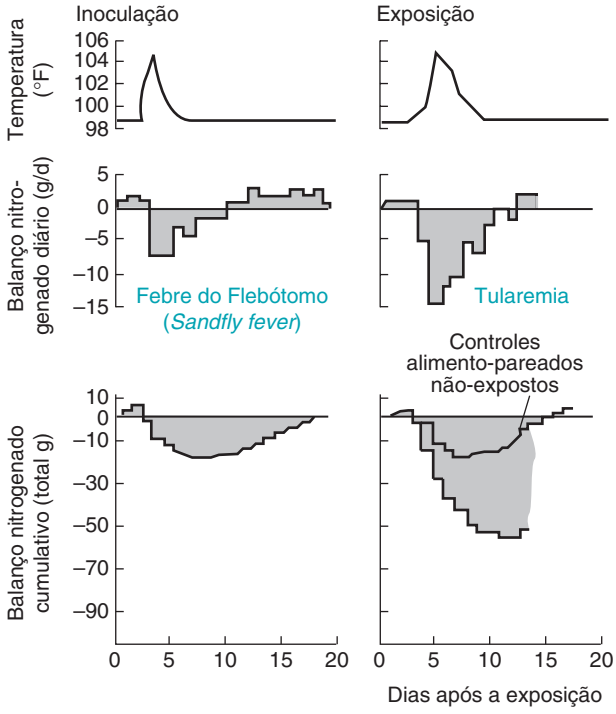


Figura 42.16 Balanço nitrogenado negativo durante infecção. Os efeitos de infecções induzidas experimentalmente sobre o balanço nitrogenado foram determinados em voluntários humanos. Após inoculação com febre do flebótomo (*sandfly fever*), o catabolismo aumentado de aminoácidos produziu um balanço nitrogenado negativo. Alguns dias após a exposição, o balanço nitrogenado diário tornou-se positivo, até que os voluntários retornaram a seus estados originais. Experiências com pacientes expostos à tularemia mostraram que o balanço nitrogenado negativo foi muito maior do que poderia ser esperado apenas pela diminuição de apetite. Os voluntários que ingeriram a mesma quantidade de alimento que os indivíduos infectados (controles alimento-pareados não-expostos) tinham um balanço nitrogenado negativo cumulativo muito menor do que os voluntários infectados. De Beisel WR. Am J Clin Nutr 1977; 30:1236-1247. © 1977 American Society for Clinical Nutrition.

na presença de uma ingestão de dieta limitada, bem como para manter a energia e os requerimentos de aminoácidos para a resposta imune e a cicatrização. O balanço nitrogenado negativo que ocorre nesses estados hipercatabólicos resulta do *turnover* acelerado de proteínas e de um aumento da taxa líquida de degradação protéica, principalmente no músculo esquelético.

O estado catabólico de sepse (infecção febril generalizada aguda) é um dos casos de mobilização aumentada de substratos energéticos e aminoácidos para fornecer energia e precursores requeridos pelas células do sistema imunológico, mecanismos de defesa do hospedeiro e cicatrização. Os aminoácidos devem fornecer os substratos para a síntese de novas proteínas e para a divisão celular. A síntese e a liberação de glicose estão aumentadas para fornecer substrato energético para essas células, e o paciente fica ligeiramente hiperglicêmico.

Nesses estados hipercatabólicos, a síntese protéica do músculo esquelético diminui, e a degradação protéica aumenta. A oxidação de BCAA e a produção de glutamina estão aumentadas. A captação de aminoácidos está diminuída. O cortisol é o principal hormônio mediador dessas respostas, embora certas citocinas também possam ter efeitos diretos no metabolismo do músculo esquelético. Da mesma forma que ocorre durante o jejum e a acidose metabólica, níveis aumentados de cortisol estimulam a proteólise ubiquitina-dependente, induzem a síntese de glutamina-sintetase e elevam a liberação de aminoácidos e glutamina pelas células musculares.

Os aminoácidos liberados pelo músculo esquelético durante períodos de estresse hipercatabólico são utilizados de maneira priorizada, com os componentes celulares do sistema imunológico recebendo a prioridade máxima. Por exemplo, a captação de aminoácidos pelo fígado para a síntese de proteínas de fase aguda, as quais fazem parte do sistema imunológico, está muito aumentada. Inversamente, durante a fase inicial da resposta aguda, a síntese de outras proteínas plasmáticas (p. ex., albumina) está diminuída. A disponibilidade aumentada de aminoácidos e o aumento dos níveis de cortisol também estimulam a gliconeogênese, fornecendo, assim, substrato energético para as células dependentes de glicose do sistema imunológico (p. ex., linfócitos). Um aumento da síntese de uréia acompanha a aceleração da degradação de aminoácidos.

O efluxo aumentado de glutamina do músculo esquelético durante a sepse serve a várias funções (ver Figura 42.1). Ele fornece uma fonte de energia às células em rápida divisão do sistema imunológico. A glutamina está disponível como doadora de nitrogênio para a síntese de purina, para a síntese de NAD^+ e para outras funções biossintéticas essenciais ao crescimento e à divisão das células. Uma produção aumentada de ácidos metabólicos pode acompanhar o estresse, como a sepse, havendo, portanto, uma utilização aumentada de glutamina pelo rim.

Sob a influência de níveis elevados de glicocorticóides, adrenalina e glucagon, os ácidos graxos são mobilizados do tecido adiposo para fornecer substratos energéticos alternativos para outros tecidos e poupar glicose. Sob tais condições, os ácidos graxos são a principal fonte de energia para o músculo esquelético, e a captação de glicose diminui. Essas mudanças levam a uma hiperglicemia leve.

O grau de resposta hipercatabólica do corpo depende da gravidade e da duração do trauma ou do estresse. Após um procedimento cirúrgico não-complicado em um paciente saudável, o balanço nitrogenado negativo líquido é limitado a cerca de uma semana. As leves perdas de nitrogênio em geral são revertidas pela suplementação protéica da dieta enquanto o paciente se recupera. Com injúria traumática grave ou estresse séptico maiores, o corpo deve catabolizar proteínas corporais e lipídeos do tecido adiposo por um período prolongado, e o balanço nitrogenado negativo não deve estar normalizado por semanas.

O balanço nitrogenado negativo grave de **Katta Bolic** foi causado tanto pelo seu estado de desnutrição quanto pela infecção intra-abdominal complicada por sepse. As respostas diversas e sistêmicas que o corpo realiza na presença de insultos, como doença febril aguda, são denominadas "respostas de fase aguda". Um evento inicial nessa resposta é a estimulação da atividade fagocítica (ver Figura 42.17). Macrófagos estimulados liberam citocinas, as quais são proteínas regulatórias que estimulam a liberação de cortisol, insulina e hormônio do crescimento. As citocinas também medeiam, diretamente, a resposta de fase aguda à sepse pelo fígado e pelo músculo esquelético.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

O clínico pode determinar se um paciente como **Katta Bolic** está em uma resposta de fase aguda a alguma lesão, mesmo que sutil, determinando se as proteínas exclusivas da fase aguda estão sendo secretadas pelo fígado. A proteína C reativa, assim chamada por sua habilidade de interagir com o polissacarídeo C de pneumococos, e a proteína A amilóide sérica, um precursor da fibrila amilóide encontrada na amiloidose secundária, estão elevadas nos pacientes em resposta de fase aguda, em comparação com indivíduos normais. Outras proteínas geralmente encontradas no sangue de indivíduos saudáveis estão presentes em concentrações aumentadas em pacientes que estão tendo uma resposta de fase aguda. Tais proteínas incluem haptoglobina, certos inibidores de proteases, componentes do complemento, ceruloplasmina e fibrinogênio. A concentração elevada dessas proteínas no sangue aumenta a velocidade de sedimentação de eritrócitos (VSE), outra medida laboratorial da presença de reposta de fase aguda.

Para determinar a VSE, o sangue do paciente é colocado verticalmente em um tubo capilar de vidro. A velocidade com a qual o sedimento de células sangüíneas vermelhas se dirige para o fundo do tubo depende da porcentagem de células sangüíneas vermelhas que se agrupam, tornando-se, portanto, mais densas. O grau de agrupamento é diretamente correlacionado com a presença de uma ou mais proteínas de primeira fase (listadas previamente). Tais proteínas interferem no chamado potencial zeta das células sangüíneas vermelhas, o qual geralmente impede as células sangüíneas vermelhas de se agruparem. Como muitas proteínas diferentes podem, individualmente, alterar o potencial zeta, a VSE é um teste inespecífico para a presença de inflamação aguda.

A perda de peso freqüentemente observada em pacientes sépticos é causada, em especial, por uma perda de apetite resultante do efeito de certas citocinas sobre o centro medular do apetite. Outras causas incluem gasto de energia aumentado pela febre e proteólise aumentada.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



Após insultos catabólicos, como injúria, trauma, infecção ou câncer, o fluxo interórgão de glutamina e de substratos energéticos é muito alterado. Teleologicamente, as mudanças que ocorrem no metabolismo dão prioridade máxima para as células que fazem parte do sistema imunológico. As evidências sugerem que as mudanças no metabolismo de glutamina e nos substratos energéticos são mediadas

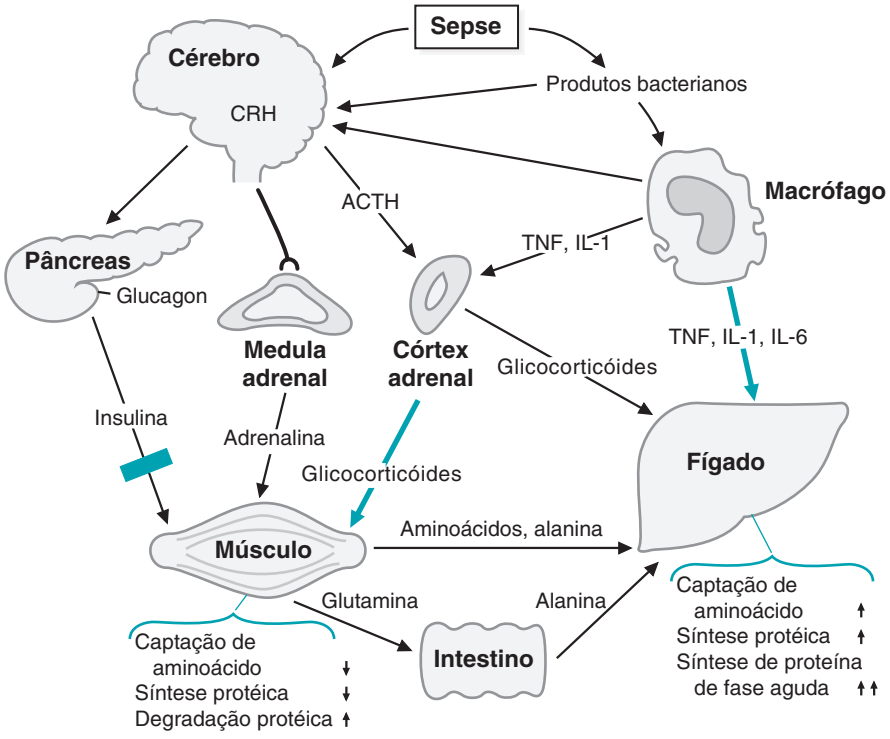


Figura 42.17 Citocinas e hormônios medeiam o fluxo de aminoácidos durante a sepse. Produtos bacterianos agem nos macrófagos para estimular a liberação de citocinas e no cérebro para estimular a resposta simpatoadrenal. O resultado é a estimulação da liberação dos hormônios contra-regulatórios da insulina (adrenalina, glucagon e glicocorticóides). O glicocorticóide cortisol pode ser o principal mediador da taxa líquida de degradação protéica muscular durante a sepse. A síntese protéica hepática, particularmente aquela das proteínas de fase aguda, é estimulada tanto por cortisol quanto por citocinas. Provavelmente, o metabolismo de aminoácidos no intestino também seja afetado por glicocorticóides e citocinas. Devido à liberação de hormônios contra-regulatórios, o músculo e outros tecidos tornam-se resistentes à ação da insulina, como indicado pela barra na figura. Adaptado com permissão de Fisher J. Am J Surg 1991;161:270.

pelos hormônios contra-regulatórios da insulina, como cortisol e adrenalina, e várias diferentes citocinas (ver Capítulo 11 para uma revisão de citocinas). As citocinas parecem desempenhar um papel mais importante do que os hormônios durante a sepse, embora elas exerçam seus efeitos, em parte, por meio dos hormônios (Figura 42.17). Embora as citocinas possam ser liberadas por uma variedade de células, os macrófagos são a sua principal fonte durante o trauma e a sepse.

Duas citocinas importantes na sepse são a interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF, do inglês ***t**umor **n**ecrosis **f**actor*). A IL-1 e o TNF afetam o metabolismo de aminoácidos tanto por meio da regulação da liberação de glicocorticóides quanto por meio de efeitos diretos sobre os tecidos. Embora as citocinas sejam geralmente consideradas parácrinas, com seus efeitos sendo exercidos sobre células da cercania imediata, o TNF e a IL-1 aumentam no sangue durante a sepse. Outras citocinas, como a IL-6, também podem estar envolvidas.

Durante a sepse, TNF, IL-1 e possivelmente outras citocinas, produtos bacterianos ou mediadores agem no cérebro para estimular a liberação de glicocorticóides do córtex adrenal (um processo mediado pelo hormônio adrenocorticotrófico [ACTH, do inglês ***a**drenocortico**t**ropic **h**ormone*]), adrenalina da medula adrenal e insulina e glucagon do pâncreas. Embora a insulina esteja elevada durante a sepse, os tecidos apresentam uma resistência à ela que é similar àquela do paciente com diabetes melito não-insulino-dependente, possivelmente causada pelos níveis elevados dos hormônios contra-regulatórios da insulina (glicocorticóides, adrenalina e glucagon). As mudanças na taxa de síntese protéica da fase aguda são mediadas, pelo menos em parte, pelos efeitos do TNF, da IL-1 e da IL-6 sobre a síntese de grupos de proteínas no fígado.



Os estados hipercatabólicos podem ser acompanhados por graus variáveis de resistência à insulina causados, em parte, pela liberação de hormônios contra-regulatórios no sangue. Assim, pacientes com diabetes melito podem necessitar de maiores níveis de insulina exógena durante a sepse.

Leituras Sugeridas

Abcouwer SF, Bode BP, Scuba WW. Glutamine as a metabolic intermediate. In: Fischer JE, ed. Nutrition and Metabolism of the Surgical Patient. 2nd Ed. Boston: Little, Brown & Company, 1996:353-384.

Abumrad NN, Williams P, Frexes-Steed M, et al. Inter-organ metabolism of amino acids in vivo. Diabetes Metabol Rev 1989;5:213-226.

Bessey PQ. Metabolic response to trauma and infection. In: Fischer JE, ed. Nutrition and Metabolism of the Surgical Patient. 2nd Ed. Boston: Little, Brown & Company, 1996:1577-1600.

Fischer J, Hasselgren P-O. Cytokines and glucocorticoids in the regulation of the "hepato-skeletal muscle axis" in sepsis. Am J Surg 1991:161:266-271.

Newsholme P, Procopio J, Lima, MMR, Pithon-Curu TC, Cori R. Glutamine and glutamate–their central role in cell metabolism and function. Cell Biochem Funct 2003;21:1-9.

Wolfe RR. Effects of insulin on muscle tissue. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2000;3:67-71.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 42

1. Qual dos perfis indicados abaixo poderia ocorrer dentro de duas horas após a ingestão de uma refeição muito rica em proteína e pobre em carboidratos?

	Níveis de glucagon sangüíneo	Gliconeogênese hepática	Oxidação de BCAA no músculo
(A)	↓	↓	↑
(B)	↑	↓	↑
(C)	↓	↑	↑
(D)	↑	↑	↑
(E)	↓	↓	↓
(F)	↑	↓	↓
(G)	↓	↑	↓
(H)	↑	↑	↓

2. O intestino utiliza glutamina como uma fonte de energia, mas pode também secretar citrulina, sintetizada a partir dos carbonos da glutamina. Qual dos seguintes compostos é um intermediário obrigatório nessa conversão (considere apenas os átomos de carbono da glutamina para responder)?

   (A) Aspartato
   (B) Succinil-CoA
   (C) Glutamato
   (D) Serina
   (E) Fumarato

3. Qual dos seguintes sinais indica ao músculo que a degradação protéica precisa ser iniciada?

   (A) Insulina

(B) Glucagon
(C) Adrenalina
(D) Cortisol
(E) Glicose

4. Os músculos esqueléticos convertem carbonos dos BCAA em glutamina para enviá-los para o restante do corpo. Qual dos seguintes é um intermediário obrigatório que transporta os carbonos originalmente dos BCAA na conversão de BCAA em glutamina?

(A) Uréia
(B) Piruvato
(C) Lactato
(D) Isocitrato
(E) Fosfoenolpiruvato

5. Um indivíduo em sepse mostraria qual dos seguintes padrões metabólicos?

	Balanço nitrogenado	Gliconeogênese	Oxidação de ácido graxo
(A)	Positivo	↑	↑
(B)	Negativo	↑	↑
(C)	Positivo	↑	↓
(D)	Negativo	↑	↓
(E)	Positivo	↓	↑
(F)	Negativo	↓	↓

Metabolismo Tecidual

Embora a maioria das vias bioquímicas descritas previamente esteja presente em todos os tecidos do corpo, muitos deles também realizam funções especializadas e contêm vias únicas. Esta sessão descreve vários desses tecidos e, em alguns casos, explica como interagem com o resto do corpo para coordenar suas funções.

Os capítulos anteriores deste livro focalizaram principalmente a insulina e o glucagon como os maiores mediadores na regulação das vias metabólicas; entretanto, uma grande variedade de outros hormônios também regula o armazenamento e a utilização de substratos energéticos (ver Capítulo 43). Esses hormônios são primariamente contrários aos efeitos da insulina e são chamados de hormônios contra-regulatórios. Eles incluem o hormônio do crescimento; o hormônio da tiróide; os glicocorticóides, como o cortisol; as moléculas, e os peptídeos pequenos, como as catecolaminas e as somatostatinas, respectivamente. O hormônio do crescimento age, em parte, induzindo a síntese de fatores de crescimento tipo-insulina (*insulin-like growth factor*). Esses hormônios podem exercer suas funções de forma rápida (por meio das modificações covalentes de enzimas reguladoras) ou lenta (por meio das alterações na velocidade de síntese das enzimas reguladoras). A interação desses hormônios com a insulina e o glucagon, assim como a sua síntese e secreção, incluindo as condições que levam à secreção de cada hormônio serão discutidas.

As proteínas e as células do sangue formam seu próprio sistema tecidual (ver Capítulo 44). Todas as células sangüíneas são derivadas de um precursor comum, as células-tronco da medula óssea. Diferentes citocinas sinalizam o gatilho para a diferenciação de uma linhagem particular de célula sangüínea. Por exemplo, quando há uma redução no suplemento de oxigênio para os tecidos, o rim responde liberando a eritropoetina. Esse hormônio estimula especificamente a produção das células vermelhas do sangue.

As células vermelhas do sangue têm funções metabólicas limitadas, devido a sua falta de organelas internas. A principal função dessas células é levar oxigênio para os tecidos pela ligação do oxigênio à hemoglobina. Quando o número de células vermelhas é reduzido, desenvolve-se a anemia. Isso pode ser atribuído a muitas causas, incluindo deficiências nutricionais ou mutações (anemias hereditárias). A morfologia das células vermelhas do sangue pode, algumas vezes, auxiliar na distinção entre os vários tipos de anemia.

O metabolismo das células vermelhas do sangue é ajustado para preservar a habilidade dessas células em transportar oxigênio, bem como em regular a ligação do oxigênio à hemoglobina. A glicólise fornece energia e NADH para proteger o estado de oxidação do ferro ligado ao heme. A via da hexose-monofosfato produz NADPH para proteger as membranas dos eritrócitos da oxidação. A síntese do heme, que usa succinil-CoA e glicina como fonte de todos os átomos de carbono e nitrogênio de sua estrutura, ocorre nas células precursoras das células vermelhas do sangue. Os defeitos metabólicos na síntese do heme levam a uma classe de doenças conhecidas como porfirias. Devido ao fato de as células vermelhas do sangue normalmente terem de passar através de capilares muito estreitos, suas membranas devem ser facilmente deformáveis. Essa deformidade é, em parte, atribuída à complexa estrutura do citoesqueleto que circunda os eritrócitos. Mutações nessas proteínas estruturais podem diminuir a capacidade de deformação das células. Isso, por sua vez, pode resultar em uma anemia hemolítica.

Entre outras funções, o sistema hematológico é responsável pela hemostasia, bem como pela manutenção do volume sangüíneo constante (ver Capítulo 45). Um corte na parede de um vaso pode levar à perda sangüínea que, quando extensa, pode ser fatal. O reparo no dano do vaso, tanto interno quanto externo, é acompanhado por uma complicada série de ativações de zimogênios de proteínas sangüíneas circulantes, resultando

na formação de um coágulo de fibrina (cascata da coagulação). As plaquetas possuem um papel crucial na hemostasia não somente pela liberação de pró-coagulantes, mas também por sua habilidade em formar agregados dentro do trombo (coágulo). A função do coágulo como uma rolha permite o reparo na parede do vaso, prevenindo novas perdas sangüíneas. Por outro lado, a formação inadequada de coágulo em vasos que levam o sangue para órgãos ou tecidos vitais pode ter conseqüências devastadoras, como no infarto agudo cerebral ou do miocárdio. Devido ao fato de a coagulação ser rigorosamente controlada, existem mecanismos complexos que regulam essa importante função hematológica.

O fígado é um órgão altruísta que realiza múltiplos serviços para os outros tecidos (ver Capítulo 46). Ele fornece glicose e corpos cetônicos para o resto do corpo quando os substratos energéticos armazenados são limitados. Ele elimina amônia na forma de uréia quando ocorre a degradação de aminoácidos. Ele é o local de desintoxicação de xenobióticos e sintetiza várias das proteínas encontradas no sangue. O fígado sintetiza ácidos graxos e colesterol e os distribui para outros tecidos sob a forma de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL). Ele também sintetiza ácidos biliares que são importantes para a digestão de gorduras no intestino. O fígado recicla o colesterol e os triacilgliceróis por meio da captação de partículas de lipoproteínas de densidade intermediária (IDL), quilomícrons e VLDL remanescentes e lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Devido à sua natureza protetora e sua localização estratégica entre o intestino e a circulação sistêmica, o fígado exerce o primeiro "combate" sobre todos os compostos que entram no sangue através da circulação enteroepática. Portanto, os compostos xenobióticos podem ser desintoxicados no fígado antes que tenham a chance de chegar a outros tecidos.

As células musculares contêm vias especiais que permitem que essas células armazenem energia como creatina-fosfato e regulem rigorosamente o uso de ácidos graxos como fonte de energia (ver Capítulo 47). A proteína-quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMP, do inglês *adenosine monophosphate*) é uma enzima reguladora importante do metabolismo energético muscular. O músculo consiste em diversos tipos de fibras contráteis que obtêm sua energia de diferentes fontes. Por exemplo, as fibras de contração lenta tipo I (*slow-twitch fibers*) usam vias energéticas oxidativas, enquanto as fibras de contração rápida tipo II (*fast-twitch fibers*) usam a via glicolítica para a obtenção de energia.

O sistema nervoso consiste em vários tipos celulares que são funcionalmente interconectados de maneira que permite a transmissão eficiente de sinais para todo o sistema (ver Capítulo 48). As células do sistema nervoso central são protegidas dos compostos potencialmente tóxicos pela barreira hematencefálica, a qual restringe a entrada de compostos para dentro do sistema nervoso (a amônia, entretanto, é uma notável exceção). As células cerebrais comunicam-se entre si e com outros órgãos por meio da síntese de neurotransmissores e neuropeptídeos. Muitos dos neurotransmissores são derivados de aminoácidos, e a maioria deles é sintetizada pelas células nervosas. Devido ao fato de as vias de biossíntese de aminoácidos e neurotransmissores requererem co-fatores (como piridoxal-fosfato, tiamina-pirofosfato e vitamina B12), a deficiência dos mesmos pode levar a neuropatias (disfunção de neurônios específicos no sistema nervoso).

Devido às restrições impostas pela barreira hematencefálica, o cérebro também necessita sintetizar seus próprios lipídeos. Um suprimento adequado de lipídeos é vital para o sistema nervoso central, já que são constituintes da bainha de mielina que circunda os neurônios e permite que eles conduzam os impulsos normalmente. As doenças neurodegenerativas, como a esclerose múltipla, são conseqüências de graus variáveis de desmielinização dos neurônios.

O tecido conjuntivo, o qual consiste principalmente em fibroblastos, produz os materiais da matriz extracelular que circundam as células e os tecidos, determinando sua posição apropriada dentro do órgão (ver Capítulo 49). Esses materiais incluem as proteínas estruturais (colágeno e elastina), as proteínas de adesão (fibronectina) e os glicosaminoglicanos (heparan-sulfato, condroitina-sulfato). As estruturas únicas das proteínas e dos carboidratos encontradas dentro da matriz extracelular permitem aos tecidos e órgãos realizarem suas múltiplas funções. Uma perda das funções de sustentação e de barreira do tecido conjuntivo algumas vezes leva a conseqüências clínicas importantes, como aquelas resultantes de alterações microvasculares que levam à cegueira ou à insuficiência renal, ou a neuropatias periféricas em pacientes com diabetes melito.

43 Ações de Hormônios que Regulam o Metabolismo Energético

Muitos hormônios afetam o metabolismo energético, incluindo aqueles que regulam o apetite, bem como os que influenciam na absorção, no transporte e na oxidação dos alimentos. Os principais hormônios que influenciam o metabolismo de nutrientes e suas ações sobre o músculo, o fígado e o tecido adiposo estão listados na Tabela 43.1.

*A **insulina** é o principal **hormônio anabólico**. Ela promove o **armazenamento** de **nutrientes** como o **glicogênio** no fígado e no músculo e os **triacilgliceróis** no tecido adiposo. Ela também estimula a **síntese** de **proteínas** em tecidos como o **músculo**. Ao mesmo tempo, a insulina inibe a mobilização de substratos energéticos.*

*O **glucagon** é o principal hormônio **contra-regulatório**. O termo contra-regulatório significa que suas ações em geral são opostas às da insulina (contra-insular). A principal ação do glucagon é **mobilizar as reservas de substratos energéticos** por estimular a **glicogenólise** e a **gliconeogênese**. Essas ações asseguram que, entre as refeições, a glicose esteja disponível para os tecidos glicose-dependentes.*

*A **adrenalina**, a **noradrenalina**, o **cortisol**, a **somatostatina** e o **hormônio do crescimento** também têm atividade **contra-insular**. O **hormônio da tireóide** também pode ser classificado como um hormônio contra-regulatório da insulina, pois esse hormônio **aumenta** a velocidade do **consumo de substratos energéticos** e também aumenta a sensibilidade das células-alvo para outros hormônios contra-regulatórios da insulina.*

*A insulina e os hormônios contra-regulatórios exercem dois tipos de regulação metabólica (ver Capítulo 26). O primeiro tipo de controle ocorre de minutos a horas depois da interação hormônio-receptor e em geral resulta em mudanças, causadas por fosforilação ou desfosforilação, nas atividades catalíticas ou na cinética de enzimas-chave preexistentes. O segundo tipo de controle envolve a regulação da **síntese de enzimas-chave** por mecanismos que estimulam ou inibem a transcrição ou tradução do mRNA. Esse tipo de controle é lento e requer de horas a dias.*



SALA DE ESPERA



Otto Shape, agora um estudante de medicina de terceiro ano, foi designado para fazer a história e o exame físico de um paciente de 47 anos chamado **Corti Solemia** internado recentemente. O Sr. Solemia consultou seu médico devido a fraqueza e fadiga crescentes, e foi observado um nível de glicose sangüínea muito elevado. Enquanto examinava o paciente, Otto observou vermelhidão acentuada da pele da face, bem como listras roxo-avermelhadas (estrias) na pele do abdômen inferior e das coxas. A gordura corporal estava distribuída de forma incomum na medida em que apresentava uma deposição excessivamente central na face, no pescoço,

Tabela 43.1 Principais Hormônios Reguladores do Metabolismo Energético

		Músculo	Fígado	Tecido Adiposo							
Hormônio	**Captação de glicose**	**Utilização de glicose**	**Síntese protéica**	**Saída de glicose**	**Cetogênese**	**Gliconeo-gênese**	**Glicogenólise**	**Glicogênese**	**Síntese protéica**	**Síntese de lipídeos**	**Lipólise**
Hormônio anabólico											
Insulina	↑↑	↑↑	↑↑	↓↓	↓↓	↓↓	↑	↑	↑	↑↑	↓↓
Hormônios contra-regulatórios[a]											
Glucagon	–	–	–	↑↑	↑	↑	↑↑	↓	–	–	↑ (em altas doses)
Adrenalina e noradrena-lina	–	↑	–	↑↑	–	↑	↑↑ (inicial)	↑↓	–	–	↑↑
Glicocorticóide	↓	↓	↓	↑	↑	↑ (principalmente permissiva)	–	↑	↑	–	↑ (permissiva)
Hormônio do crescimento	↓ (fracamente)	↓ (fracamente)	↑	↑	↑	↑	–	–	↑	–	↑ (principalmente permissiva)
Hormônio da tireóide	–	↑	↑	↑	↑	↑	–	–	–	–	↑ (permissiva)
Somatostatina[b]	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

[a]Hormônios com ações que em geral são opostas àquelas da insulina.
[b]Os efeitos da somatostatina sobre o metabolismo são indiretos por meio da supressão da secreção da insulina, glucagon, hormônio do crescimento e hormônio da tireóide e pelos efeitos sobre a secreção de ácido gástrico, o tempo de esvaziamento gástrico e a secreção pancreática exócrina (ver texto).

no dorso superior, no peito e no abdômen, enquanto as porções distais dos braços e das pernas pareciam quase sem gordura. A pele do paciente parecia afinada, e grandes hematomas estavam presentes em muitas áreas do corpo, para os quais o Sr. Solemia não tinha explicação. O exame neurológico mostrou fraqueza muscular importante, especialmente das regiões proximais de braços e pernas, onde os músculos pareciam atrofiados.



Sam Atotrope, um joalheiro de 42 anos, observou dores de cabeça graves crescentes, atrás dos olhos, algumas vezes associadas a "*flashes* de luz" no campo visual. Às vezes a visão parecia borrada, tornando difícil realizar alguns dos trabalhos minuciosos necessários a um joalheiro. Ele consultou seu oftalmologista, que ficou impressionado com a alteração dramática que tinha ocorrido nas características faciais desde a última consulta, há 5 anos. Os sulcos normais da pele na face de Sam tinham se tornado muito mais profundos, a pele parecia estar espessada, o nariz e os lábios pareciam mais bulbosos e a mandíbula mais proeminente. O médico também notou que as mãos de Sam pareciam volumosas, e que a voz tinha ficado mais grave. Um exame de olhos mostrou que os nervos ópticos de Sam pareciam levemente atrofiados, e havia uma perda dos quadrantes superiores externos dos campos visuais.

I. EFEITOS FISIOLÓGICOS DA INSULINA

Os efeitos da insulina sobre o metabolismo energético e o fluxo de substratos foram considerados em muitos capítulos anteriores deste livro, particularmente no Capítulo 26. A insulina estimula o armazenamento de glicogênio no fígado e no músculo, e a síntese de ácidos graxos e triacilgliceróis e o seu armazenamento no tecido adiposo. Além disso, a insulina estimula a síntese de mais de 50 proteínas em vários tecidos algumas das quais contribuem para o crescimento do organismo. De fato, é difícil separar os efeitos da insulina sobre o crescimento celular daqueles de uma família de proteínas conhecidas como somatomedinas ou fatores de crescimento tipo-insulina I e II (IGF-I e IGF-II, do inglês *insulin-like growth factor*) (ver Seção III.B.6 deste capítulo).

Finalmente, a insulina tem ações parácrinas nas ilhotas das células pancreáticas. Quando a insulina é liberada pelas células β, ela inibe a liberação do glucagon pelas células α.

II. EFEITOS FISIOLÓGICOS DO GLUCAGON

O glucagon é um dos diversos hormônios contra-regulatórios (contra-insulares). Ele é sintetizado como parte de uma grande proteína precursora, o pró-glucagon. O pró-glucagon é produzido nas células α das ilhotas de Langerhans do pâncreas e nas células L do intestino. Ele contém vários peptídeos ligados em série: peptídeo relacionado a glicentina, glucagon, peptídeo tipo-glucagon 1 (GLP-1, do inglês *glucagon-like peptide*) e peptídeo tipo-glucagon 2 (GLP-2). A clivagem proteolítica do pró-glucagon libera várias combinações de seus peptídeos constituintes. O glucagon é derivado do pró-glucagon no pâncreas e constitui de 30 a 40% do glucagon imunorreativo no sangue. A imunorreatividade remanescente é causada pelos outros produtos de clivagem do pró-glucagon liberados do pâncreas e do intestino. O glucagon pancreático tem uma meia-vida de 3 a 6 minutos, e sua remoção é feita principalmente pelo fígado e pelo rim.

O glucagon promove a glicogenólise, a gliconeogênese e a cetogênese pelo estímulo na produção de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) nas células-alvo. O fígado é o maior órgão-alvo do glucagon, em parte porque as concentrações desse hormônio no sangue portal que banha as células hepáticas são mais altas do que na circulação periférica. Os níveis do glucagon na veia porta podem ser tão altos quanto 500 pg/mL.

Finalmente, o glucagon estimula a liberação de insulina pelas células β do pâncreas. Ainda não está bem estabelecido se esse é um efeito parácrino ou endócrino do glucagon. Acredita-se que o padrão do fluxo sangüíneo nas células das ilhotas pancreáticas seja de banhar primeiramente as células β e depois as células α. Portanto,

as células β podem influenciar a função das células α por um mecanismo endócrino, enquanto a influência dos hormônios das células β sobre a função das células α é provavelmente parácrina.

III. EFEITO FISIOLÓGICOS DE OUTROS HORMÔNIOS CONTRA-REGULATÓRIOS

A. Somatostatina

1. BIOQUÍMICA

A pré-pró-somatostatina, um peptídeo com 116 aminoácidos, é codificada no braço longo do cromossomo 3. A somatostatina (SS-14), um peptídeo cíclico com um peso molecular de 1.600, é derivada dos 14 aminoácidos C-terminais da pré-pró-somatostatina. A SS-14 foi isolada primeiramente do hipotálamo e recebeu essa denominação por sua habilidade em inibir a liberação do hormônio do crescimento (GH, somatotropina) da pituitária anterior. Ela também inibe a liberação da insulina. Além do hipotálamo, a somatostatina também é secretada pelas células D (células δ) das ilhotas pancreáticas, em muitas áreas do sistema nervoso central (SNC) fora do hipotálamo e células da mucosa gástrica e duodenal. A SS-14 predomina no SNC e é a única forma secretada pelas células δ do pâncreas. Entretanto, no intestino, a pró-somatostatina (SS-28), a qual tem 14 aminoácidos adicionais estendidos da porção C-terminal do precursor, compõe de 70 a 75% da imunorreatividade (a quantidade de hormônio que reage com anticorpos para SS-14). O pró-hormônio SS-28 é 7 a 10 vezes mais potente do que a SS-14 em inibir a liberação de GH e de insulina.

2. SECREÇÃO DA SOMATOSTATINA



A tolbutamida, um fármaco sulfoniluréia que aumenta a secreção de insulina, também aumenta a secreção pancreática de somatostatina.

Os secretagogos da somatostatina são similares àqueles que causam a secreção da insulina. Os metabólitos que aumentam a liberação de somatostatina incluem glicose, arginina e leucina. Os hormônios que aumentam a secreção da somatostatina incluem glucagon, polipeptídeo intestinal vasoativo (VIP, do inglês *vasoactive intestinal polypeptide*) e colecistocinina (CCK, do inglês *cholecystokinin*). A insulina, entretanto, não influencia diretamente a secreção de somatostatina.

3. EFEITOS FISIOLÓGICOS DA SOMATOSTATINA



Além de seus efeitos sobre a secreção normal de GH, a somatostatina também inibe o aumento patológico do GH que ocorre na acromegalia (causada pelo tumor hipofisário secretor de GH), no diabetes melito e em tumores carcinóides (tumores que secretam serotonina). A somatostatina também suprime a secreção basal de TSH, TRH, insulina e glucagon. O hormônio também tem um efeito supressor sobre uma grande variedade de secreções não-endócrinas.

A maior limitação no uso clínico da somatostatina nativa é sua curta meia-vida, menos de 3 minutos, na circulação. Entretanto, têm sido desenvolvidos análogos da somatostatina nativa resistentes à degradação e, conseqüentemente, com uma meia-vida plasmática mais longa. Um desses análogos é o octreotídeo, um octapeptídeo derivado da somatostatina com uma meia-vida de cerca de 110 minutos.

Cinco receptores da somatostatina foram identificados e caracterizados, sendo todos eles membros da superfamília de receptores acoplados à proteína G. Quatro dos cinco receptores não fazem distinção entre SS-14 e SS-28. A somatostatina liga-se aos seus receptores de membrana nas células-alvo. Esses receptores "ativados" interagem com a proteína G inibitória da adenilato-ciclase. Como resultado, a produção de AMPc é inibida, e, conseqüentemente, a proteína-quinase A (PKA, do inglês *protein kinase A*) não é ativada. Esse efeito inibitório suprime a secreção de GH e de hormônio estimulante da tireóide (TSH) da pituitária anterior, bem como a secreção de insulina e de glucagon das ilhotas pancreáticas. Se fosse para resumir a ação da somatostatina em uma frase, seria "a somatostatina inibe a secreção de muitos hormônios". Ou seja, a somatostatina age regulando os efeitos de outros hormônios. Além dos efeitos sobre os hormônios que regulam o metabolismo energético, a somatostatina também reduz a absorção de nutrientes no intestino, prolongando o tempo de esvaziamento gástrico (pela diminuição na secreção de gastrina, que por sua vez reduz a secreção do ácido gástrico), diminuindo as secreções exócrinas pancreáticas (ou seja, enzimas digestivas, bicarbonato e água) e o fluxo sangüíneo visceral. Portanto, a somatostatina exerce uma ampla influência, embora indireta, sobre a absorção de nutrientes e, portanto, a utilização de substratos energéticos.

A somatostatina e seus análogos sintéticos são usados clinicamente para tratar vários tipos de neoplasmas secretores, como os tumores da pituitária que secretam GH. Tais tumores podem causar gigantismo se o hormônio do crescimento for secretado em excesso antes do desaparecimento do centro de crescimento das extremidades dos ossos longos, ou acromegalia se o excesso de hormônio do crescimento for cronicamente secretado após o desaparecimento desses centros (como em **Sam Atrope**).

A. Hormônio do crescimento (GH)

1. BIOQUÍMICA

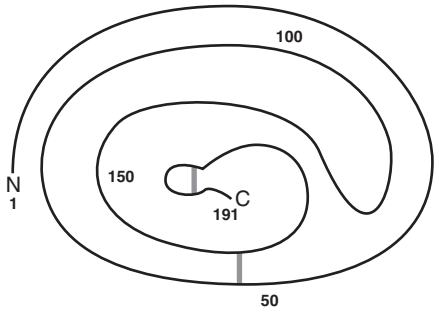
O hormônio do crescimento é um peptídeo que, como o seu nome indica, estimula o crescimento. Muitos de seus efeitos são mediados pelos fatores de crescimento tipo-insulina (IGFs, também conhecidos como somatomedinas) que são produzidos pelas células em resposta à ligação do GH a seus receptores na membrana celular (ver Seção 6 a seguir). Entretanto, o GH também tem efeitos diretos sobre o metabolismo energético.

O hormônio do crescimento é um polipeptídeo de 22 kDa solúvel em água e tem uma meia-vida plasmática de 20 a 50 minutos. Ele é composto de uma cadeia única de 191 aminoácidos com duas pontes dissulfeto intramoleculares (Figura 43.1). O gene que codifica o GH está localizado no cromossomo 17. Ele é secretado pelas células somatotróficas (células que sintetizam e liberam GH) presentes na área lateral da pituitária anterior. O GH é estruturalmente relacionado à prolactina humana e à somatomamotropina coriônica humana (hCS, do inglês *human chorionic somatomammotropin*) da placenta, um polipeptídeo que estimula o crescimento e o desenvolvimento fetal. O peptídeo hCS tem somente 0,1% da potência do GH em induzir o crescimento. O hormônio do crescimento é o mais abundante hormônio trófico na pituitária anterior, sendo que sua concentração varia de 5 a 15 mg por grama de tecido. Os outros hormônios da pituitária anterior estão presentes na ordem de microgramas por grama de tecido.

A ação do GH pode ser classificada de acordo com a ação direta do hormônio sobre as células-alvo ou indiretamente pela habilidade do GH em produzir outros fatores, particularmente o IGF-I.

As ações do GH independentes do IGF-I são exercidas principalmente em hepatócitos. A administração de GH é seguida pelo aumento precoce na síntese de 8 a 10 proteínas, como a IGF-I, a α_2-macroglobulina e os inibidores da serina protease Spi 2,1 e Spi 2,3. O GH também aumenta de forma importante a expressão do gene que codifica a ornitina-descarboxilase, uma enzima ativa na síntese de poliaminas (e, portanto, na regulação da proliferação celular).

A membrana celular dos adipócitos e dos músculos contém receptores para GH, os quais medeiam direta e rapidamente os efeitos metabólicos desse hormônio sobre o metabolismo da glicose e o transporte de aminoácidos, bem como a lipólise. Esses receptores estão associados a tirosina-quinases citoplasmáticas para a transdução de sinal (como as janus-quinases; ver Capítulo 11, Seção III.C). Por exemplo, no tecido adiposo, o GH tem um efeito agudo semelhante à insulina seguido de aumento da lipólise, inibição da lipoproteína lipase, estimulação da lipase hormônio-sensível e diminuição do transporte da glicose e da lipogênese. No músculo, o GH causa o aumento do transporte de aminoácidos, da retenção de nitrogênio, de tecido livre de gordura (magro) e do gasto energético. O GH também tem efeitos que promovem o crescimento. Os receptores do GH estão presentes em uma variedade de tecidos onde esse hormônio aumenta a expressão do gene do IGF-I. O subseqüente aumento nos níveis de IGF-I contribui para a multiplicação e a diferenciação celulares por mecanismos autócrinos ou parácrinos, levando ao crescimento muscular, visceral e esquelético. Essas ações



Hormônio do crescimento humano

Figura 43.1 Estrutura do hormônio do crescimento humano. De Murray, RK, et al. Harper´s Biochemistry, 23rd Ed. Stamford, CT: Appleton & Lange, 1993:502.

Uma MRI *scan* do cérebro de **Sam Atotrope** mostrou um macroadenoma (um tumor maior do que 10 mm de diâmetro) na glândula pituitária, com extensão superior que comprimiu o nervo óptico, já que ele atravessa acima da sela túrcica, causando os problemas visuais. As mudanças esqueléticas e viscerais observadas pelo oftalmologista são características de pacientes acromegálicos com elevados níveis séricos crônicos de GH e IGF-I.

As alternativas terapêuticas para a acromegalia causada por um tumor secretor de GH da glândula pituitária anterior incluem tratamento clínico por toda a vida com o análogo da somatostatina octreotídeo ou o antagonista do receptor de GH pegvisomante. Outras opções terapêuticas incluem a terapia de radiação estereotática ou a remoção cirúrgica do neoplasma. Se a secreção excessiva de GH é controlada com sucesso, algumas das alterações viscerais ou de tecidos moles da acromegalia podem lentamente diminuir em graus variados. Entretanto, as mudanças esqueléticas não podem ser revertidas.

O oftalmologista solicitou que fosse medido pela manhã o nível de GH no sangue de **Sam Atotrope** em jejum. Esse procedimento mostrou que o nível de GH do paciente estava elevado a 56 ng/mL (normal = 0 a 5 ng/mL).

Sam Atotrope recebeu uma dose oral de 100 g de xarope de glicose. Essa dose poderia diminuir os níveis séricos de GH para menos de 2 ng/mL em indivíduos normais, mas não em pacientes com acromegalia que têm um tumor hipofisário secretor autônomo produzindo GH. A acromegalia foi diagnosticada já que o nível de GH encontrado no sangue de Sam foi de 43 ng/mL após a sobrecarga oral de glicose. O paciente foi encaminhado a um endocrinologista para avaliações adicionais.

O GH não somente estimula a expressão do gene IGF-I no fígado, mas também em outros tecidos extra-hepáticos. Em acromegálicos, o aumento nos níveis de IGF-I causa um aumento gradual generalizado no crescimento muscular, visceral e esquelético. Como conseqüência, ocorre um aumento difuso no tamanho de todos os tecidos (aumento de tamanho = "megalia"), especialmente nos tecidos "acrais" (mais periféricos) do corpo, como face, mãos e pés. Por essa razão, o termo "acromegalia".

O aspecto facial grosseiro e o tamanho aumentado das mãos de **Sam Atotrope** são típicos de pacientes com acromegalia.

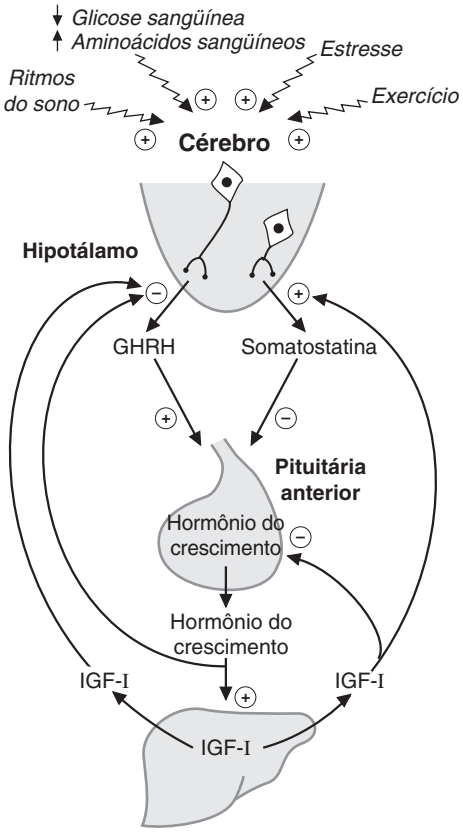


Figura 43.2 Controle da secreção do hormônio do crescimento. Vários fatores estimulam a liberação de GHRH do hipotálamo. O hipotálamo também libera a somatostatina em resposta a outros estímulos. O GHRH estimula, e a somatostatina inibe a liberação do hormônio do crescimento da pituitária anterior. O hormônio do crescimento causa a liberação do IGF-I do fígado e de outros tecidos. O IGF-I inibe a liberação de GHRH e estimula a liberação de somatostatina.

são acompanhadas por uma influência anabólica direta do GH sobre o metabolismo de proteínas, desviando os aminoácidos da oxidação para a síntese protéica, o que leva a um balanço nitrogenado positivo.

2. CONTROLE DA SECREÇÃO DO HORMÔNIO DO CRESCIMENTO

Embora a regulação da secreção do GH seja complexa, a principal influência é hormonal (Figura 43.2). O padrão de secreção pulsátil do GH reflete a interação de dois peptídeos de regulação hipotalâmicos. A liberação é estimulada pelo hormônio liberador do hormônio do crescimento (GHRH, do inglês *growth hormone-releasing hormone*; também chamado de somatocrinina). A estrutura do GHRH foi identificada em 1982 (Figura 43.3). Ele pode existir como um peptídeo de 40 ou de 44 aminoácidos, é codificado no cromossomo 20 e é produzido exclusivamente nas células do núcleo arqueado. Seu resíduo de leucina C-terminal é amidado. A atividade biológica completa desses hormônios de liberação está nos primeiros 29 aminoácidos da porção N-terminal da molécula. O GHRH interage com receptores específicos na membrana plasmática dos somatotrofos. Os mecanismos de sinalização intracelular que resultam na síntese e na liberação de GH parecem ser múltiplos, como o AMPc e o complexo cálcio-calmodulina que estimulam a sua liberação.

Por outro lado, a secreção de GH é suprimida pelo hormônio que inibe a liberação do hormônio do crescimento (GHRIH, do inglês *growth hormone release-inhibiting hormone*; também chamado de somatostatina, a qual já foi discutida). Além disso, o IGF-I, produzido principalmente no fígado em resposta à ação do GH nos hepatócitos, retroalimenta negativamente os somatotrofos e, conseqüentemente, limita a secreção do GH. Outros fatores fisiológicos (p. ex., exercício físico e sono) e muitos fatores patológicos controlam a sua liberação (Tabela 43.2).

Além disso, a liberação do GH é modulada pelos níveis plasmáticos de todos os substratos energéticos, incluindo proteínas, lipídeos e carboidratos. O aumento da glicemia normalmente suprime a liberação de GH, enquanto a hipoglicemia aumenta a sua secreção em indivíduos normais. Os aminoácidos, como a arginina, estimulam a liberação de GH quando suas concentrações aumentam no sangue. Níveis elevados de ácidos graxos podem enfraquecer a resposta do GH à arginina ou à queda rápida nos níveis de glicose sangüínea. Entretanto, no jejum prolongado, no qual os ácidos graxos

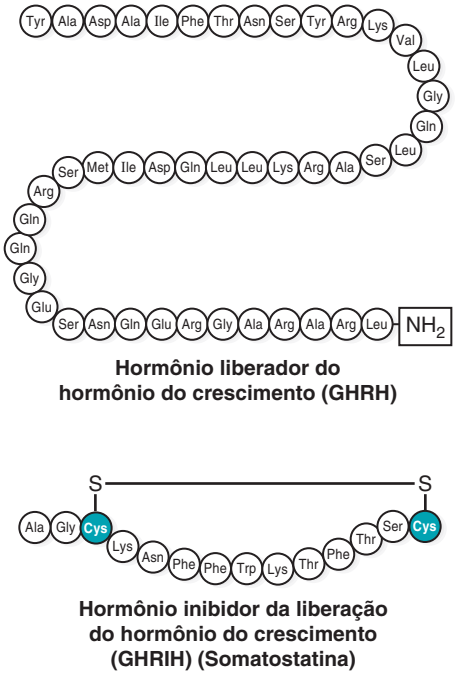


Figura 43.3 Estrutura do hormônio liberador do hormônio do crescimento (GHRH) e do hormônio inibidor da liberação do hormônio do crescimento (GHRIH, também chamado de somatostatina). O GHRH tem uma amida no C-terminal.

Tabela 43.2 Alguns Fatores que Afetam a Secreção do Hormônio do Crescimento

	Estimula	Suprime
Fisiológico	Glicose sangüínea diminuída após as refeições	Glicose sangüínea elevada após as refeições
	Aminoácidos elevados no sangue após as refeições	Ácidos graxos elevados no sangue
	Exercícios	
	Sono	
	Estresse	
Farmacológico	GHRH	Somatostatina
	Estrógenos	Progesterona
	Agonistas α-adrenérgicos	Antagonistas α-adrenérgicos
	Antagonistas β-adrenérgicos	Agonistas β-adrenérgicos
	Agonistas dopaminérgicos	Antagonistas dopaminérgicos
	Precursores de serotonina	Hormônio do crescimento e IGF-I
	Infusão de K^+	
Patológico	Jejum	Obesidade
	Anorexia nervosa	Hipotireoidismo
	Produção ectópica de GHRH	Hipertireoidismo
	Acromegalia	
	Insuficiência renal crônica	
	Hipoglicemia	

são mobilizados na tentativa de poupar proteínas, há um aumento na secreção de GH. Algumas das influências fisiológicas, farmacológicas e patológicas sobre a secreção do GH estão listadas na Tabela 43.2.



Esses moduladores da secreção do GH fornecem as bases para os testes de supressão e estimulação em pacientes suspeitos de apresentarem secreção de GH excessiva ou deficiente.

3. EFEITOS DO HORMÔNIO DO CRESCIMENTO SOBRE O METABOLISMO ENERGÉTICO

O GH afeta a captação e a oxidação de substratos energéticos em tecido adiposo, músculo e fígado e, indiretamente, influencia o metabolismo energético por meio de sua ação sobre as células das ilhotas pancreáticas. Em resumo, o GH aumenta a disponibi-



Enquanto **Sam Atotrope** tentava decidir quais as melhores alternativas para o tratamento de seu tumor hipofisário secretor de hormônio do crescimento, ele notou uma fadiga progressiva e um aumento na freqüência urinária associado a um aumento importante da sede. Além disso, apesar de ter um bom apetite, ele perdeu 1,8 kg nas últimas seis semanas. O médico suspeitou que o Sr. Atotrope tivesse desenvolvido diabetes melito, talvez relacionado à hipersecreção crônica de GH. Essa suspeita foi confirmada quando os níveis de glicose no sangue de Sam, coletado antes do café da manhã, foram de 236 mg/dL.

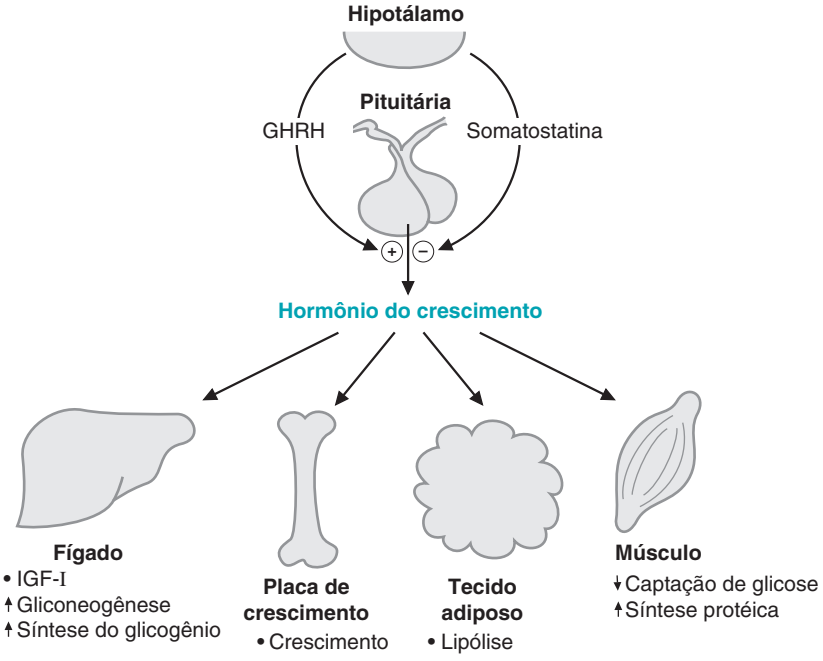


Figura 43.4 Efeitos anabólicos do hormônio do crescimento sobre vários tecidos.

Como resultado dos efeitos metabólicos do GH, o curso clínico da acromegalia pode ser complicado pela diminuição da tolerância à glicose ou mesmo pelo diabetes melito já estabelecido, como ocorreu com **Sam Atotrope.**

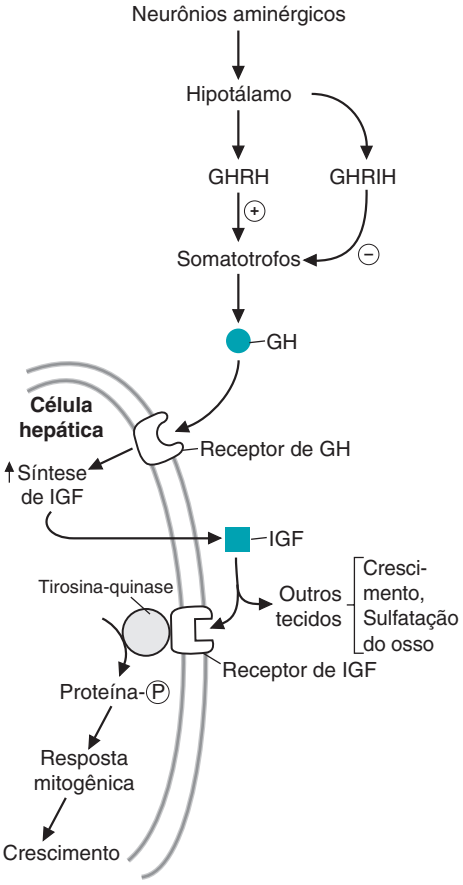


Figura 43.5 Produção e ação de IGF. O hipotálamo produz o hormônio liberador do hormônio do crescimento (GHRH), o qual estimula os somatotrofos na pituitária anterior a liberar o hormônio do crescimento (GH). O hormônio inibidor da liberação do hormônio do crescimento (GHRIH) inibe a liberação de GH. O GH liga-se aos receptores da superfície celular e estimula a produção e a liberação de IGF pelo fígado e outros tecidos. O IGF liga-se aos receptores da superfície celular e estimula a fosforilação de proteínas que causam mitose e crescimento.

Altos níveis de IGF-I circulante têm sido associados ao desenvolvimento de câncer de mama, próstata, cólon e pulmão. Adicionalmente, a modulação experimental na atividade do receptor de IGF-I pode alterar o crescimento de diferentes tipos de células tumorais. Pesquisas em andamento buscam estudar a interação do IGF-I com seu receptor para reduzir a proliferação das células tumorais.

lidade de ácidos graxos que serão oxidados para a produção de energia. Esse e outros efeitos do GH economizam glicose e proteínas; assim, o GH, indiretamente, diminui a oxidação de glicose e aminoácidos (Figura 43.4).

4. EFEITOS DO HORMÔNIO DO CRESCIMENTO SOBRE O TECIDO ADIPOSO

O hormônio do crescimento aumenta a sensibilidade do adipócito à ação lipolítica das catecolaminas e diminui sua sensibilidade à ação lipogênica da insulina. Essas ações levam à liberação de ácidos graxos e glicerol para o sangue, os quais serão metabolizados no fígado. O GH também diminui a esterificação de ácidos graxos e, assim, reduz a síntese de triacilgliceróis na célula adiposa. Recentes evidências sugerem que o GH pode prejudicar a captação de glicose tanto nas células adiposas quanto nas musculares por uma inibição em nível pós-receptor da ação da insulina**.**

5. EFEITOS DO HORMÔNIO DA INSULINA SOBRE O MÚSCULO

O efeito lipolítico do GH aumenta os níveis de ácidos graxos no sangue que banha os músculos. Esses ácidos graxos são preferencialmente usados como substrato energético e, indiretamente, suprimem a captação de glicose pelas células musculares, o que diminui proporcionalmente a velocidade da glicólise.

O GH aumenta o transporte de aminoácidos nas células musculares, fornecendo substratos para a síntese protéica. Por um outro mecanismo, o GH aumenta a síntese de DNA e RNA. O efeito positivo no balanço nitrogenado é reforçado pelo efeito desse hormônio em poupar proteínas, uma vez que induz a lipólise e, assim, disponibiliza ácidos graxos para o músculo como uma fonte alternativa de substratos energéticos.

6. EFEITOS DO HORMÔNIO DO CRESCIMENTO SOBRE O FÍGADO

Quando os níveis plasmáticos de insulina estão baixos, como no estado de jejum, o GH aumenta a oxidação de ácidos graxos e conseqüentemente forma acetil-CoA. Esse efeito, em conjunto com o aumento do fluxo de ácidos graxos vindos do tecido adiposo, aumenta a cetogênese. O aumento da quantidade de glicerol que chega no fígado, como conseqüência da estimulação da lipólise, servirá como substrato para a gliconeogênese.

A síntese hepática do glicogênio também é estimulada pelo GH, em parte devido ao aumento da gliconeogênese hepática. Finalmente, o GH inibe a glicólise, agindo em diversas etapas dessa via metabólica.

O maior efeito do GH no fígado é estimular a produção e a liberação de IGF. Os IGF são conhecidos como somatomedinas. Em seres humanos, as duas somatomedinas têm homologias estruturais com a pró-insulina, e ambas têm substancial atividade de fator de crescimento tipo-insulina; por isso as designações fator de crescimento tipo-insulina I (IGF-I humano, ou somatomedina C) e fator de crescimento tipo-insulina II (IGF-II humano, ou somatomedina A). O IGF-I é um peptídeo básico de cadeia única com 70 aminoácidos, e o IGF-II é levemente ácido com 67 aminoácidos. Esses dois peptídeos são idênticos à insulina em metade de seus resíduos. Além disso, eles contêm um domínio estrutural que é homólogo ao peptídeo C da pró-insulina.

Vários tipos de células normais respondem a altas doses de insulina aumentando a captação de timidina e iniciando a proliferação celular. Na maioria das vezes, o IGF-I causa a mesma resposta da insulina nessas células, mas com concentrações significativamente menores, mais fisiológicas. Portanto, os IGF são mais potentes do que a insulina em promover o crescimento.

Evidências sugerem que os IGF exercem seus efeitos tanto por meio de mecanismos endócrinos quanto parácrinos/autócrinos. O IGF-I parece estimular o crescimento e a proliferação celular mediante sua ligação a receptores específicos para IGF-I localizados na membrana plasmática das células-alvo, em vez de ligar-se aos receptores do GH (Figura 43.5).

Assim como a insulina, a porção intracelular do receptor de IGF-I na membrana plasmática (mas não de IGF-II) tem atividade intrínseca de tirosina-quinase. O fato de os receptores para a insulina e de outros fatores de crescimento apresentarem atividade

intrínseca de tirosina-quinase indica que a fosforilação da tirosina inicia o processo de replicação e crescimento celulares. Subseqüentemente, uma cadeia de quinases é ativada, incluindo vários produtos de proto-oncogenes (ver Capítulos 11 e 18).

A maioria das células do corpo contém mRNA para o IGF, mas o fígado tem a maior concentração desses mensageiros, seguido pelo rim e pelo coração. A síntese do IGF-I é regulada principalmente pelo GH, enquanto a produção hepática do IGF-II é independente dos níveis sangüíneos de GH.

C. Catecolaminas (Adrenalina, Noradrenalina e Dopamina)

As catecolaminas pertencem à família das bioaminas e são produtos secretórios do sistema simpático-adrenal. Elas são requeridas para a adaptação do corpo a uma grande variedade de estresses agudos e crônicos. A adrenalina (80 a 85% das catecolaminas armazenadas) é sintetizada primariamente nas células da medula adrenal, enquanto a noradrenalina (15 a 20% das catecolaminas armazenadas) é sintetizada e armazenada não somente na medula adrenal, mas também em várias regiões do SNC e nos terminais nervosos do sistema nervoso adrenérgico. A dopamina, uma outra catecolamina, age primariamente como um neurotransmissor e tem pouco efeito sobre o metabolismo energético.

A primeira síntese química completa da adrenalina foi realizada por F. Stolz e colaboradores em 1904. Em 1950, Earl Sutherland demonstrou pela primeira vez que a adrenalina (e o glucagon) induz a glicogenólise. Esse fato marcou o início do entendimento sobre os mecanismos moleculares por meio dos quais os hormônios agem.



Em pacientes com suspeita de neoplasma da medula adrenal, que secreta uma quantidade excessiva de adrenalina ou noradrenalina (um feocromocitoma), tanto as próprias catecolaminas (adrenalina, noradrenalina e dopamina) quanto os seus metabólitos (metanefrinas e ácido vanililmandélico, VMA) podem ser medidos na urina coletada em 24 horas, ou os níveis de catecolaminas podem ser medidos no sangue. Um paciente que apresenta níveis consistentemente elevados dessas substâncias no sangue ou na urina poderia apresentar um feocromocitoma, particularmente se apresentar sinais e sintomas característicos de excesso de catecolaminas, como sudorese, palpitações, tremores e hipertensão.

1. SÍNTESE DAS CATECOLAMINAS

A tirosina é o precursor das catecolaminas. A via para a biossíntese dessas moléculas está descrita no Capítulo 48.

2. SECREÇÃO DAS CATECOLAMINAS

A secreção de adrenalina e noradrenalina pela medula adrenal é estimulada por uma variedade de fatores estressantes, incluindo dor, hemorragia, exercícios, hipoglicemia e hipoxia. A liberação das catecolaminas é mediada pela transmissão, induzida pelo estresse, do impulso nervoso originado a partir do núcleo adrenérgico no hipotálamo. Esses impulsos estimulam a liberação do neurotransmissor acetilcolina dos neurônios pré-ganglionares que inervam as células adrenomedulares. A acetilcolina despolariza a membrana plasmática dessas células, permitindo a rápida entrada de cálcio (Ca^{2+}) para o citosol. O Ca^{2+} estimula a síntese e a liberação, por exocitose, de adrenalina e noradrenalina dos grânulos cromafins para o espaço extracelular.

3. EFEITOS FISIOLÓGICOS DA ADRENALINA E DA NORADRENALINA

As catecolaminas ligam-se a dois tipos de receptores na membrana plasmática das células-alvo, os receptores α-adrenérgicos e os β-adrenérgicos (ver Capítulo 26, Seção IV.C).

As ações da adrenalina e da noradrenalina no fígado e nas células adiposas e musculares esqueléticas, bem como nas células α e β pancreáticas, influenciam diretamente o metabolismo energético (Figura 43.6). Essas catecolaminas são hormônios contra-regulatórios, apresentando efeitos metabólicos diretamente sobre a mobilização de substratos energéticos de seus locais de armazenamento para a oxidação nas células, para satisfazer o aumento da demanda energética decorrente de estresse agudo e crônico. Elas, ao mesmo tempo, suprimem a secreção de insulina e, assim, asseguram que o fluxo de substratos energéticos continue na direção da utilização desses substratos e não na direção do seu armazenamento, enquanto o estímulo estressante persistir.

Além disso, a noradrenalina age como um neurotransmissor e afeta o sistema nervoso simpático no coração, nos pulmões, nos vasos sangüíneos, na bexiga, no intestino e em outros órgãos. Esses efeitos das catecolaminas sobre o coração e os vasos sangüíneos servem para aumentar o débito cardíaco e a pressão sangüínea, mudanças

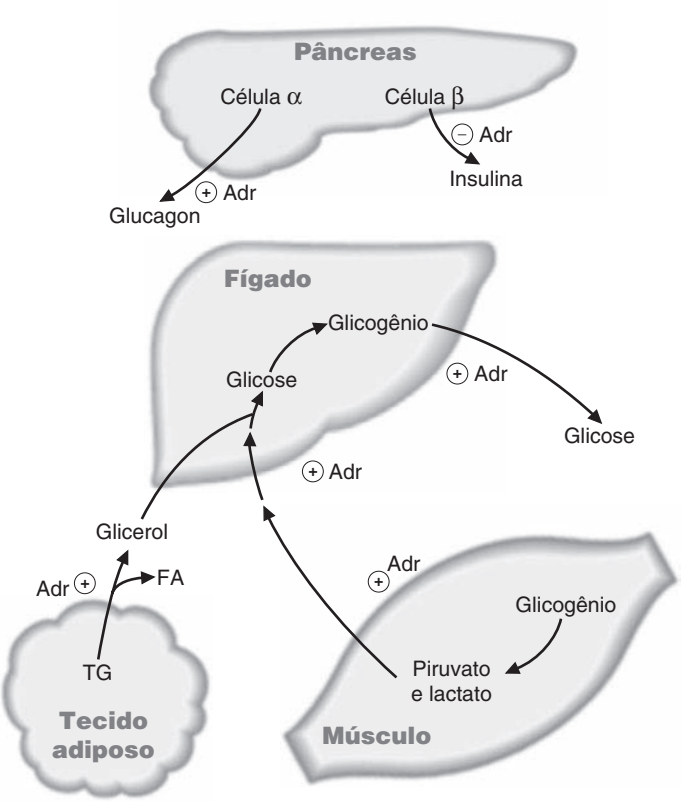


Figura 43.6 Efeitos da adrenalina sobre o metabolismo energético e a função pancreática endócrina. A adrenalina (Adr) estimula a quebra do glicogênio no músculo e no fígado, a gliconeogênese, no fígado, e a lipólise no tecido adiposo. A adrenalina reforça ainda mais esses efeitos, pois aumenta a secreção de glucagon, um hormônio com muitos dos mesmos efeitos da adrenalina. A Adr também inibe a liberação da insulina, mas estimula a liberação do glucagon pelo pâncreas.

Q: Uma forma relativamente rara de hipertensão secundária (pressão arterial alta) é causada por um neoplasma secretor de catecolaminas da medula adrenal, conhecido como feocromocitoma. Os pacientes com o tumor periodicamente secretam uma grande quantidade de adrenalina e noradrenalina na corrente sangüínea. Os sintomas relacionados a essa secreção incluem um aumento repentino e muitas vezes grave na pressão arterial, palpitações cardíacas, dor de cabeça pulsátil e sudorese inadequada e difusa. Além disso, a hipersecreção dessas catecolaminas pode levar à diminuição da tolerância à glicose ou mesmo o diabetes melito já estabelecido. Descreva as ações desses hormônios que levam ao aumento significativo nos níveis de glicose.

hemodinâmicas que facilitam a entrega de substratos energéticos do sangue para os tecidos metabolicamente ativos.

A adrenalina tem uma meia-vida sangüínea curta e, para ser farmacologicamente efetiva, deve ser administrada por via parenteral. Ela pode ser usada clinicamente para auxiliar os batimentos cardíacos, dilatar os músculos de brônquios inflamados e mesmo para diminuir o sangramento de órgãos durante a cirurgia.

4. METABOLISMO E INATIVAÇÃO DAS CATECOLAMINAS

As catecolaminas têm uma afinidade relativamente baixa pelos receptores α e β. Após a ligação, as catecolaminas dissociam-se dos seus receptores rapidamente, causando uma resposta biológica de duração rápida. O hormônio livre é degradado de várias formas, como resumido no Capítulo 48.

D. Glicocorticóides

1. BIOQUÍMICA

O cortisol (hidrocortisona) é o principal glicocorticóide (GC) fisiológico em seres humanos, embora a corticosterona também tenha alguma atividade glicocorticóide. A biossíntese dos hormônios esteróides e seus mecanismos básicos de ação foram descritos nos Capítulos 34 e 17.

Os glicocorticóides, como o cortisol, foram assim denominados por sua habilidade em aumentar os níveis sangüíneos de glicose. Esses esteróides estão entre os hormônios "contra-regulatórios" que protegem o corpo da hipoglicemia induzida pela insulina.

2. SECREÇÃO DOS GLICOCORTICÓIDES

A síntese e a secreção do cortisol são controladas por uma cascata de sinais neurais e endócrinos ligados em série no eixo cerebrocortical-hipotalâmico-hipofisário-adrenocortical. Os sinais cerebrocorticais para o mesencéfalo são iniciados no córtex cerebral por fatores estressantes, como dor, hipoglicemia, hemorragia e exercício (Figura 43.7). Esses estressores não-específicos aumentam a produção de monoaminas no corpo celular de neurônios do mesencéfalo. A síntese e a liberação do hormônio liberador de corticotropina (CRH, do inglês *corticotropin-releasing hormone*) são estimuladas por acetilcolina e serotonina. Esses neurotransmissores induzem a produção de CRH pelos neurônios originados no núcleo paraventricular. Esses neurônios descarregam CRH no sangue portal hipotalâmico-hipofisário. O CRH é entregue por meio desses vasos portais a receptores específicos na membrana celular das células secretoras do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH, do inglês *adrenocorticotropic hormone*) da pituitária anterior (corticotrofos). Essa interação hormônio-receptor causa a liberação de ACTH para a circulação geral para, finalmente, interagir com receptores específicos para ACTH nas membranas plasmáticas das células da zona fasciculada e reticulosa do córtex adrenal. A principal influência trófica na síntese do cortisol é no nível da conversão de colesterol em pregnenolona, da qual os hormônios esteróides adrenais são derivados (ver Capítulo 34 para a biossíntese de hormônios esteróides).

O cortisol é secretado pelo córtex adrenal em resposta ao ACTH. A concentração do cortisol livre (não-ligado) que banha as células produtoras de CRH no hipotálamo e as células produtoras de ACTH na pituitária anterior age como um sinal de *feedback* (retroalimentação) negativo, tendo, portanto, uma influência regulatória sobre a liberação de CRH e ACTH (ver Figura 43.7). Altas concentrações de cortisol no sangue inibem a secreção de CRH e ACTH, enquanto baixos níveis têm efeito contrário. Entretanto, em situações estressantes graves, o sinal de *feedback* negativo sobre a secreção de ACTH exercido pelos altos níveis de cortisol no sangue é superado pela atividade induzida pelo estresse nas porções mais altas do eixo (ver Figura 43.7).

Os efeitos dos glicocorticóides sobre o metabolismo energético no fígado, no músculo esquelético e no tecido adiposo estão resumidos na Tabela 43.1 e na Figura 43.8. Os glicocorticóides têm efeitos diversos sobre outros tecidos e, em muitos casos, essenciais para a vida. Algumas das ações não-metabólicas dos GC estão listadas na Tabela 43.3.

3. EFEITOS DOS GLICOCORTICÓIDES

Os glicocorticóides têm diversas ações que afetam a maioria dos tecidos do corpo. À primeira vista, alguns desses efeitos podem parecer contraditórios (como a inibição da captação de glicose por certos tecidos), mas em conjunto eles promovem a sobrevida em tempos de estresse.



Quando Otto foi escrever sua lista de diagnósticos diferenciais para explicar a apresentação clínica de **Corti Solemia**, ele inesperadamente pensou em uma doença endócrina relativamente rara que poderia explicar todos os sinais e sintomas observados. Ele fez um diagnóstico provisório de secreção excessiva de cortisol secundária ao excesso de secreção de ACTH ("doença" de Cushing) ou por um aumento primário da produção de cortisol por tumor adrenocortical (síndrome de Cushing).

Otto sugeriu que os níveis plasmáticos de cortisol e ACTH deveriam ser medidos às 8 horas da manhã seguinte, em repouso e em jejum. Esses estudos mostraram que os níveis de ACTH e de cortisol no sangue do Sr. **Solemia** medidos pela manhã foram ambos significativamente acima do limite de referência. Portanto, Otto concluiu que o Sr. **Solemia** provavelmente tem um tumor que estava autonomamente produzindo ACTH (isto é, não-sujeito à inibição por *feedback* normal pelo cortisol). Os altos níveis plasmáticos de ACTH estimularam o córtex adrenal a produzir uma quantidade excessiva de cortisol. Exames adicionais de laboratório e de imagem indicaram que a hipercortisolemia havia sido causada por um adenoma benigno secretor de ACTH da pituitária anterior ("doença" de Cushing).

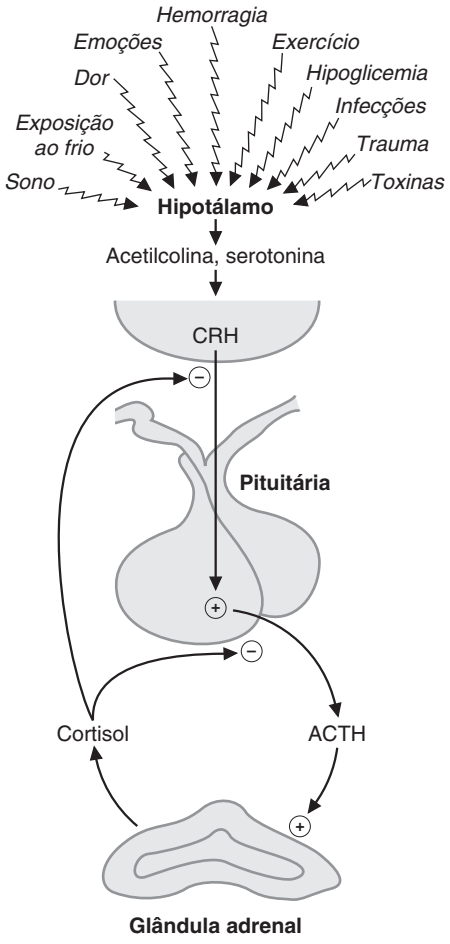


Figura 43.7 Regulação da secreção do cortisol. Vários fatores agem sobre o hipotálamo para estimular a liberação do hormônio liberador de corticotrofina (CRH). O CRH estimula a liberação do ACTH da pituitária anterior, que estimula a liberação do cortisol do córtex adrenal. O cortisol inibe a liberação do CRH e do ACTH.

R: As catecolaminas são hormônios contra-regulatórios que mobilizam substratos energéticos de seus locais de armazenamento para a oxidação nas células-alvo para satisfazer o aumento no requerimento de energia que ocorre durante o estresse agudo ou crônico, ou, nesse caso, a liberação de catecolaminas por um tumor na medula adrenal. Essas ações suprem o fígado, por exemplo, com níveis aumentados de substrato necessários para a gliconeogênese. Embora em indivíduos normais a maioria da glicose formada por meio desse mecanismo seja oxidada, os níveis sangüíneos de glicose aumentam no processo. Além disso, as catecolaminas suprimem a secreção de insulina para assegurar que os substratos energéticos continuarão a fluir na direção de sua utilização em vez de sua armazenagem sob essas circunstâncias. Por isso, os níveis sangüíneos de glicose podem aumentar em pacientes com feocromocitoma.

Tabela 43.3 Algumas Ações Fisiológicas Não-Metabólicas dos Glicocorticóides

Sobre o balanço hidreletrolítico:
- Aumento de sódio e retenção de água (1/3.000 da potência de aldosterona)
- Aumento na taxa da filtração glomerular renal para manter a taxa de excreção de água
- Supressão na liberação da arginina-vasopressina (ADH) da pituitária posterior (?)

Sobre o sistema cardiovascular:
- Efeito indireto das ações dos glicocorticóides sobre o metabolismo de sódio e água (acima)
- Manutenção do volume da microcirculação para os tecidos (débito cardíaco)
- Manutenção da resposta vasomotora normal para os agentes vasoconstritores

Sobre o músculo esquelético:
- Manutenção da função muscular, suprindo a microcirculação normal para o músculo
- Influência na massa muscular, aumentando o catabolismo protéico e inibindo a síntese protéica

Sobre o sistema nervoso central:
- Indireto
  - Manutenção da microcirculação cerebral normal
- Direto
  - Influência no humor e no comportamento
  - Influência na sensibilidade de percepções especiais a estímulos
  - Supressão da secreção de CRH, ACTH e ADH

Sobre os elementos formados no sangue:
- Aumento da massa das células vermelhas sangüíneas e da proliferação de granulócitos
- Diminuição da proliferação de linfócitos, monócitos e basófilos

Ações antiinflamatórias:
- Inibição do processo inflamatório inicial (isto é, edema, deposição de fibrina, dilatação capilar, migração leucocitária e ação fagocítica)
- Inibição do processo inflamatório tardio (proliferação de capilares e fibroblastos, deposição de colágeno e, mais tardiamente, cicatrização)

Ações supressoras imunes (de significado questionável em níveis fisiológicos):
- Prevenção das manifestações de imunidade humoral e celular
- Interferência na produção de citocinas necessárias para a competência imunológica via comunicação célula-célula

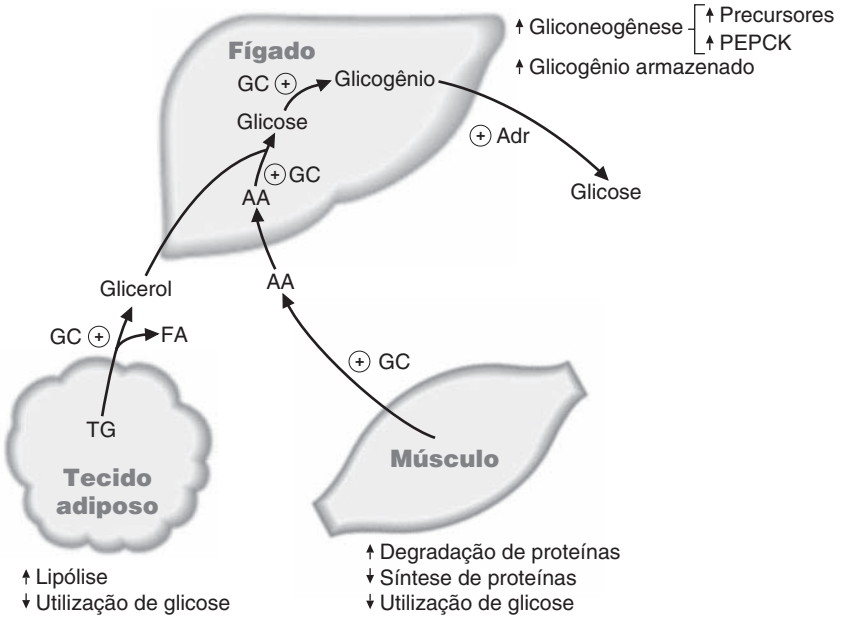


Figura 43.8 Efeitos dos glicocorticóides (GCs) sobre o metabolismo energético. Os glicocorticóides estimulam a lipólise no tecido adiposo e a liberação de aminoácidos das proteínas musculares. No fígado, os glicocorticóides estimulam a gliconeogênese e a síntese de glicogênio. A degradação do glicogênio hepático é estimulada pela adrenalina.

Em muitos tecidos, os GCs inibem a síntese de DNA, RNA e proteínas e estimulam a degradação dessas macromoléculas. Em resposta ao estresse crônico, os GC agem disponibilizando substratos energéticos, de maneira que, quando o alarme agudo soa e a adrenalina é liberada, o organismo pode lutar ou fugir. Quando os GC estão elevados, a captação de glicose pelas células de muitos tecidos é inibida, a lipólise ocorre em tecido adiposo periférico, e a proteólise ocorre na pele, nas células linfóides e nos músculos. Os ácidos graxos liberados são oxidados pelo fígado para produzir energia, o glicerol e os aminoácidos servem como substrato para a gliconeogênese hepática, e a glicose produzida é convertida em glicogênio que será armazenado. O sinal de alarme da adrenalina estimula a glicogenólise hepática, disponibilizando glicose como substrato energético para combater o estresse agudo.

Os mecanismos pelos quais os GC exercem seus efeitos envolvem a ligação dos esteróides a receptores intracelulares, a interação do complexo esteróide-receptor com elementos de resposta a GC no DNA, a transcrição de genes e a síntese de proteínas específicas (ver Capítulo 16, Seção III.C.2). Em alguns casos, as proteínas específicas responsáveis pelos efeitos dos GC são conhecidas (p. ex., a indução de fosfoenolpiruvato-carboxiquinase que estimula a gliconeogênese). Em outros casos, as proteínas responsáveis pelos efeitos dos GC ainda não foram identificadas.

A. Hormônio da Tireóide

1. BIOQUÍMICA

Os produtos secretórios das células acinares da tireóide são a tetraiodotironina (tiroxina, T_4) e a triiodotironina (T_3). Suas estruturas são mostradas na Figura 43.9. Os passos básicos na síntese de T_3 e T_4 nessas células envolvem o transporte ou o seqüestro de iodeto do sangue para a célula acinar da tireóide contra um gradiente eletroquímico; a oxidação do iodeto para formar espécies iodadas; a iodação dos resíduos tirosil na proteína, a tireoglobulina, para formar iodotirosinas, e o acoplamento dos resíduos de monoiodotirosina e diiodotirosina na tireoglobulina para formar resíduos de T_3 e T_4 (Figura 43.10). A clivagem proteolítica da tireoglobulina libera T_3 e T_4 livres. Os passos na síntese dos hormônios tireoidianos são estimulados pelo hormônio estimulante da tireóide (TSH, do inglês *thyroid-stimulating hormone*), uma glicoproteína produzida pela pituitária anterior.

O transporte do iodeto do sangue para as células acinares da tireóide é realizado por meio de um mecanismo de seqüestro de iodeto dependente de energia. Embora ainda não esteja totalmente esclarecido, acredita-se que esse mecanismo envolva o acoplamento da Na^+,K^+-ATPase ao co-transporte de Na^+ e iodeto na membrana plasmática das células acinares.

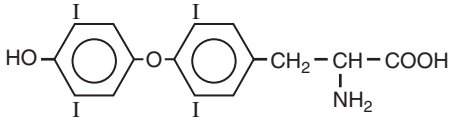
A deposição "central" de gorduras em pacientes como **Corti Solemia**, com "doença" ou síndrome de Cushing, não é prontamente explicada, pois, na verdade, os GC causam lipólise no tecido adiposo. O aumento no apetite causado pelo excesso de GC e os efeitos lipogênicos da hiperinsulinemia que acompanham o aumento crônico nos níveis sangüíneos de glicose induzido por GC têm sido sugeridos como possíveis causas. O porquê de as gorduras serem depositadas centralmente sob essas circunstâncias, entretanto, não é entendido. Essa deposição central leva ao desenvolvimento de uma grande almofada de gordura no centro do dorso superior ("corcunda de búfalo"), ao acúmulo de gordura na bochecha e abaixo do queixo ("face de lua") e na área do pescoço, bem como um importante aumento na gordura abdominal. Simultaneamente, existe uma perda de tecidos adiposo e muscular abaixo dos cotovelos e joelhos, agravando a aparência de "obesidade central" na "doença" ou síndrome de Cushing.

Aproximadamente 35% do T_4 são desiodados na posição 5´ para formar T_3, e 43% são desiodados na posição 5 para formar o T_3 "reverso" inativo. A desiodação adicional ou a desaminação oxidativa leva à formação de compostos que não têm atividade biológica.

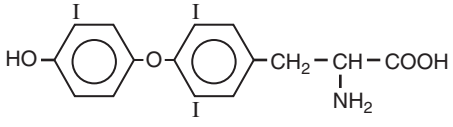
Otto já era capaz de explicar os mecanismos da maioria dos sinais e sintomas de **Corti Solemia**. Por exemplo, Otto sabia as explicações metabólicas para a hiperglicemia do paciente. A perda muscular e a fraqueza apresentadas pelo Sr. **Solemia** eram parcialmente causadas pelo efeito catabólico da hipercortisolemia sobre as proteínas, como aquelas do músculo esquelético, para fornecer aminoácidos como precursores da gliconeogênese. Essa ação catabólica também resultou na degradação de elastina, a principal proteína de sustentação da pele, bem como em um aumento na fragilidade das paredes dos capilares dos tecidos cutâneos. Essas mudanças resultaram em fragilidade e flacidez do tecido subcutâneo do baixo abdômen, a qual resultou em riscas ou estrias vermelhas. A pletora (aumento do aporte sangüíneo causando inturgescência vascular) da pele da face do Sr. Solemia também foi causada em parte pelo afinamento da pele, bem como pelo aumento induzido pelo cortisol da produção de células vermelhas do sangue pela medula óssea, o qual aumentou a "vermelhidão" dos tecidos subcutâneos.

Q: Se o problema de **Corti Solemia** fosse causado por um neoplasma do córtex adrenal, como estariam seus níveis sangüíneos de ACTH e cortisol?

Normalmente, a glândula tireóide secreta 80 a 100 μg de T_4 e aproximadamente 5 μg de T_3 por dia. O adicional de 22 a 25 μg de T_3 "produzido" diariamente é resultado da desiodação do carbono 5, do T_4 em tecidos periféricos. Acredita-se que o T_3 seja a forma biologicamente ativa predominante do hormônio da tireóide no corpo.



3,5,3´,5´ - Tetraiodotironina (T_4)



3,5,3´-Triiodotironina (T_3)

Figura 43.9 Hormônios da tireóide, T_3 e T_4.

R: Se o problema de **Corti Solemia** resultasse da hipersecreção primária do cortisol pelo neoplasma da glândula do córtex adrenal, seus níveis de cortisol teriam sido elevados. O cortisol teria agido sobre as células do hipotálamo produtoras de CRH e as células da pituitária anterior secretoras de ACTH por um mecanismo de *feedback* negativo para diminuir os níveis de ACTH no sangue.

Devido ao fato de os níveis de cortisol e ACTH estarem altos, era mais provável que o tumor do Sr. **Solemia** fosse na glândula pituitária ou possivelmente em tecido neoplásico extrapituitário que secreta ACTH "ectopicamente". (Ectópico significa que o tumor ou neoplasma produz e secreta uma substância que não é originalmente produzida ou secretada pelo tecido do qual o tumor se desenvolveu.) O tumor do Sr. **Solemia** era da glândula pituitária e não de um local extrapituitário produtor de ACTH.

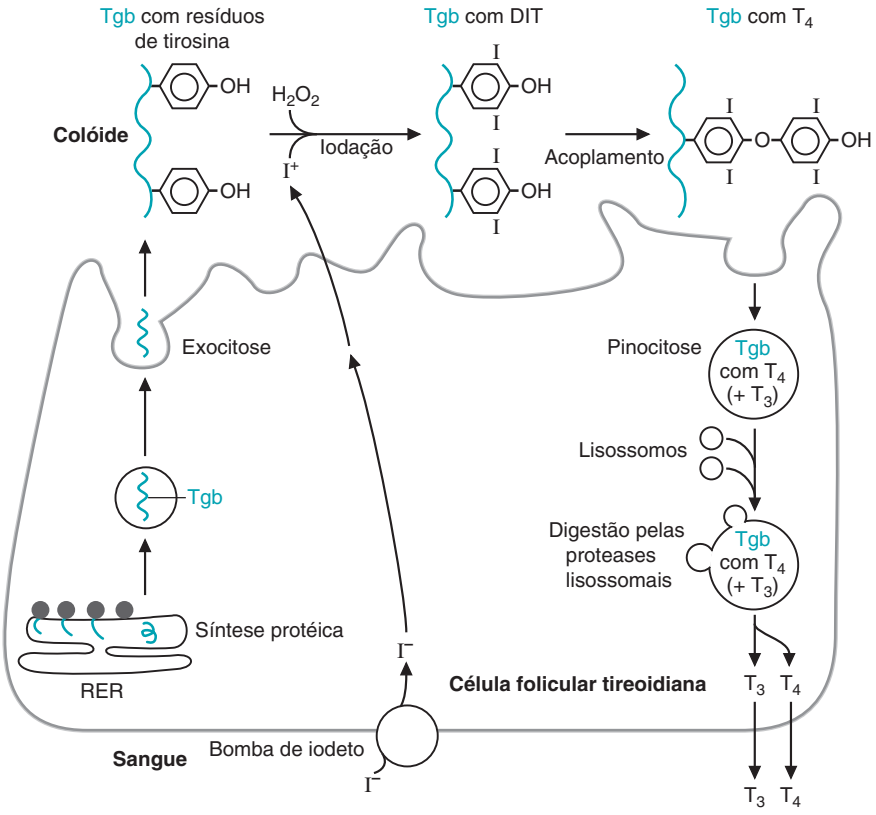


Figura 43.10 Síntese dos hormônios da tireóide (T_3 e T_4). A proteína tireoglobulina (Tgb) é sintetizada nas células foliculares da tireóide e secretada para dentro do colóide. A iodação e o acoplamento de resíduos de tirosina na Tgb produz resíduos de T_3 e T_4, os quais são liberados da Tgb por pinocitose (endocitose) e ação lisossomal. O acoplamento de uma monoiodotirosina com uma diiodotirosina (DIT) para formar triiodotironina (T_3) não está representado na figura.

O processo de concentração ou seqüestro de iodeto presente na membrana plasmática das células acinares gera níveis de iodeto dentro das células tireoidianas que são várias centenas de vezes maiores do que no sangue, dependendo da quantidade momentânea total de iodeto corporal e da necessidade presente para a síntese de novos hormônios.

Em regiões do mundo nas quais o solo é deficiente de iodeto, o hipotireoidismo é prevalente. A glândula tireóide aumenta (forma um bócio) na tentativa de produzir mais hormônio da tireóide. Nos Estados Unidos, o sal de cozinha (NaCl) enriquecido com iodeto (sal iodado) é usado para prevenir o hipotireoidismo causado pela deficiência de iodo.

A glândula da tireóide é única na capacidade de armazenar, dentro de seu espaço coloidal, uma grande quantidade de hormônio como resíduos de aminoácidos na tireoglobulina. Esse armazenamento responde pela baixa velocidade do *turnover* de T_3 e T_4 do corpo.

A velocidade do transporte do iodeto é influenciada pelas concentrações absolutas do iodeto nas células da tireóide. Um mecanismo auto-regulatório interno diminui o transporte do iodeto para a célula quando a concentração intracelular de iodeto excede um certo limiar e aumenta o transporte quando o iodeto intracelular fica abaixo desse nível limiar.

A oxidação do iodeto intracelular é catalisada pela tiroperoxidase (localizada na borda apical da célula acinar tireoidiana) em uma reação que pode ser uma oxidação envolvendo dois elétrons para formar I^+ (íon iodo). O íon iodo pode reagir com um resíduo de tirosina na proteína tireoglobulina para formar uma tirosina quinóide e, então, um resíduo de 3^--monoiodotirosina (MIT). Tem sido sugerido que um segundo iodeto é adicionado ao anel por mecanismos similares para formar um resíduo de 3,5-diiodotirosina (DIT). Como o iodeto é adicionado a esses compostos orgânicos, a iodação também é chamada de "organificação do iodeto".

A biossíntese dos hormônios da tireóide procede com o acoplamento de um resíduo de MIT com um resíduo de DIT para formar triiodotironina (T_3) ou dois resíduos de DIT para formar um resíduo de tetraiodotironina (T_4). T_3 e T_4 são armazenados no folículo tireoidiano como resíduos de aminoácidos da tireoglobulina. Na maioria das vezes, a relação T_4/T_3 na tireoglobulina é de aproximadamente 13:1.

A meia-vida plasmática do T_4 é de cerca de 7 dias, e a do T_3 é de 1 a 1,5 dia. Essas meias-vidas plasmáticas relativamente longas resultam da ligação do T_3 e T_4 às diversas proteínas transportadoras no sangue. Dessas proteínas transportadoras, a globulina ligadora de tiroxina (TBG, do inglês *thyroxine-binding globulin*) tem a mais alta afini-

dade por esses hormônios e transporta aproximadamente 70% do T_3 e T_4 ligados. Somente 0,03% do total de T_4 e 0,3% do total de T_3 no sangue são transportados na forma não-ligada. Essa fração livre do hormônio tem atividade biológica, pois ela é a única forma capaz de atravessar as membranas das células-alvo para interagir com receptores intracelulares. As proteínas transportadoras, portanto, servem como um grande reservatório de hormônio que pode liberar adicionalmente hormônio livre em caso de necessidade metabólica.

Os hormônios da tireóide são degradados no fígado, no rim, no músculo e em outros tecidos pela desiodação, a qual produz compostos sem atividade biológica.

2. SECREÇÃO DO HORMÔNIO DA TIREÓIDE

A liberação de T_3 e T_4 da tireoglobulina é controlada pelo TSH da pituitária anterior. O TSH estimula a endocitose da tireoglobulina para formar vesículas endocíticas nas células acinares tireoidianas (ver Figura 43.10). Os lisossomos se fundem com essas vesículas, e as proteases lisossomais hidrolisam a tireoglobulina, liberando T_4 e T_3 livres para o sangue na relação de 10:1. Em vários tecidos, o T_4 é desiodado formando T_3, o qual é a forma ativa do hormônio.

O TSH é sintetizado nas células tireotrópicas da pituitária anterior. Sua secreção é principalmente regulada pelo balanço entre a ação estimulatória do hormônio liberador de tireotrofina (TRH, do inglês *thyrotropin-releasing hormone*) do hipotálamo e a influência inibitória (*feedback* negativo) do hormônio tireoidiano (principalmente T_3) em níveis acima do limiar crítico no sangue que banha os tireotrofos hipofisários. A secreção do TSH ocorre em um padrão circadiano, com a oscilação começando no final da tarde e atingindo um pico antes do início do sono. Além disso, o TSH é secretado de forma pulsátil com intervalos de 2 a 6 horas entre os picos.

O TSH estimula todas as fases da síntese dos hormônios tireoidianos pela glândula tireóide, incluindo o seqüestro de iodeto do plasma, a organificação do iodeto, o acoplamento de monoiodotirosina com diiodotirosina, a endocitose da tireoglobulina e sua proteólise para liberar triiodotironina (T_3) e tetraiodotironina (T_4) (ver Figura 43.10). Além disso, a vascularização da glândula tireóide aumenta à medida que o TSH estimula a hipertrofia e a hiperplasia das células acinares tireoidianas.

O mecanismo de ação predominante do TSH é mediado pela ligação do TSH a seu receptor específico na membrana plasmática da célula acinar tireoidiana, levando ao aumento na concentração citosólica do AMPc. Entretanto, evidências recentes indicam que o TSH também aumenta os níveis celulares de trisfosfato de inositol e de diacilglicerol, causando um aumento de Ca^{2+} citosólico na célula tireoidiana.

A grande proteína tireoglobulina, a qual contém T_3 e T_4 em ligação peptídica, é armazenada extracelularmente no colóide que preenche o espaço central de cada folículo tireoidiano. Todas as reações bioquímicas que levam à liberação e conseqüente secreção de T_3 e T_4, como aquelas que levam à sua formação na tireoglobulina, são TSH-dependentes. O aumento nos níveis séricos de TSH estimula a endocitose da tireoglobulina armazenada na célula acinar tireoidiana. As enzimas lisossomais, então, clivam o T_3 e o T_4 da tireoglobulina. T_3 e T_4 são secretados na corrente sangüínea em resposta ao aumento nos níveis de TSH.

Quando os níveis de T_3 livre no sangue que banha os tireotrofos da glândula pituitária anterior aumentam, o circuito de *feedback* é fechado. A secreção do TSH é inibida até que os níveis de T_3 livre na circulação sistêmica fiquem abaixo de um nível crítico, o qual mais uma vez sinaliza a liberação de TSH. Esse mecanismo de *feedback* assegura um suprimento ininterrupto de T_3 livre biologicamente ativo no sangue (Figura 43.11). Altos níveis de T_3 também inibem a liberação de TRH do hipotálamo.

3. EFEITOS FISIOLÓGICOS DOS HORMÔNIOS DA TIREÓIDE

Somente as ações fisiológicas dos hormônios tireoidianos que influenciam o metabolismo energético são consideradas aqui. É importante enfatizar o termo *fisiológico,* pois os efeitos de concentrações suprafisiológicas do hormônio tireoidiano sobre o metabolismo energético podem não ser uma simples extensão de seus efeitos fisiológicos.

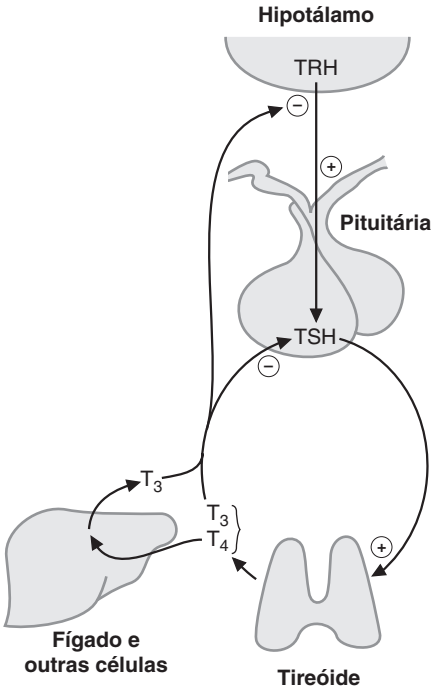


Figura 43.11 Regulação por *feedback* nos níveis dos hormônios tireoidianos. O TRH do hipotálamo estimula a liberação de TSH da pituitária anterior, o qual estimula a liberação de T_3 e T_4 da tireóide. O T_4 é convertido em T_3 no fígado e em outras células. T_3 e T_4 inibem a liberação de TSH da pituitária anterior e de TRH do hipotálamo.

Q: Um paciente apresenta o seguinte perfil clínico e laboratorial: níveis séricos de T_3 e T_4 (livres e totais) e de TSH elevados, mas tem sintomas de hipotireoidismo moderado, incluindo um bócio difuso e palpável. Qual anormalidade individual no eixo células-alvo do hormônio tireoidiano-tireóide-pituitária poderia explicar todos esses achados?

R: Uma resistência generalizada (isto é, envolvendo todas as células-alvo dos hormônios tireoidianos no corpo), mas incompleta, das células às ações dos hormônios tireoidianos poderia explicar o perfil do paciente. Na doença de Refetoff, uma mutação na porção de gene que codifica o domínio de ligação da subunidade β da proteína receptora do hormônio da tireóide causa uma resistência relativa para a ação supressora do hormônio sobre a secreção do TSH pelos tireotrofos da pituitária anterior. Portanto, a glândula libera no sangue mais TSH do que o normal. Os níveis elevados de TSH causam um aumento da glândula da tireóide (bócio), bem como um aumento na secreção do hormônio tireoidiano no sangue. Como resultado, os níveis séricos de T_3 e T_4 aumentam no sangue. O aumento na secreção do hormônio da tireóide pode ou não ser adequado à compensação completa para a resistência relativa dos tecidos periféricos ao hormônio da tireóide. Se o aumento compensatório na secreção do hormônio tireoidiano é inadequado, o paciente pode desenvolver os sinais e sintomas de hipotireoidismo.

Em geral, os comentários seguintes se aplicam aos efeitos dos hormônios da tireóide sobre o metabolismo energético em indivíduos com níveis sangüíneos normais dos hormônios tireoidianos.

i. Efeito do Hormônio da Tireóide Sobre o Fígado

Diversas das ações dos hormônios da tireóide afetam o metabolismo de carboidratos e lipídeos no fígado. O hormônio tireoidiano aumenta a glicólise, a síntese de colesterol e a conversão do colesterol em sais biliares. Por meio do aumento da sensibilidade do hepatócito às ações gliconeogênicas e glicogenolíticas da adrenalina, o T_3 indiretamente aumenta a produção hepática de glicose (ação permissiva ou facilitadora). Devido à sua habilidade em sensibilizar os adipócitos à ação lipolítica da adrenalina, o T_3 aumenta o fluxo de ácidos graxos para o fígado e, portanto, indiretamente aumenta a síntese hepática de triacilgliceróis. Simultaneamente ele aumenta o fluxo de glicerol para o fígado (como resultado do aumento da lipólise) favorecendo o aumento da gliconeogênese hepática.

ii. Efeito do Hormônio da Tireóide Sobre o Adipócito

O T_3 tem uma ação amplificadora ou facilitadora sobre a ação lipolítica da adrenalina na célula adiposa. O hormônio da tireóide ainda tem um efeito bipolar no armazenamento de lipídeos, uma vez que aumenta a disponibilidade de glicose para a célula adiposa que serve como um precursor da síntese de ácidos graxos e de glicerol-3-fosfato. Entretanto, o principal determinante na velocidade da lipogênese não é o T_3, mas a quantidade de glicose e de insulina disponíveis para o adipócito sintetizar triacilgliceróis.

iii. Efeito do Hormônio da Tireóide no Músculo

Em concentrações fisiológicas, o T_3 aumenta a captação de glicose pelas células musculares. Ele também estimula a síntese protéica e, portanto, o crescimento do músculo, por meio de sua ação estimulatória sobre a expressão gênica.

iv. Efeito do Hormônio da Tireóide Sobre o Pâncreas



Quando presente em excesso, o T_3 tem efeitos catabólicos graves que aumentam o fluxo de aminoácidos do músculo para o sangue e finalmente para o fígado.

O hormônio da tireóide aumenta a sensibilidade das células β do pâncreas aos estímulos que normalmente promovem a liberação de insulina e é requerido para a secreção ótima de insulina.

4. EFEITOS CALORIGÊNICOS DO HORMÔNIO DA TIREÓIDE

A oxidação de substratos energéticos converte em ATP cerca de 25% do potencial de energia presente nos alimentos ingeridos pelos seres humanos. Essa relativa ineficiência da maquinaria humana leva à produção de calor como uma conseqüência da utilização de substratos energéticos. Essa ineficiência, em parte, permite aos animais homeotérmicos manterem a temperatura corporal constante apesar de as condições ambientais mudarem rapidamente. A resposta aguda à exposição ao frio é tremer, que provavelmente é secundária ao aumento da atividade do sistema nervoso simpático em resposta a esse estímulo estressante.

O hormônio da tireóide participa na resposta aguda sensibilizando o sistema nervoso simpático ao efeito estimulatório da exposição ao frio. A habilidade do T_3 em aumentar a produção de calor está relacionada aos seus efeitos sobre as vias de oxidação de substratos energéticos, que tanto produzem ATP quanto liberam energia na forma de calor. Os efeitos do T_3 sobre o sistema nervoso simpático aumentam a liberação de noradrenalina. A noradrenalina estimula a proteína desacopladora termogenina no tecido adiposo marrom (BAT, do inglês *brown adipose tissue*), resultando no aumento da produção de calor a partir do desacoplamento da fosforilação oxida-

tiva (ver capítulo 21). Entretanto, pouca gordura marrom residual persiste em seres humanos adultos normais.

A noradrenalina também aumenta a permeabilidade do BAT e do músculo esquelético ao sódio. Como um aumento na concentração intracelular de Na^+ é potencialmente tóxico para as células, a Na^+,K^+-ATPase é estimulada a transportar Na^+ para fora e K^+ para dentro da célula. O aumento na hidrólise do ATP pela Na^+,K^+-ATPase estimula a oxidação de substratos energéticos e a produção de mais ATP e calor pela fosforilação oxidativa. Depois de um longo período, o hormônio da tireóide também aumenta os níveis da Na^+,K^+-ATPase e de muitas enzimas do metabolismo energético. Como, mesmo em temperatura ambiente normal, a utilização de ATP pela Na^+,K^+-ATPase é responsável por 20% ou mais da taxa metabólica basal (TMB), mudanças na atividade dessa enzima podem causar aumentos relativamente grandes na produção de calor.

O hormônio da tireóide também aumenta a produção de calor por estimular a utilização de ATP nos ciclos fúteis (em que o consumo reversível de ATP, nas conversões de substrato em produto e retornado a substrato, usa metabólitos energéticos e, portanto, produz calor).

A. Hormônios Derivados do Trato Gastrintestinal que Afetam o Metabolismo Energético

Além da insulina e dos hormônios contra-regulatórios discutidos, uma variedade de peptídeos, sintetizados nas células endócrinas das ilhotas pancreáticas, nas células do sistema nervoso entérico, nas células endócrinas do estômago, do intestino delgado e do intestino grosso, bem como em certas células do sistema nervoso central e periférico, influencia diretamente o metabolismo energético. Alguns desses peptídeos e seus tecidos de origem, suas ações sobre o metabolismo energético e os fatores que estimulam (ou suprimem) suas secreções estão listados na Tabela 43.4. Além desses peptídeos, outros como a gastrina, a motilina, o polipeptídeo pancreático (PP), o peptídeo YY (PYY) e a secretina também podem influenciar o metabolismo energético, mas pelos efeitos indiretos sobre a síntese ou a secreção de insulina ou de hormônios contra-regulatórios (Tabela 43.5). Por exemplo, a gastrina induz a secreção de ácido gástrico, que acaba afetando a absorção de nutrientes e o metabolismo. A motilina, secretada pelas células M enteroendócrinas do intestino delgado proximal, estimula a secreção de enzimas gástricas e pancreáticas, as quais, por sua vez, influenciam a digestão de nutrientes. O polipeptídeo pancreático (PP) das ilhotas pancreáticas reduz o esvaziamento gástrico e diminui a motilidade da porção alta do intestino. O peptídeo YY (PYY) das células α nas ilhotas pancreáticas maduras inibe a secreção de ácido gástrico. Finalmente, a secretina, produzida pelas células S enteroendócrinas no intestino delgado proximal, regula a secreção de enzimas pancreáticas e inibe a liberação de gastrina e a secreção de ácido gástrico. Embora não influenciem diretamente o metabolismo energético, esses hormônios "intestinais" têm um impacto significativo sobre como os nutrientes ingeridos são digeridos e preparados para a absorção. Se a digestão ou a absorção de substratos energéticos é alterada por um distúrbio na interação delicada entre todos os peptídeos, o metabolismo energético também será alterado.

Diversos desses peptídeos gastrintestinais, como o GLP-I e o GIP, não agem diretamente como secretagogos da insulina quando os níveis de glicose estão normais, mas o fazem após uma refeição que seja o suficiente para aumentar os níveis sangüíneos de glicose.

A liberação desses peptídeos pode explicar por que um modesto aumento pós-prandial na glicose sérica em indivíduos normais tem um efeito estimulatório relativamente forte sobre a liberação de insulina, enquanto uma concentração similar de glicose *in vitro* tem um efeito significativamente menor em aumentar a secreção de insulina. Do mesmo modo, esse efeito (certos fatores potencializando a secreção de insulina), conhecido como "efeito incretina", poderia ser responsável pela maior resposta da célula β observada após uma sobrecarga de glicose oral, ao contrário daquela observada após a administração de glicose intravenosa.



Em pacientes hipotireóideos, a liberação da insulina pode ser subótima, embora a intolerância à glicose nesse caso isolado não seja comum.

No hipertireoidismo, a degradação e o *clearance* (depuração) de insulina estão aumentados. Esses efeitos e mais o aumento na demanda de insulina, causado pelas mudanças no metabolismo de glicose, podem levar a um grau variado de intolerância à glicose nesses pacientes. O paciente com hipertireoidismo não-complicado, entretanto, raramente desenvolve diabetes melito significativo.

Tabela 43.4 Hormônios Gastrintestinais que Afetam Diretamente o Metabolismo Energético

Hormônio	Célula Principal/ Tecido de Origem	Ações	Estímulos Secretórios (e inibidores)
Amilina	Célula β-pancreática, células endócrinas do estômago e do intestino delgado	1. Inibe a secreção do glucagon estimulada por arginina e a pós-prandial 2. Inibe a secreção da insulina	Co-secretada com a insulina em resposta a nutrientes orais
Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP)	Neurônios entéricos e células enteroendócrinas do reto	Inibe a secreção de insulina	Consumo oral de glicose e secreção de ácido gástrico
Galanina	Sistema nervoso, pituitária, neurônios do intestino, pâncreas, tireóide e glândula adrenal	Inibe a secreção de insulina, somatostatina, enteroglucagon, polipeptídeo pancreático e outros	Distensão intestinal
Polipeptídeo inibitório gástrico/polipeptídeo insulinotrópico glicose-dependente (GIP)	Células K neuroendócrinas do duodeno e do jejuno proximal	1. Aumenta a secreção de insulina por meio de um efeito "incretina" 2. Regula o metabolismo da glicose e de lipídeos	Ingestão oral de nutrientes, especialmente de ácidos graxos de cadeia longa
Peptídeo liberador de gastrina (GRP)	Sistema nervoso entérico e pâncreas	Estimula a liberação de colecistocinina; GIP, gastrina, glucagon, GLP-1, GLP-2 e somatostatina	
Grelina	Sistema nervoso central, estômago, intestino delgado e cólon	Estimula a liberação do hormônio do crescimento	Jejum
Glucagon	Célula α-pancreática, sistema nervoso central	Principal hormônio contra-regulatório que restabelece os níveis de glicose no estado hipoglicêmico (aumenta a glicogenólise e a gliconeogênese, bem como o fluxo proteína-lipídeo no fígado e no músculo)	Fatores humorais e neurais liberados em resposta à hipoglicemia
Peptídeo tipo-glucagon 1 (GLP-1)	Células L enteroendócrinas no íleo, no cólon e no sistema nervoso central	1. Aumenta a disponibilidade de glicose após as refeições pela inibição na secreção de glucagon e pelo aumento na secreção de insulina 2. Age por meio de segundos mensageiros nas células β, aumentando a sensibilidade dessas células à glicose (uma incretina)	1. Ingestão oral de nutrientes 2. Nervo vago 3. GRP e GIP 4. Somatostatina inibe a secreção
Peptídeo tipo-glucagon 2 (GLP-2)	Os mesmos do GLP-1	Estimula o transporte intestinal de hexose	Os mesmos do GLP-1
Neuropeptídeo Y	Sistema nervoso central e periférico, células das ilhotas pancreáticas	Inibe a secreção de insulina estimulada pela glicose	Ingestão oral de nutrientes e ativação do sistema nervoso simpático
Neurotensina (NT)	Células N do intestino delgado (especialmente íleo), sistema nervoso entérico, glândula adrenal e pâncreas	No cérebro, modula a neurotransmissão dopaminérgica e as secreções da pituitária anterior	1. Nutrientes lipídicos no lúmen 2. GRP 3. Somatostatina inibe a secreção
Peptídeo ativador da adenilato-ciclase pituitária (PACAP)	Cérebro, pulmão e sistema nervoso entérico	Estimula a liberação de insulina e catecolaminas	Ativação do sistema nervoso central
Somatostatina	Sistema nervoso central, células δ-pancreáticas e enteroendócrinas	1. Inibe a secreção de insulina, glucagon e PP (ilhotas) e gastrina, secretina, GLP-1 e GLP-2 (no intestino) 2. Reduz a absorção de carboidratos do lúmen intestinal	1. Nutrientes no lúmen 2. GLP-1 3. GIP 4. PACAP 5. VIP 6. Estimulação β-adrenérgica
Peptídeo intestinal vasoativo (VIP)	Amplamente expresso no sistema nervoso central e periférico	Pode regular a liberação de insulina e glucagon pancreático	1. Estimulação mecânica intestinal 2. Ativação do sistema nervoso central e periférico

Tabela 43.5 Hormônios Gastrintestinais que Afetam Indiretamente o Metabolismo Energético

Hormônio	Célula Principal/ Tecido de Origem	Ações	Estímulos Secretórios (e inibidores)
Colecistocinina (CCK)	Células L enteroendócrinas, nervos entéricos e outros	1. Inibe a motilidade gástrica proximal 2. Aumenta a contração antral e pilórica 3. Regula a secreção de enzimas nutriente-estimuladas e a contração da vesícula biliar 4. Aumenta a saciedade pós-prandial	1. Ingestão de nutrientes orais 2. GGRP e bombesina do intestino
Gastrina	Células G enteroendócrinas do estômago, bulbo duodenal e outras células	Induz a secreção de ácido gástrico	1. Conteúdos luminais, especialmente aminoácidos aromáticos, cálcio, café e etanol 2. Estimulação do nervo vago; ativação de neurônios β-adrenérgicos e GABAérgicos 3. Somatostatina inibe a secreção 4. Alcalinização duodenal 5. Distensão gástrica 6. Secreção suprimida por nutrientes no duodeno
Motilina	Células M enteroendócrinas da parte superior do intestino delgado e outras células	1. Induz as contrações de fase III no estômago 2. Estimula a secreção gástrica e de enzimas pancreáticas 3. Induz a contração da vesícula biliar	
Polipeptídeo pancreático (PP)	Células endócrinas da periferia das ilhotas da cabeça do pâncreas	1. Reduz a secreção de ácido gástrico mediada pela CCK 2. Aumenta o tempo de trânsito intestinal (diminui a motilidade)	Estimulada pelos nutrientes no lúmen, hipoglicemia e estimulação do nervo vago
Peptídeo YY (PYY)	Células enteroendócrinas, pâncreas em desenvolvimento; células α das ilhotas maduras	1. Inibe a secreção de ácido gástrico e a motilidade gástrica 2. Reduz a motilidade intestinal 3. Inibe a secreção pancreática exócrina	1. Ingestão de nutrientes orais 2. Ácidos biliares e ácidos graxos 3. Aminoácidos no cólon
Secretina	Células S enteroendócrinas da porção superior do intestino delgado	1. Estimula a secreção pancreática e biliar de água e bicarbonato 2. Regula a secreção de enzimas pancreáticas 3. Inibe o esvaziamento gástrico pós-prandial, a liberação de gastrina e a secreção de ácido gástrico	1. Ácido gástrico, sais biliares, ácidos graxos, peptídeos e etanol 2. Somatostatina inibe a secreção
Taquicininas	Neurônios localizados nos plexos submucoso e mioentérico; células enterocromafins no epitélio intestinal	1. Regula as contrações da musculatura lisa intestinal e vasomotora 2. Secreção de muco e absorção de água	Ativação direta e indireta de neurônios nos plexos submucoso e mioentérico no epitélio intestinal
Hormônio liberador de tireotropina (TRH)	Sistema nervoso entérico, cólon, células G do estômago e células β-pancreáticas	1. Suprime a secreção de ácido gástrico hormônio-estimulada 2. Inibe a síntese do colesterol na mucosa intestinal	No estômago, histamina e serotonina estimulam a secreção



Para estabelecer o diagnóstico de um tumor secretório de uma glândula endócrina, precisa-se primeiro demonstrar que os níveis séricos basais do hormônio em questão estão regularmente elevados. De maneira mais importante, precisa-se mostrar que a hipersecreção do hormônio (e, conseqüentemente, seus níveis elevados no sangue periférico) não pode ser inibida de forma adequada pelas "manobras" conhecidas para suprimir a secreção de uma glândula que funciona normalmente (isto é, é necessário mostrar que a hipersecreção é "autônoma").

Para assegurar que os níveis basais e de pós-supressão do hormônio específico a ser testado refletirão a verdadeira velocidade secretória do tumor endócrino suspeito, todos os fatores conhecidos que podem estimular a síntese do hormônio devem ser eliminados. Para o GH, por exemplo, os secretagogos (estimulantes da secreção) incluem os fatores nutricionais; os níveis de atividade, consciência e estresse do paciente, e certos fármacos. A secreção de GH é estimulada por uma refeição rica em proteínas ou por um nível baixo de ácidos graxos ou de glicose no sangue. Exercício vigoroso, estágios III-IV do sono, estresse físico e psicológico e certas substâncias, como levodopa, clonidina e estrógenos, também aumentam a liberação de GH.

O teste de supressão usado para demonstrar a hipersecreção autônoma de GH implica dar ao paciente uma sobrecarga de glicose oral e, subseqüentemente, medir os níveis de GH. O aumento rápido na glicose sangüínea diminui os níveis séricos de GH para 2 ng/mL ou menos em indivíduos normais, mas não em pacientes com acromegalia ativa.

Antes de coletar o sangue para verificar os níveis basais (pré-sobrecarga de glicose) séricos de GH e os níveis de GH pós-sobrecarga de glicose com o intuito de demonstrar a hipersecreção autônoma de GH em pacientes com suspeita de acromegalia, precisa-se ter certeza de que o paciente não ingeriu alimentos nas últimas 6 a 8 horas, não fez exercícios vigorosos nas últimas 4 horas, permaneceu completamente acordado durante todo o teste (e o menos estressado possível) e não consumiu, pelo menos na última semana, nenhum fármaco conhecido por aumentar os níveis de GH.

Sob essas circunstâncias cuidadosamente controladas, se os níveis séricos basais e de pós-supressão do hormônio suspeito estão elevados, pode-se concluir que a hipersecreção autônoma provavelmente está presente. Nesse caso, os procedimentos de localização (como um MRI da glândula pituitária em um suspeito de acromegalia) são realizados para auxiliar na confirmação do diagnóstico.

G. Fatores Neurais que Controlam a Secreção de Insulina e de Hormônios Contra-Regulatórios

Embora além do escopo deste texto, o sistema neuroendócrino gastrintestinal é brevemente descrito com respeito aos seus efeitos no metabolismo energético. As ilhotas pancreáticas são inervadas por ramificações adrenérgicas e colinérgicas do sistema nervoso autônomo. Embora a estimulação do sistema simpático e do parassimpático aumente a secreção de glucagon, a secreção de insulina é aumentada pelas fibras do nervo vago e é inibida pelas fibras simpáticas via adrenorreceptores α. Evidências também sugerem que o sistema nervoso simpático regula indiretamente as funções das células β-pancreáticas por meio da estimulação ou supressão da secreção de somatostatina, do número de receptores β_2-adrenérgicos e dos neuropeptídeos, neuropeptídeo Y e galanina.

A interação rigorosamente controlada entre os fatores neurais e hormonais que controlam o metabolismo de nutrientes é necessária para manter a homeostasia normal de substratos energéticos e, conseqüentemente, da energia.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS



Uma das funções do cortisol é preparar o corpo para lidar com períodos de estresse. Em resposta ao cortisol, o corpo redistribui suas reservas de substratos energéticos de tal modo que possam se tornar rapidamente disponíveis para a resposta de "luta-ou-fuga" ao sinal de alarme disparado pela adrenalina. O cortisol faz com que substratos gliconeogênicos se desloquem de tecidos periféricos para o fígado, onde são convertidos em glicose e armazenados como glicogênio. A liberação de adrenalina estimula a degradação de glicogênio, aumentando o fornecimento de glicose para o sangue. Assim, substratos energéticos se tornam disponíveis para o músculo lutar ou fugir.

A "doença" de Cushing, a causa dos problemas atuais de **Corti Solemia**, resulta de uma hipersecreção prolongada de ACTH a partir de um tumor hipofisário benigno. O ACTH estimula o córtex adrenal a produzir cortisol, e os níveis sangüíneos desse hormônio esteróide se elevam.

Outra causa não-hipofisária de síndrome de Cushing, contudo, inclui um tumor primário do córtex adrenal secretando quantidades excessivas de cortisol diretamente na corrente sangüínea. Esse distúrbio pode também resultar da liberação de ACTH a partir de neoplasia secretora não-endócrina não-hipofisária (síndrome de ACTH "ectópico"). A síndrome de Cushing com freqüência é causada por doses excessivas de GC sintéticos utilizados para tratar uma variedade de distúrbios devido aos seus efeitos antiinflamatórios potentes (síndrome de Cushing iatrogênica).

O potencial diabetogênico de níveis cronicamente elevados de GH no sangue é manifestado pela incidência significativa de diabetes melito (25%) e tolerância diminuída à glicose (33%) em pacientes com acromegalia, como **Sam Atotrope**. Também, sob circunstâncias normais, concentrações fisiológicas de GH (bem como cortisol e hormônio da tireóide) têm um efeito facilitador ou permissivo sobre a quantidade de insulina liberada em resposta à hiperglicemia e a outros secretagogos de insulina. Esse efeito "pró-insular" provavelmente tem a intenção de agir como um "freio" para diminuir qualquer efeito "contra-insular" potencialmente excessivo que os aumentos no GH e outros hormônios contra-regulatórios exercem.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



A maioria dos hormônios está presente nos fluidos corporais em quantidades picomolares e nanomolares, requerendo ensaios altamente sensíveis para determinar suas concentrações em sangue ou urina. Os radioimunoensaios (RIA, do inglês *radioimmunoassays*), desenvolvidos em 1960, usam um anticorpo, produzido em animais, contra um antígeno específico (o hormônio a ser medido). A determinação da concentração do hormônio na amostra implica a incubação da amostra de plasma ou

urina com o anticorpo, e, então, quantificam-se os níveis do complexo antígeno-anticorpo formado durante a incubação por uma das diversas técnicas.

O RIA clássico usa anticorpos com muito alta afinidade, fixado (imobilizado) na superfície interna de um tubo de teste de Teflon ou uma partícula magnetizada. Uma curva-padrão é preparada, usando uma quantidade padronizada do anticorpo e várias concentrações conhecidas do hormônio não-marcado a ser medido. Além de uma concentração conhecida do hormônio não-marcado, cada tubo contém a mesma pequena quantidade, cuidadosamente medida, do hormônio marcado radioativamente. Os hormônios marcados e não-marcados competem pela ligação ao anticorpo. Quanto maior a quantidade de hormônio não-marcado na amostra, menos hormônio marcado é ligado. A curva-padrão é plotada (Figura 43.12). A amostra de sangue ou urina do paciente, contendo o hormônio não-marcado a ser medido, é incubada com o anticorpo imobilizado na presença da mesma pequena quantidade de hormônio marcado. A quantidade de hormônio marcado ligado ao anticorpo é determinada, e a curva-padrão é usada para estimar a quantidade de hormônio não-marcado na amostra do paciente.

O mesmo princípio é usado no ensaio imunorradiométrico (IRMA, do inglês *immunoradiometric assay*), embora nessa técnica o anticorpo, em vez do antígeno a ser medido, seja radiomarcado.

A sensibilidade dos RIA pode ser aumentada pelo uso de uma "técnica de sanduíche". Esse método usa dois anticorpos monoclonais diferentes (anticorpos formados por um único clone de células plasmáticas em vez de múltiplos clones), sendo que cada um deles reconhece uma porção específica diferente da estrutura do hormônio. O primeiro anticorpo, o qual está anexado a um suporte de matriz sólida, como uma placa plástica de cultura, liga o hormônio que será ensaiado. Após a exposição da amostra do paciente a esse primeiro anticorpo, o excesso do plasma é lavado, e o segundo anticorpo (o qual é radiomarcado) é, então, incubado com o primeiro complexo hormônio-anticorpo. A quantidade de ligação do segundo anticorpo (marcado) ao primeiro complexo é proporcional à concentração do hormônio na amostra.

A técnica de sanduíche pode ser implementada ainda mais se o segundo anticorpo for anexado a uma enzima, como a fosfatase alcalina. A enzima rapidamente converte um substrato adicionado sem cor em um produto corado, ou um substrato não-fluorescente em um produto altamente fluorescente. Essas mudanças podem ser quantificadas se o grau de mudança na cor ou na fluorescência for proporcional à quantidade de hormônio presente na amostra do paciente. Menos do que um nanograma (10^{-9} g) de uma proteína pode ser medido por tal ensaio imunoenzimático (ELISA, do inglês *enzyme-linked immunosorbent assay*).

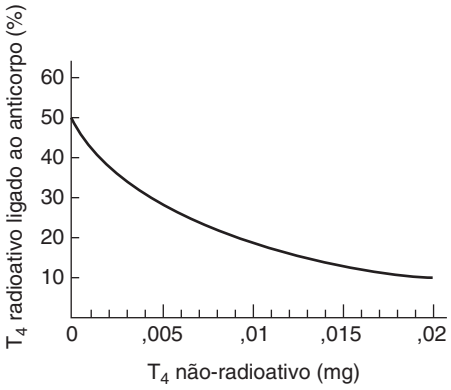


Figura 43.12 Curva-padrão para um radioimunoensaio. Uma quantidade constante de T_4 radioativo é adicionada a uma série de tubos, cada um dos quais contém uma quantidade diferente de T_4 não-radioativo. A quantidade de hormônio radioativo que se liga ao antígeno específico para o hormônio é medida e plotada contra a concentração de hormônio não-radioativo. Quanto maior a quantidade de T_4 não-radioativo presente no tubo, menor a quantidade de T_4 radioativo ligado ao anticorpo.

Leituras Sugeridas

Bloomgarden ZT. Fat metabolism and diabetes: 2003 American Diabetes Association Postgraduate Course. Diabetes Care, 2003 (July);26:2198-2203.

Davis SN, Shavers C, Costa F, Mosqueda-Garcia R. Role of cortisol in the pathogenesis of deficient counterregulation after antecedent hypoglycemia in normal humans. J Clin Invest 1996; 98:680-691.

Goodman HM. Hormonal regulation of fuel metabolism. In: Basic Medical Endocrinology. New York: Raven Press, 1994:203-224.

Itani SI, Ruderman NB, Schmieder F, Boden G. Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and I kappa B-α. Diabetes 2002; 51:2005-2011.

Laurent D, Peterson KF. Russell RR, et al. Effect of epinephrine on muscle glycogenolysis and insulin-stimulated muscle glycogen synthesis in humans. Am J Physiol 1998;274: E130-E138.

Cryer PE. Glucose homeostasis and hypoglycemia. In: Larsen PF, Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS. eds. Williams Textbook of Endocrinology, 10th Ed. Philadelphia: Saunders Publishing, 2003;1585-1591.

Zander M., Madsbad S, Madsen JL, Holst JJ. Effect of 6-week course of glucagon-like peptide one on glycemic conrol, insulin sensitivity, and beta cell function in type 2 diabetes. Lancet 2002:359:824-830.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 43

1. Como estudante do terceiro ano de medicina, você examinou seu primeiro paciente. Você descobriu que ele tem 52 anos de idade, tem uma face redonda, acne e uma grande corcunda de gordura no dorso do pescoço. Ele queixa-se de muita fraqueza para cortar a grama. Os níveis plasmáticos de glicose de jejum são de 170 mg/dL (faixa de referência = 80 a 100 mg/dL). Os níveis plasmáticos de cortisol são de 62 μg/mL (faixa de referência = 3 a 31 μg/mL). Os níveis plasmáticos de ACTH são de 0 pg/mL (faixa de referência = 0 a 100 pg/mL).

   Com base nas informações anteriores, se o problema do paciente é atribuído a uma única causa, o diagnóstico mais provável é qual dos seguintes:

   (A) Diabetes melito não-insulina-dependente
   (B) Diabetes melito insulina-dependente
   (C) Um tumor secretório da pituitária anterior
   (D) Um tumor secretório da pituitária posterior
   (E) Um tumor secretório do córtex adrenal

2. Uma mulher foi submetida ao teste de supressão do hormônio do crescimento. Se cada um dos eventos seguintes ocorreu na manhã do teste, qual dos eventos poderia ser a causa mais provável da diminuição dos níveis de hormônio do crescimento?

   (A) Ela comeu quatro rosquinhas grandes no café da manhã.
   (B) Ela faz terapia de reposição estrogênica e tomou seus tabletes após o café da manhã.
   (C) Enquanto destrancava o carro, ela foi perseguida pelo cachorro malvado do vizinho.
   (D) Ela adormeceu no início do teste e dormiu profundamente até o término, após uma hora e meia.
   (E) Ela esqueceu de tomar o café da manhã antes do teste.

3. Uma dieta deficiente em iodo poderia provocar qual das seguintes alternativas?

   (A) Um efeito direto sobre a síntese de tireoglobulina nos ribossomos.
   (B) Aumento na secreção do hormônio estimulante da tireóide (TSH).
   (C) Diminuição na produção do hormônio liberador de tireotropina (TRH).
   (D) Aumento na produção de calor.
   (E) Perda de peso.

4. Uma mulher cuja glândula tireóide foi removida cirurgicamente foi tratada com 0,10 mg de tiroxina diariamente (na forma de tablete). Após três meses de tratamento, várias medidas dos níveis séricos de TSH estavam entre 10 e 15 μUI/mL (limite de referência = 0,3 a 5,0 μUI/mL). Ela queixou-se de fadiga, ganho de peso e rouquidão. Em qual direção sua dose de hormônio da tireóide poderia ser ajustada?

   (A) Aumentada
   (B) Diminuída
   (C) Permanecer a mesma

A próxima questão é fundamentada no seguinte cenário:

Uma paciente queixa-se de nervosismo, palpitações, sudorese e perda de peso sem perda de apetite e tem bócio. Suspeitando de um defeito na função tireoidiana, o médico pediu que fossem medidos os níveis de T_4 (total) sérico. O teste é realizado por radioimunoensaio. A curva-padrão para o ensaio, que mede o T_4 em 0,1 mL de soro, é mostrada na Figura 43.12. Os níveis normais de T_4 são de 4 a 10 μg/dL. Em um ensaio de 0,1 mL do soro do paciente, 15% do T_4 radioativo estava ligado pelo anticorpo.

5. De acordo com o radioimunoensaio, quais os níveis sangüíneos aproximados de T_4?

   (A) 0,015 μg/dL
   (B) 0,15 μg/dL
   (C) 15 μg/dL
   (D) 20 μg/dL
   (E) 30 μg/dL

44 A Bioquímica do Eritrócito e de Outras Células Sangüíneas

*As células do sangue são classificadas como **eritrócitos, leucócitos** ou **trombócitos**. Os eritrócitos (**células vermelhas**) carregam oxigênio para os tecidos e são as células mais numerosas no sangue. Os leucócitos (**células brancas**) estão envolvidos nas defesas contra infecção, e os trombócitos (**plaquetas**) agem na coagulação sangüínea. Todas as células no sangue podem ser geradas a partir de células-tronco hematopoiéticas na medula óssea sob demanda. Por exemplo, em resposta à infecção, os leucócitos secretam as **citocinas** chamadas de **interleucinas** que estimulam a produção de leucócitos adicionais para combater a infecção. O fornecimento reduzido de oxigênio para os tecidos sinaliza ao rim para liberar **eritropoietina**, um hormônio que estimula a produção de células vermelhas.*

*A célula vermelha tem função metabólica limitada, devido à perda das suas organelas internas. A **glicólise** é a principal via geradora de energia, com produção de lactato, regenerando NAD^+ para que a glicólise continue. O NADH produzido na glicólise também é usado para reduzir a forma férrica da hemoglobina, **metemoglobina**, para o estado ferroso normal. A glicólise também leva a uma via lateral na qual é produzido **2,3-bisfosfoglicerato**, o qual é o principal efetor alostérico para a ligação do oxigênio à hemoglobina. A via da **hexose-monofosfato** gera **NADPH** para proteger da oxidação lipídeos e proteínas da membrana da célula vermelha, por meio da regeneração da glutationa reduzida. A **síntese do heme** ocorre nos precursores das células vermelhas e é uma via complexa que se origina a partir da succinil-CoA e da glicina. Mutações em alguns dos passos da síntese do heme conduzem a um grupo de doenças conhecidas como **porfirias**.*

*A membrana das células vermelhas precisa ser altamente deformável para permitir que ela transite por todo o sistema capilar do corpo. Isso é devido à estrutura complexa do **citoesqueleto**, que consiste nas principais proteínas **espectrina, anquirina** e **proteína banda 3**. Mutações nessas proteínas conduzem a formação inapropriada do citoesqueleto da membrana, finalmente resultando em células vermelhas malformadas, **esferócitos**, na circulação. Os esferócitos têm um tempo curto de vida, conduzindo à perda de células sangüíneas.*

*Quando o corpo não tem células vermelhas suficientes, diz-se que o paciente está anêmico. A anemia pode resultar de muitas causas. **Deficiências nutricionais** de **ferro, folato** ou **vitamina B12** impedem a formação de um número adequado de células vermelhas. **Mutações** nos genes que codificam **enzimas** metabólicas, **proteínas estruturais** de membrana e **globinas** de células vermelhas causam **anemias hereditárias**. O aparecimento de células vermelhas em um esfregaço sangüíneo com freqüência fornece indícios para a causa de uma anemia. Devido ao fato de que as mutações que originam as anemias hereditárias também fornecem proteção contra a malária, as anemias hereditárias são algumas das doenças genéticas conhecidas mais freqüentes.*

*O ser humano altera a expressão gênica da globina durante o desenvolvimento, um processo conhecido como **troca da hemoglobina**. A mudança da expressão de um gene para outro é regulada pela ligação de um fator de transcrição à região promotora desses genes. Pesquisas atuais estão tentando reativar genes de hemoglobina fetal para combater a anemia falciforme e a talassemia.*

SALA DE ESPERA

Anne Niemick, que tem β^+-talassemia, queixa-se de dor na parte inferior da coluna (ver Capítulos 14 e 15). Uma tomografia computadorizada (TC) quantitativa dos corpos vertebrais da espinha lombar mostra evidência de uma área de compressão inicial de medula espinal na região lombar superior. A paciente está sofrendo de anemia grave, resultando na estimulação de precursores de células sangüíneas vermelhas (a massa eritróide) das células-tronco na medula óssea. Essa expansão do volume da medula óssea causa compressão de tecidos nessa área, a qual, por sua vez, causa dor. A irradiação local é considerada, bem como um programa de transfusões de sangue regulares para manter a capacidade de transporte de oxigênio das células sangüíneas vermelhas circulantes. Os resultados de exames especiais relacionados com o defeito genético subjacente à talassemia estão pendentes, embora os exames preliminares tenham mostrado que ela tem níveis elevados de hemoglobina fetal, a qual, em parte, ameniza as manifestações da doença. Os pais de **Anne Niemick** retornaram à clínica para discutir os resultados desses testes.

Spiro Site é um estudante universitário de 21 anos que se queixa de se sentir cansado todo o tempo. Há dois anos ele foi submetido à remoção de cálculos biliares, os quais consistiam principalmente em bilirrubina. O baço é palpável, e icterícia é evidenciada por amarelecimento dos brancos dos olhos. A hemoglobina estava baixa (8 g/dL; valores de referência: 13,5 a 17,5 g/dL). Um esfregaço de sangue mostrou células sangüíneas vermelhas escuras, arredondadas, anormalmente pequenas (chamadas de esferócitos), bem como um aumento no número de células sangüíneas vermelhas imaturas circulantes conhecidas como reticulócitos.

I. CÉLULAS DO SANGUE

O sangue, junto com a medula óssea, compõe o sistema orgânico que contribui significativamente para alcançar a **homeostasia**, a manutenção da composição normal do meio ambiente interno do corpo. O sangue pode ser considerado um tecido líquido constituído de água, proteínas e células especializadas. A célula mais abundante no sangue é o **eritrócito** ou célula sangüínea vermelha, a qual transporta oxigênio para os tecidos e contribui para o tamponamento do sangue por meio da ligação de prótons pela hemoglobina (ver Seção IV deste capítulo, e o material no Capítulo 4, Seção IV.D.2, e no Capítulo 7, Seção VII). As células sangüíneas vermelhas perdem todas as organelas internas durante o processo de diferenciação. As células sangüíneas brancas (**leucócitos**) são células nucleadas presentes no sangue que agem na defesa contra infecção. As plaquetas (**trombócitos**), as quais contêm organelas citoplasmáticas, mas não têm núcleo, estão envolvidas no controle do sangramento por contribuir para a formação normal do trombo (coágulo) no interior do lúmen do vaso sangüíneo. A concentração média dessas células no sangue de indivíduos normais é apresentada na Tabela 44.1.

Tabela 44.1 Valores Normais de Concentração de Células Sangüíneas em Adultos

Tipo de Célula	Média (células/mm^3)
Eritrócitos	5,2 x 10^6 (homens); 4,6 x 10^6 (mulheres)
Neutrófilos	4.300
Linfócitos	2.700
Monócitos	500
Eosinófilos	230
Basófilos	40

A. Classificação e Funções de Leucócitos e Trombócitos

Os leucócitos podem ser classificados como leucócitos polimorfonucleares (granulócitos) ou leucócitos mononucleares, dependendo da morfologia do núcleo nessas células. O leucócito mononuclear tem um núcleo redondo, enquanto os leucócitos polimorfonucleares têm um núcleo multilobulado.

1. GRANULÓCITOS

Os granulócitos, assim denominados devido à presença de grânulos secretórios visíveis sob coloração, são os **neutrófilos**, os **eosinófilos** e os **basófilos**. Quando essas células são ativadas em resposta a estímulos químicos, a membrana das vesículas funde-se com a membrana plasmática celular, resultando na liberação do conteúdo granular (**desgranulação**). Os grânulos contêm muitas moléculas de sinalização celular que medeiam processos inflamatórios. Os granulócitos, além de apresentarem núcleos segmentados (são polimorfonucleares), podem ser diferenciados uns dos outros por suas propriedades de coloração (causadas por diferentes conteúdos granulares) em esfregaços sangüíneos-padrão; neutrófilos se coram de rosa, eosinófilos, de vermelho, e basófilos, de azul.

Os neutrófilos são células fagocíticas que migram rapidamente para áreas de infecção ou tecido danificado. Como parte da resposta à infecção aguda, os neutrófilos engolfam os corpos estranhos e os destroem, em parte, por iniciar a explosão respiratória (ver Capítulo 24). Essa explosão origina os radicais de oxigênio que, rapidamente, destroem o material estranho encontrado no local de infecção.

Uma das funções primárias dos eosinófilos é a destruição de parasitas como vermes. Os grânulos eosinofílicos são lisossomas contendo enzimas hidrolíticas e proteínas catiônicas, as quais são tóxicas para vermes parasitas. Os eosinófilos também estão envolvidos na asma e nas respostas alérgicas, embora seu papel exato no desenvolvimento dessas doenças ainda seja desconhecido e essa seja uma área ativa de pesquisa.

Os basófilos, os leucócitos menos abundantes, participam em reações de hipersensibilidade, como resposta alérgica. A histamina, produzida pela descarboxilação da histidina, é estocada em grânulos secretórios dos basófilos. A liberação de histamina durante a ativação basofílica estimula a contração das células musculares lisas e aumenta a permeabilidade vascular. Os grânulos também contêm enzimas, como proteases, β-glicuronidase e lisofosfolipase. Essas enzimas degradam estruturas microbianas e auxiliam no remodelamento do dano tecidual.

2. LEUCÓCITOS MONONUCLEARES

Os leucócitos mononucleares consistem em várias classes de linfócitos e monócitos. Os linfócitos são pequenas células arredondadas originariamente identificadas no fluido linfático. Essas células têm uma elevada relação de volume nuclear e volume citoplasmático e são células de reconhecimento do antígeno primário (corpo estranho). Há três principais tipos de linfócitos: células T, células B e células NK (do inglês *natural killer*; matadoras naturais). Os precursores de células T (linfócitos derivados do timo) são produzidos na medula óssea e, então, migram para o timo, onde amadurecem antes de serem liberados para a circulação. Existem muitas subclasses de células T. Essas subclasses são identificadas por diferentes proteínas de superfície da membrana, cuja presença correlaciona com a função da subclasse. Os linfócitos que amadurecem na medula óssea são as células B, as quais secretam anticorpos em resposta à ligação do antígeno. A terceira classe de linfócitos são as células NK, as quais destinam células infectadas por vírus e células malignas para destruição.

Os monócitos circulantes são os precursores dos macrófagos teciduais. Os macrófagos (grandes "comilões") são células fagocíticas que entram em locais de inflamação e consomem microrganismos e resíduos de células hospedeiras necróticas deixados para trás pelo ataque granulocítico ao material estranho. Os macrófagos no baço desempenham um papel importante na manutenção da capacidade de entrega de oxigênio do sangue, por removerem células sangüíneas vermelhas danificadas que têm uma capacidade reduzida de transporte de oxigênio.

Tabela 44.2 Níveis Normais de Hemoglobina no Sangue (g/dL)

Adultos	
Homens	13,5-17,5
Mulheres	11,5-15,5
Crianças	
Recém-nascidos	15,0-21,0
3 a 12 meses	9,5-12,5
1 ano até a puberdade	11,0-3,5



Outras medidas usadas para classificar o tipo de anemia presente incluem o volume corpuscular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). O VCM é o volume médio da célula sangüínea vermelha, expresso em fentolitros (10^{-15}). O VCM normal varia de 80 a 100 fL. A CHCM é a concentração média de hemoglobina em cada eritrócito individual, expressa em g/L. O intervalo normal é de 32 a 37; um valor menor do que 32 poderia indicar células hipocrômicas. Então, as células sangüíneas vermelhas microcíticas e hipocrômicas têm um VCM de menos de 80 e uma CHCM de menos de 32. As células macrocíticas, normocrômicas têm um VCM maior do que 100 e uma CHCM entre 32 e 37.



Pequenas quantidades de 2,3-BPG são encontradas em outras células que não os eritrócitos e são necessárias para a reação da fosfoglicerato-mutase na glicólise, na qual 3-fosfoglicerato é isomerizado a 2-fosfoglicerato. Como o 2,3-BPG é regenerado a cada reação do ciclo, ele é requerido apenas em quantidades catalíticas.

3. OS TROMBÓCITOS

As plaquetas são células semelhantes a discos granulados pesados que auxiliam na coagulação intravascular. Como os eritrócitos, as plaquetas perdem o núcleo. Sua função é discutida no próximo capítulo. As plaquetas surgem pelo brotamento do citoplasma dos megacariócitos, que são células multinucleadas residentes na medula óssea.

B. Anemia

A principal função dos eritrócitos é entregar oxigênio para os tecidos. Para isso, é necessária uma concentração suficiente de hemoglobina nas células sangüíneas vermelhas para ocorrer a entrega eficiente de oxigênio. Quando a concentração de hemoglobina cai abaixo dos valores normais (Tabela 44.2), o paciente é classificado como anêmico. As anemias podem ser categorizadas com base no tamanho das células vermelhas e na concentração de hemoglobina. As células vermelhas podem ser de tamanho normal (normocíticas), pequeno (microcíticas) ou grande (macrocíticas). As células contendo uma concentração normal de hemoglobina são denominadas normocrômicas; aquelas com concentração diminuída são hipocrômicas. Esse sistema de classificação fornece importantes ferramentas diagnósticas (Tabela 44.3) que possibilitam a classificação adequada, o diagnóstico e o tratamento da anemia.

II. METABOLISMO DO ERITRÓCITO

A. O Eritrócito Maduro

Para entender melhor como os eritrócitos podem realizar sua principal função, é necessária uma discussão do metabolismo dos eritrócitos. Os eritrócitos maduros não contêm organelas intracelulares, por isso as enzimas metabólicas das células sangüíneas vermelhas são limitadas àquelas encontradas no citoplasma. Além de hemoglobina, o citosol das células sangüíneas vermelhas contém enzimas necessárias para a prevenção e o reparo dos danos causados pelas espécies reativas de oxigênio (ver Capítulo 24) e a geração de energia (Figura 44.1). Os eritrócitos somente podem gerar trifosfato de adenosina (ATP) por meio da glicólise (ver Capítulo 22). O ATP é usado para o transporte de íons através da membrana celular (primariamente Na^+, K^+ e Ca^{2+}), para a fosforilação de proteínas de membrana e para as reações iniciais da glicólise. A glicólise no eritrócito também usa a via de Rapaport-Luebering para gerar 2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG, do inglês *2,3-bisphosphoglycerate*). As células vermelhas contêm de 4 a 5 mM de 2,3-BPG, comparado com quantidades mínimas em outras células. Como será discutido detalhadamente na Seção IV, o 2,3-BPG é um modulador da ligação de oxigênio à hemoglobina, que estabiliza a forma desoxi da hemoglobina, facilitando, assim, a liberação de oxigênio para os tecidos.

Para ligar oxigênio, o ferro da hemoglobina precisa estar no estado ferroso (+2). Espécies reativas de oxigênio podem oxidar o ferro para o estado férrico (+3), produzindo metemoglobina. Um pouco do NADH produzido pela glicólise é usado para regenerar hemoglobina a partir da metemoglobina pelo sistema NADH-citocromo b_5 me-

Tabela 44.3 Classificação das Anemias com Base na Morfologia da Célula Vermelha

Morfologia da Célula Vermelha	Déficit Funcional	Possíveis Causas
Microcítica, hipocrômica	Síntese prejudicada de hemoglobina	Deficiência de ferro, mutação de talassemia, envenenamento por chumbo
Macrocítica, normocrômica	Síntese prejudicada de DNA	Deficiência de ácido fólico ou B12, eritroleucemia
Normocítica, normocrômica	Perda de células vermelhas	Sangramento agudo, anemia falciforme, defeitos metabólicos da célula vermelha, defeitos de membrana da célula vermelha

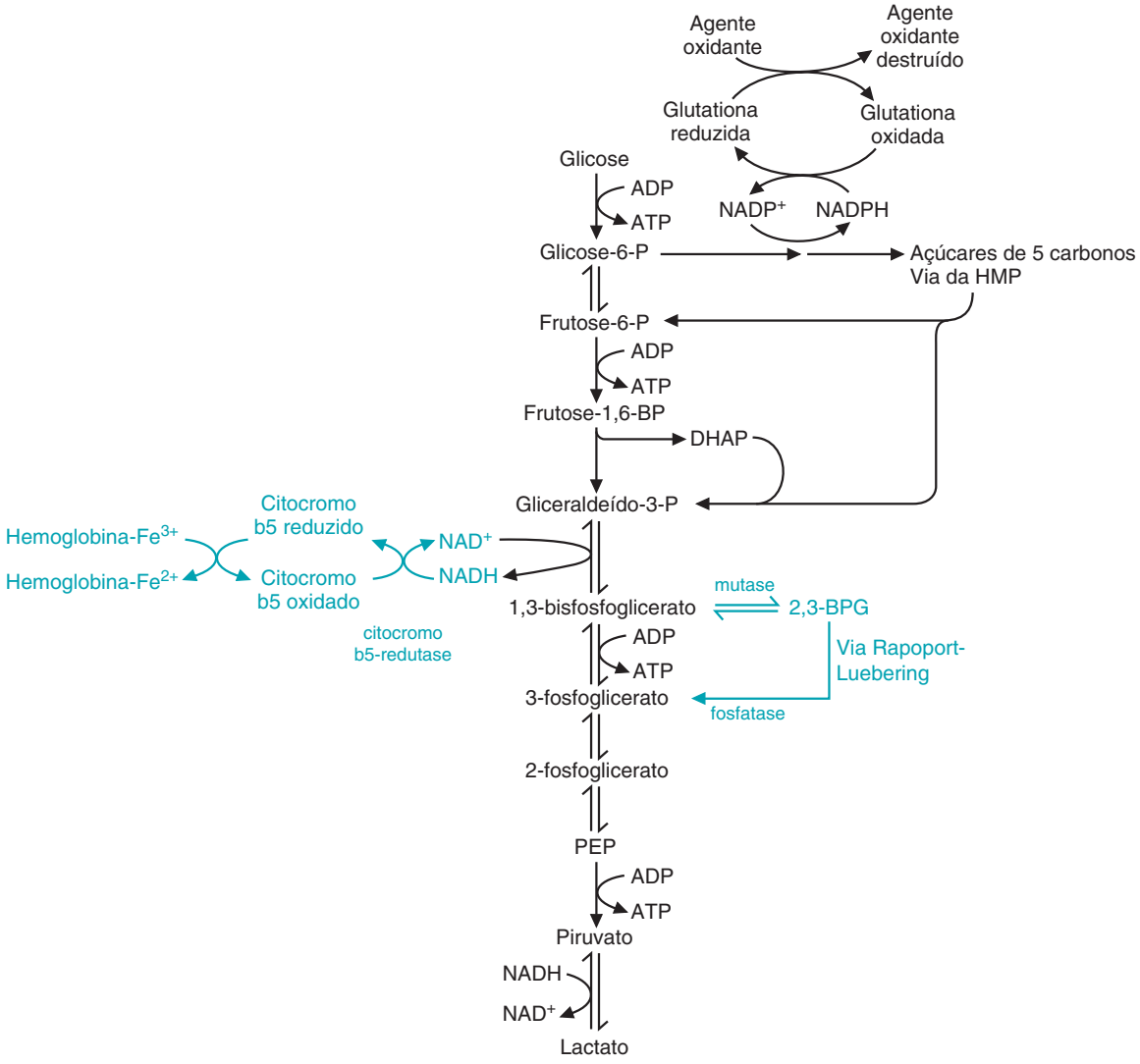


Figura 44.1 Visão geral do metabolismo do eritrócito. A glicólise é a principal via, com divisões para a via da hexose-monofosfato (para proteção contra agentes oxidantes) e para a via de Rapoport-Luebering (a qual gera 2,3-bisfosfoglicerato, que modera a ligação de oxigênio à hemoglobina). O NADH gerado a partir da glicólise pode ser usado para reduzir a metemoglobina (Fe^{3+}) à hemoglobina normal (Fe^{2+}), ou para converter piruvato em lactato, de tal forma que NAD^+ possa ser regenerado e usado para a glicólise. As vias específicas para o eritrócito são indicadas em azul.

temoglobina-redutase. O citocromo b_5 reduz o Fe^{3+} da metemoglobina. O citocromo b_5 oxidado é, então, reduzido por uma enzima contendo flavina, a citocromo b_5-redutase (também chamada de metemoglobina-redutase), usando NADH como agente redutor.

Aproximadamente de 5 a 10% da glicose metabolizada pelas células sangüíneas vermelhas são usados para gerar NADPH pela via da hexose-monofosfato. O NADPH

Uma deficiência hereditária de piruvato-quinase leva à anemia hemolítica (uma anemia causada pela destruição das células sangüíneas vermelhas; nessa condição, os valores de hemoglobina tipicamente caem para 4 a 10 g/dL). Como a quantidade de ATP formado pela glicólise está reduzida em 50%, os transportadores de íons da célula sangüínea vermelha não podem funcionar de forma eficiente. As células sangüíneas vermelhas tendem a ganhar Ca^{2+} e a perder K^+ e água. A perda de água aumenta a concentração intracelular de hemoglobina. Com o aumento da concentração intracelular de hemoglobina, a viscosidade interna da célula é aumentada ao ponto em que a célula torna-se rígida e, portanto, mais suscetível ao dano por forças de cisalhamento (*shear forces*) na circulação. Uma vez danificadas, as células sangüíneas vermelhas são removidas da circulação, levando à anemia. Entretanto, os efeitos da anemia com freqüência são moderados, devido à elevação em duas a três vezes na concentração de 2,3-BPG, que resulta do bloqueio na conversão do fosfoenolpiruvato em piruvato. Como a ligação de 2,3-BPG à hemoglobina diminui a afinidade da hemoglobina por oxigênio, as células sangüíneas vermelhas que permanecerem na circulação são altamente eficientes na liberação de seu oxigênio para os tecidos.

A metemoglobinemia congênita (presença de excesso de metemoglobina) é encontrada em pessoas com uma deficiência enzimática na citocromo b_5-redutase ou em pessoas que têm hemoglobina M herdada. Na hemoglobina M, uma única substituição de aminoácido na região ligada ao heme estabiliza o oxigênio férrico (Fe^{3+}). Os indivíduos com metemoglobinemia congênita têm aparência cianótica, mas têm poucos problemas clínicos. A metemoglobinemia pode ser adquirida pela ingestão de certos oxidantes, como nitritos, quinonas, anilina ou sulfonamidas. A metemoglobinemia adquirida pode ser tratada pela administração de agentes redutores, como ácido ascórbico ou azul de metileno.

A deficiência de G6PD é a deficiência enzimática conhecida mais comum em seres humanos, provavelmente, em parte, porque os indivíduos com a deficiência de G6PD são resistentes à malária. Essa resistência contrabalança os efeitos deletérios da deficiência. As células vermelhas deficientes em G6PD têm uma vida mais curta, e é mais provável que se rompam sob condições de estresse oxidativo. Quando o fármaco antimalárico primaquina foi dado profilaticamente a soldados durante a Guerra Coreana, aproximadamente 10% dos soldados descendentes de africanos desenvolveram uma anemia espontânea. Como o gene para G6PD é encontrado no cromossomo X, esses homens tiveram somente uma cópia de uma variante do gene G6PD.

Todas as variantes conhecidas do gene de G6PD contêm pequenas deleções *in-frame* (que não deslocam o quadro de leitura) ou mutações *missense**. Portanto, as proteínas correspondentes têm estabilidade reduzida ou atividade diminuída, o que leva à redução da meia-vida ou da duração da célula vermelha. Não foram encontradas mutações que resultem em ausência completa de G6PD. Com base em estudos com camundongos *knockout***, seria esperado que essas mutações resultassem em letalidade embrionária.

O heme, o qual é vermelho, é responsável pela coloração das células sangüíneas vermelhas e dos músculos que contêm um grande número de mitocôndrias.

A clorofila, a principal porfirina em plantas, é similar ao heme, exceto que é combinada com magnésio, em vez de ferro, e contém substituintes diferentes nos anéis, incluindo um álcool de cadeia longa (fitol). Como resultado dessa diferença estrutural, a clorofila é verde.

é usado para manter a glutationa no estado reduzido. O ciclo da glutationa é comandante na defesa da célula vermelha do sangue contra danos a proteínas e lipídeos, produzidos por espécies reativas de oxigênio (ver Capítulo 24).

A enzima que catalisa o primeiro passo da via da hexose-monofosfato é a glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD, do inglês *glucose-6-phosphate dehydrogenase*). O tempo de vida das células sangüíneas vermelhas correlaciona-se com a atividade da G6PD. Com os ribossomos perdidos, as células sangüíneas vermelhas não podem sintetizar nova proteína G6PD. Conseqüentemente, como a atividade da G6PD decresce, os danos oxidativos acumulam-se, levando à lise do eritrócito. Quando a lise da célula sangüínea vermelha (hemólise) excede substancialmente a taxa normal de produção dessas células, o número de eritrócitos no sangue cai abaixo dos valores normais, levando à anemia hemolítica.

B. Precursores das Células Eritrocíticas e Síntese do Heme

1. ESTRUTURA DO HEME

O heme consiste em um anel de porfirina coordenado com um átomo de ferro (Figura 44.2). Quatro anéis pirrólicos são unidos por pontes metenil (–CH=) para formar o anel de porfirina (ver Figura 7.12). Oito cadeias laterais servem como substituintes no anel de porfirina, duas em cada pirrol. Essas cadeias laterais podem ser grupos acetila (A), propionil (P), metila (M) ou vinil (V). No heme, a ordem desses grupos é M V M V M P P M. Essa ordem, na qual a posição do grupo metila é revertida no quarto anel, é característica das porfirinas das séries tipo III, as mais abundantes na natureza.

O heme é a porfirina mais comum encontrada no corpo. Ele forma complexos com as proteínas para formar hemoglobina, mioglobina e citocromos (ver Capítulos 7 e 21), incluindo o citocromo P450 (ver Capítulo 24).

2. SÍNTESE DO HEME

O heme é sintetizado a partir de glicina e succinil-CoA (Figura 44.3), as quais se condensam na reação inicial para formar ácido δ-aminolevulínico (δ-ALA) (Figura 44.4). A enzima que catalisa essa reação, a δ-ALA-sintase, requer a participação do piridoxal-fosfato, já que a reação é uma descarboxilação de aminoácido (glicina é descarboxilada; ver Capítulo 39).

A próxima reação da síntese do heme é catalisada pela δ-ALA-desidratase, na qual duas moléculas de δ-ALA se condensam para formar o pirrol, porfobilinogênio

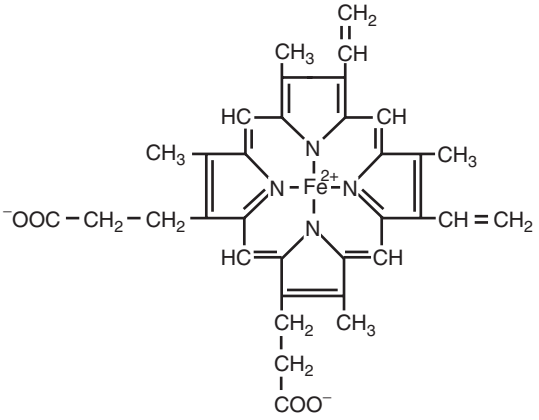


Figura 44.2 Estrutura do heme. As cadeias laterais podem ser abreviadas como MVMVMPPM. M = metil (CH_3); V = vinil (—CH=CH_2); P = propionil (—CH_2—CH_2—COO^-).

* N. de T. A mutação *missense* é uma mutação de sentido trocado, que resulta em uma proteína em que um aminoácido é substituído por outro.

** N. de T. O *knockout* gênico é uma técnica para inativar seletivamente um gene por meio da sua substituição por um alelo mutante em um organismo normal em todos os demais aspectos.

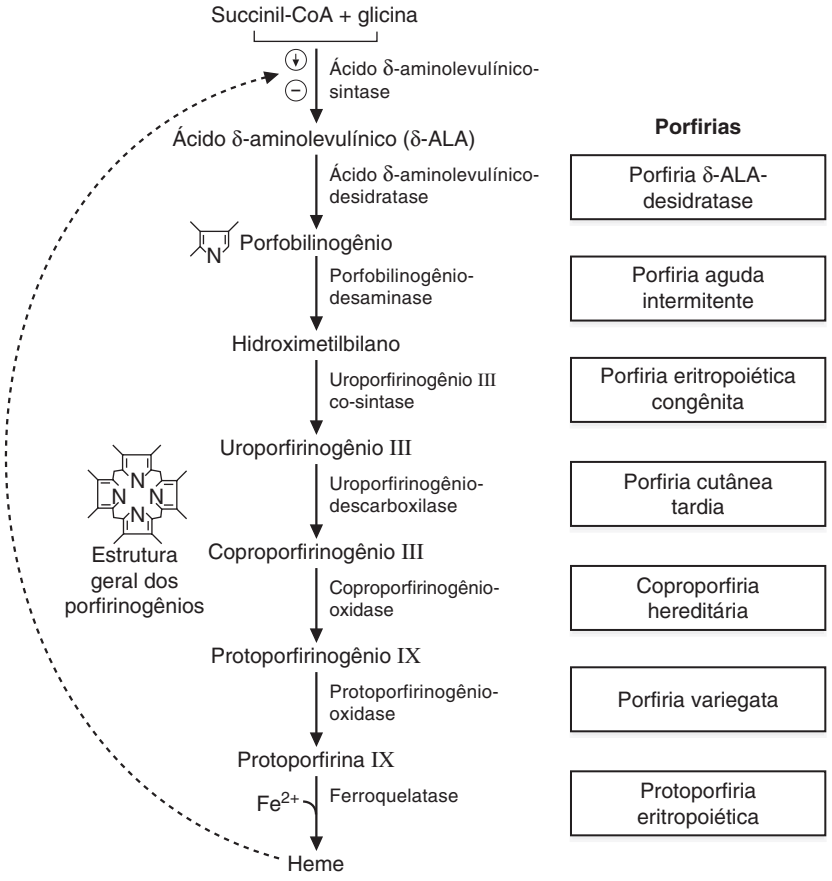


Figura 44.3 Síntese do heme. Para produzir uma molécula de heme são requeridas oito moléculas de glicina e de succinil-CoA. Uma série de porfirinogênios é gerada em seqüência. Finalmente, o ferro é adicionado para produzir o heme. O heme regula sua própria produção por reprimir a síntese da ácido δ-aminolevulínico-sintase (δ-ALA) (↓) e por inibir diretamente a atividade desta enzima (–). As deficiências de enzimas na via resultam em uma série de doenças conhecidas como porfirias (listadas à direita, ao lado da enzima deficiente).

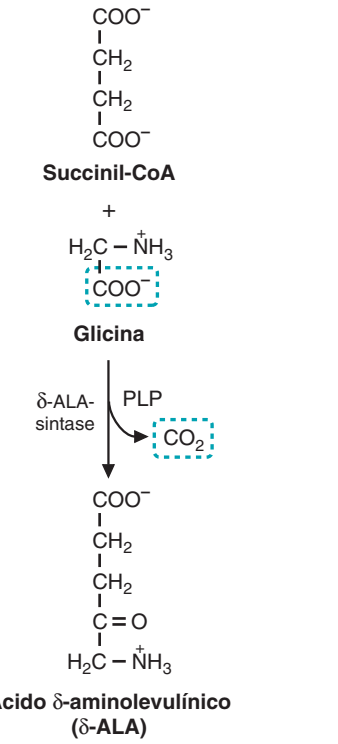


Figura 44.4 Síntese de ácido δ-aminolevulínico (δ-ALA). PLP = piridoxal-fosfato.

(Figura 44.5). Quatro desses anéis pirrólicos se condensam para formar uma cadeia linear e, então, uma série de porfirinogênios. As cadeias laterais desses porfirinogênios inicialmente contêm grupos acetila (A) e propionil (P). Os grupos acetila são descarboxilados para formar grupos metila. Então as duas primeiras cadeias laterais propionil são descarboxiladas e oxidadas a grupos vinil, formando um protoporfirinogênio. As pontes metileno são subseqüentemente oxidadas para formar protoporfirina IX (ver Figura 44.3).

No passo final da via, o ferro (como Fe^{2+}) é incorporado na protoporfirina IX em uma reação catalisada pela ferroquelatase (também conhecida como heme-sintase).

3. FONTE DE FERRO

O ferro, o qual é obtido a partir da dieta, tem uma Recomendação Dietética Adequada (RDA, do inglês *Recommended Dietary Allowance*) de 10 mg para homens e mulheres

Q: As deficiências de piridoxina (vitamina B6) com freqüência são associadas à anemia microcítica e hipocrômica. Por que a deficiência de vitamina B6 poderia resultar em células sangüíneas vermelhas pequenas (microcíticas) e pouco coradas (hipocrômicas)?

A δ-ALA-desidratase, a qual contém zinco, e a ferroquelatase são inativadas por chumbo. Então, na intoxicação por chumbo, δ-ALA e protoporfirina IX se acumulam, e a produção do heme é diminuída. A anemia resulta da falta da hemoglobina, e a produção de energia decresce devido à falta de citocromos para a cadeia de transporte de elétrons.

As porfirias são um grupo de distúrbios hereditários raros, resultantes da deficiência de enzimas da via de biossíntese do heme (ver Figura 44.3). Os intermediários dessa via se acumulam e podem ter efeitos tóxicos no sistema nervoso, que causam sintomas neuropsiquiátricos. Quando porfirinogênios se acumulam, eles podem ser convertidos pela luz em porfirinas, as quais reagem com o oxigênio molecular para formar radicais de oxigênio. Esses radicais podem causar danos graves para a pele. Então, os indivíduos com produção excessiva de porfirinas são fotossensíveis. O crescimento aumentado e assustador de pêlos faciais vistos em algumas porfirias podem ter contribuído para o desenvolvimento do lendário lobisomem.

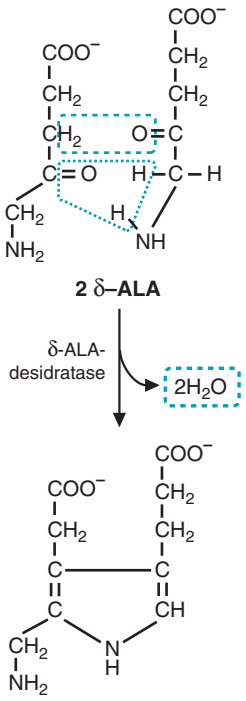


Figura 44.5 Duas moléculas de δ-ALA se condensam para formar o porfobilinogênio.

R: Na deficiência de B6, a velocidade de produção do heme é lenta, pois a primeira reação na síntese do heme requer piridoxal-fosfato (ver Figura 44.4). Assim, a síntese do heme é diminuída, o que torna as células sangüíneas vermelhas pequenas e pouco coradas. Os estoques de ferro geralmente estão elevados.

O ferro perdido por mulheres adultas (aproximadamente 1 mg/dia) por meio da descamação da pele e na bile, nas fezes, na urina e no suor é restabelecido pelo ferro absorvido na dieta. Os homens não estão propensos a sofrer de deficiência de ferro como as mulheres adultas em período de pré-menopausa, as quais também perdem ferro durante a menstruação e necessitam de fornecimento de ferro para suprir as necessidades do crescimento do feto durante a gestação. Se um homem que ingere uma dieta ocidental tem uma anemia ferropriva, o médico poderia suspeitar de sangramento do trato gastrintestinal, devido a úlceras ou câncer de cólon.

Embora o espinafre tenha sido considerado uma importante fonte de ferro (principalmente pelo personage de desenho animado Popeye), esse ferro não é prontamente absorvido, pois o espinafre tem um alto conteúdo de fitato (inositol com um grupo fosfato ligado em cada um de seus 6 grupos hidroxila).

em pós-menopausa e 15 mg para mulheres em pré-menopausa. A dieta americana média contém de 10 a 50 mg de ferro. Entretanto, somente de 10 a 15% são normalmente absorvidos, e deficiências de ferro são bastante comuns. O ferro em carnes está na forma de heme, o qual é prontamente absorvido. O ferro não-heme em plantas não é prontamente absorvido, em parte porque as plantas com freqüência contêm oxalatos, fitatos, taninos e outros compostos fenólicos que quelam ou formam precipitados insolúveis com ferro, impedindo sua absorção. Inversamente, a vitamina C (ácido ascórbico) aumenta a captação de ferro não-heme no trato digestivo. A captação de ferro é também aumentada em períodos de necessidade por mecanismos que ainda não são entendidos. O ferro é absorvido no estado ferroso (Fe^{2+}) (Figura 44.6), mas é oxidado para o estado férrico por uma ferroxidase conhecida como ceruloplasmina (uma enzima que contém cobre) para o transporte através do corpo.

Como o ferro livre é tóxico, em geral é encontrado no corpo ligado a proteínas (ver Figura 44.6). O ferro é carregado no sangue (como Fe^{3+}) pela proteína apotransferrina, com a qual ele forma um complexo conhecido como transferrina. A transferrina em geral é apenas um terço saturada com ferro. A capacidade total de ligação do ferro sangüíneo, principalmente devido ao seu conteúdo de transferrina, é de cerca de 300 μg/dL.

Estoques de ferro ocorrem na maioria das células, mas especialmente naquelas do fígado, do baço e da medula óssea. Nessas células, a proteína de estoque, apoferritina, forma um complexo com ferro (Fe^{3+}), conhecido como ferritina. Normalmente, pouca ferritina está presente no sangue. Essa quantidade aumenta, entretanto, quando os estoques de ferro aumentam. Portanto, a quantidade de ferritina no sangue é o indicador mais sensível do tamanho dos estoques corporais de ferro.

O ferro pode ser retirado dos estoques de ferritina, transportado no sangue como transferrina e captado por endocitose mediada por receptor pelas células que requerem ferro (p. ex., pelos reticulócitos que estão sintetizando hemoglobina). Quando um excesso de ferro é absorvido a partir da dieta, ele é estocado como hemossiderina, uma forma de ferritina que complexa ferro adicional que não pode ser rapidamente mobilizado.

4. REGULAÇÃO DA SÍNTESE DO HEME

O heme regula sua própria síntese por mecanismos que afetam a primeira enzima da via, a δ-ALA-sintase (ver Figura 44.3). O heme reprime a síntese e também inibe diretamente a atividade dessa enzima (uma modificação alostérica). Então, o heme é sintetizado quando os seus níveis caem. Quando os níveis do heme aumentam, sua taxa de síntese decresce.

O heme também regula a síntese de hemoglobina por estimular a síntese da proteína globina. O heme mantém em um estado ativo a complexa iniciação ribossomal para a síntese de globina (ver Capítulo 15).

5. DEGRADAÇÃO DO HEME

O heme é degradado para formar bilirrubina, a qual é conjugada com ácido glicurônico e excretada na bile (Figura 44.7). Embora o heme obtido a partir dos citocromos e da mioglobina também sofra conversão em bilirrubina, a maior fonte desse pigmento biliar é a hemoglobina. Após as células sangüíneas vermelhas alcançarem o final de seu tempo de vida (cerca de 120 dias), elas são fagocitadas por células do sistema reticuloendotelial. A globina é clivada em seus aminoácidos constituintes, e o ferro retorna para os estoques corporais de ferro. O heme é oxidado e clivado para produzir monóxido de carbono e biliverdina (Figura 44.8). A biliverdina é reduzida à bilirrubina, a qual é transportada para o fígado formando um complexo com a albumina sérica.

No fígado, a bilirrubina é convertida em um composto mais hidrossolúvel, por reagir com UDP-glicuronato para formar monoglicuronídeo de bilirrubina, o qual é

Alguns fármacos, como o fenobarbital, induzem as enzimas dos sistemas de metabolização de fármacos do retículo endoplasmático que contêm citocromo P450. Como o heme é utilizado para a síntese de citocromo P450, os níveis de heme livre cairão, e a δ-ALA-sintase será induzida para aumentar a taxa de síntese de heme.

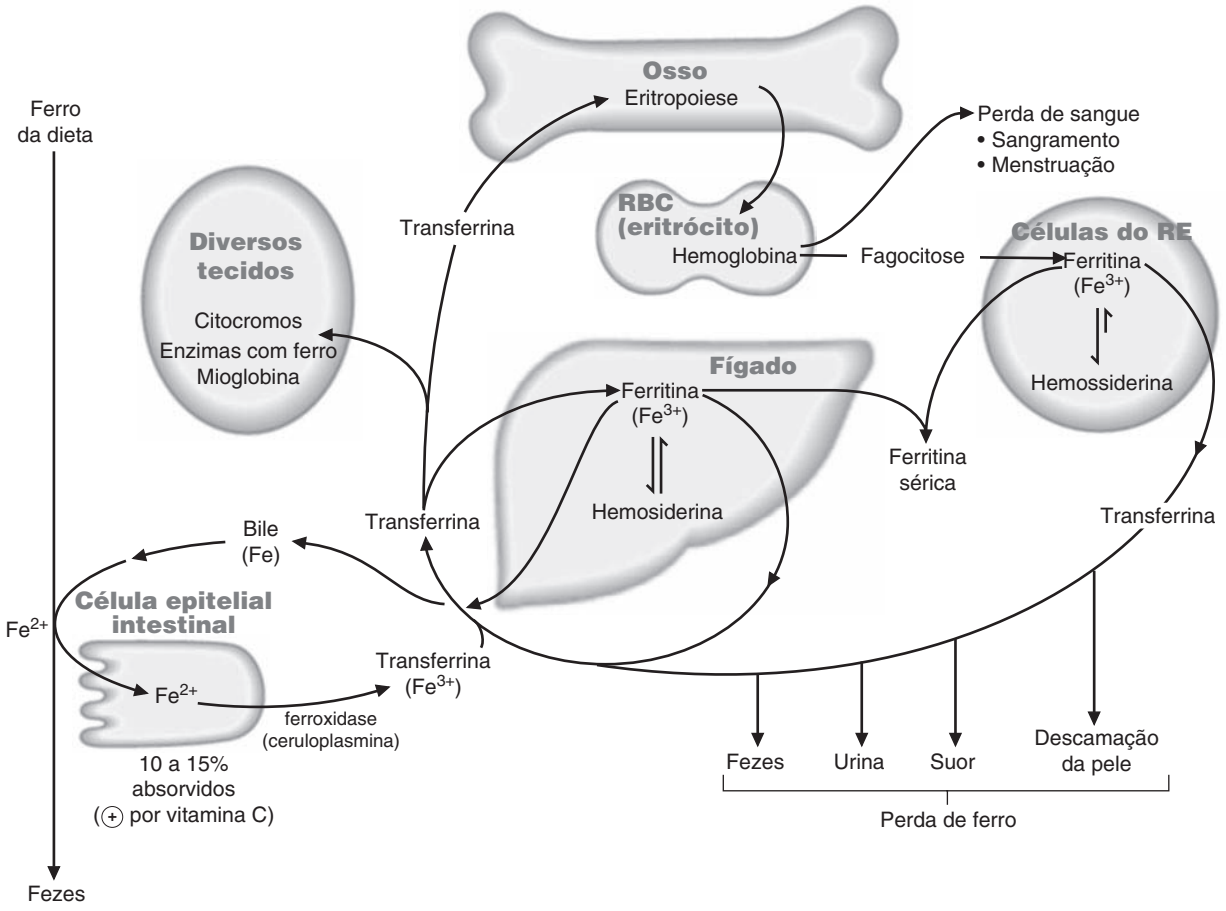


Figura 44.6 Metabolismo do ferro. O ferro é absorvido da dieta, transportado no sangue na transferrina, estocado na ferritina e usado para a síntese de citocromos, enzimas com ferro, hemoglobina e mioglobina. Ele é perdido do corpo por sangramentos e descamação de células, suor, urina e fezes. A hemossiderina é a proteína na qual o excesso de ferro é estocado. Pequenas quantidades de ferritina entram no sangue e podem ser usadas para medir a adequação dos estoques de ferro. RE = retículo endotelial.

convertido em diglicuronídeo (ver Figura 30.5). Essa forma conjugada de bilirrubina é excretada na bile.

No intestino, as bactérias desconjugam o diglicuronídeo de bilirrubina e convertem a bilirrubina em urobilinogênios (ver Figura 44.7). Uma parte de urobilinogênio é absorvida para o sangue e excretada na urina. Entretanto, a maioria do urobilinogênio é oxidada a urobilinas, como estercobilina, e excretada nas fezes. Esses pigmentos dão às fezes a sua coloração marrom.

Q: Em uma deficiência de ferro, quais características o sangue poderia exibir?

III. MEMBRANA DA CÉLULA SANGÜÍNEA VERMELHA

No microscópio, a célula sangüínea vermelha parece ser um disco vermelho com uma área central pálida (disco bicôncavo) (Figura 44.9). A forma de disco bicôncavo (em oposição à forma esférica) serve para facilitar a troca gasosa através da membrana celular. As proteínas de membrana que mantêm a forma da célula sangüínea vermelha também permitem que essa atravesse os capilares com diâmetro luminal muito pequeno, para entregar oxigênio aos tecidos. Os diâmetros interiores de muitos capilares são muito menores do que o diâmetro da célula vermelha, que é de aproximadamente 7,5 μm. Além disso, na passagem através do rim, as células sangüíneas vermelhas atravessam as áreas hipertônicas que possuem uma tonicidade até seis vezes superior à normal e voltam novamente, fazendo a célula vermelha encolher e expandir durante seu trajeto. O baço é o órgão responsável por determinar a viabilidade das células sangüíneas vermelhas. Os eritrócitos passam 120 vezes por dia através do baço. As vias de passa-

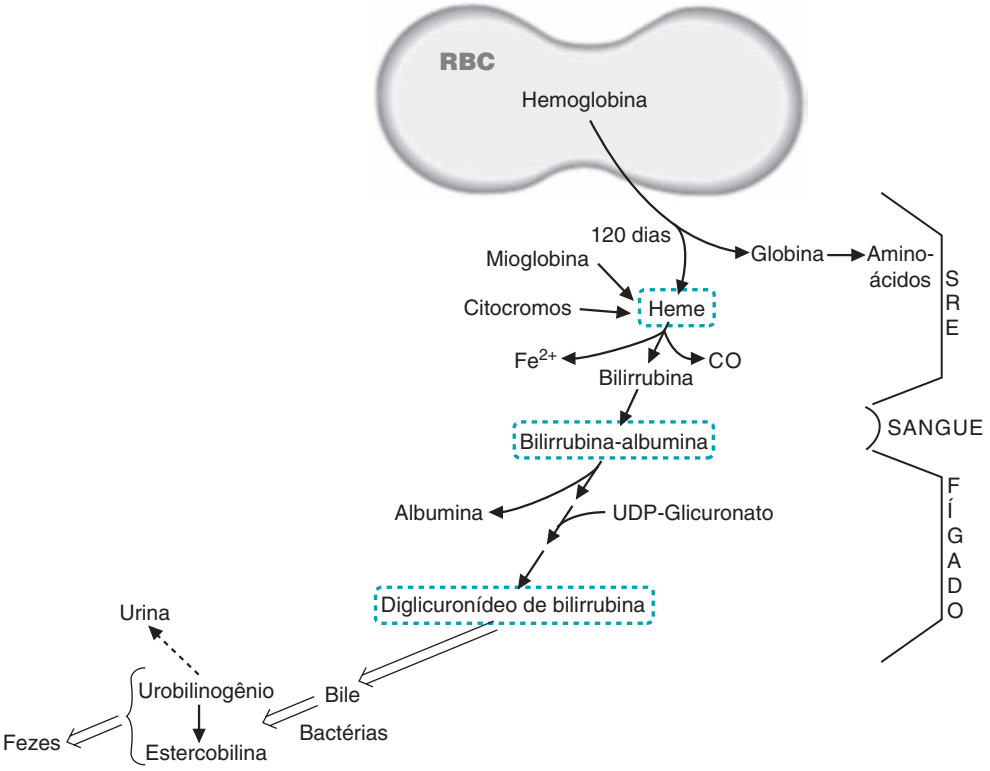


Figura 44.7 Visão geral da degradação do heme. O heme é degradado em bilirrubina, transportado no sangue pela albumina, conjugado para formar o diglicuronídeo no fígado e excretado na bile. O ferro retorna aos estoques de ferro do corpo. S.R.E. = sistema reticuloendotelial (do inglês *reticuloendothelial system*); RBC = células sangüíneas vermelhas (do inglês *red blood cells*).

R: A deficiência de ferro pode resultar em anemia microcítica e hipocrômica. As células sangüíneas vermelhas podem ser pequenas e pouco coradas. Ao contrário da deficiência de vitamina B6, a qual também resulta em uma anemia microcítica e hipocrômica, na anemia ferropriva os estoques de ferro estão baixos.

Os nomes incomuns para algumas proteínas da membrana dos eritrócitos, como banda 4.1, surgiram pela análise da membrana das células sangüíneas vermelhas por eletroforese em gel de poliacrilamida. As bandas coradas observadas no gel foram numeradas de acordo com seu peso molecular (banda 1, banda 2 e assim por diante), e, como foram determinadas funções para as proteínas, nomes mais comuns foram designados para elas (p. ex., a espectrina é na verdade a banda 1).

gens elípticas através do baço são de aproximadamente 3 μm de diâmetro, e as células vermelhas normais as atravessam em cerca de 30 segundos. Assim, para sobreviver na circulação, a célula vermelha precisa ser altamente deformável. As células vermelhas danificadas que não são mais deformáveis são presas na passagem pelo baço, onde são destruídas pelos macrófagos. A razão para a deformabilidade dos eritrócitos encontra-se na sua forma e na organização das proteínas que compõem a membrana das células sangüíneas vermelhas.

A área de superfície da célula vermelha é de aproximadamente 140 μm^2, a qual é maior do que a superfície de uma esfera necessária para incluir os conteúdos da célula vermelha (98 μm^2). A presença dessa membrana extra e do citoesqueleto que a suporta permite que a célula vermelha estenda-se e deforme-se por estresses mecânicos quando a célula passa através do leito vascular estreito. No lado citoplasmático da membrana, as proteínas formam uma treliça bidimensional que dá flexibilidade à célula vermelha (Figura 44.10). As principais proteínas são espectrina, actina, banda 4.1, banda 4.2 e anquirina. A espectrina, a principal proteína, é um heterodímero composto de subunidades α e β envolvidas umas às outras. Os dímeros se auto-associam pelas cabeças. Na terminação oposta dos dímeros de espectrina, actina e banda 4.1 se ligam uma próxima da outra. Múltiplas espectrinas podem se ligar a cada filamento de actina, resultando em um citoesqueleto de membrana ramificado.

O citoesqueleto de espectrina está conectado à bicamada lipídica da membrana pela anquirina, a qual interage com a espectrina β e a proteína integral de membrana, a banda 3. A banda 4.2 auxilia a estabilizar essa conexão. A banda 4.1 ancora o esqueleto de espectrina com a membrana, ligando a proteína integral de membrana, glicoforina C, e o complexo de actina, o qual tem múltiplos dímeros de espectrina ligados.

Quando a célula sangüínea vermelha é sujeita a estresse mecânico, a rede de espectrina rearranja-se. Algumas moléculas de espectrina desenrolam-se e estendem-se; outras se comprimem, alterando, portanto, a forma da célula, mas não a sua área de superfície.

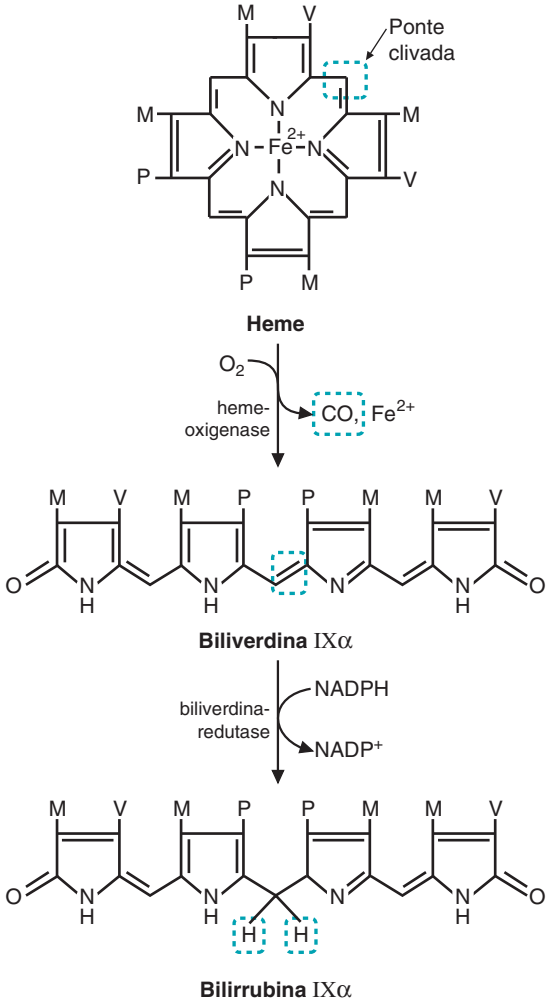


Figura 44.8 Conversão do heme em bilirrubina. Uma ponte de metileno é clivada no heme, liberando monóxido de carbono (CO) e ferro. Então, a ponte de metileno central é reduzida.

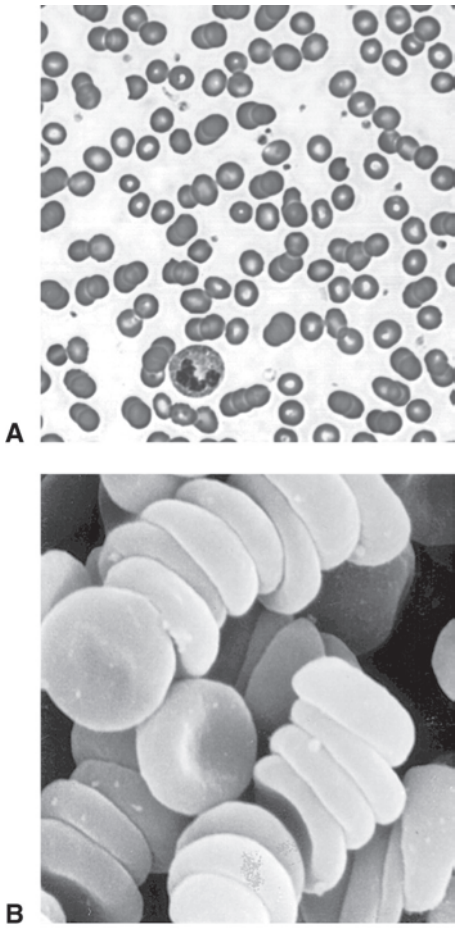


Figura 44.9 A forma da célula sangüínea vermelha. **A.** Células coradas com Wright, mostrando uma coloração mais pálida no centro. Três leucócitos também estão presentes na preparação. A ampliação é de 350×. **B.** Microfotografia eletrônica de varredura, mostrando a estrutura de disco bicôncavo das células. O empilhamento de eritrócitos nessa preparação (coletada de um tubo de sangue) não é incomum. A ampliação é de 28.000×. Essas fotografias foram obtidas, com permissão, de Ross et al, Histology, A Text and Atlas with Cell and Molecular Biology, 4th Ed. Philadelphia: Lippincott, 2003:216-217.

O eritrócito maduro não pode sintetizar novas proteínas de membrana ou lipídeos. Entretanto, os lipídeos de membrana podem ser facilmente trocados com lipídeos de lipoproteínas circulantes. O sistema da glutationa protege as proteínas e os lipídeos de danos oxidativos.

IV. AGENTES QUE AFETAM A LIGAÇÃO DE OXIGÊNIO

Os principais agentes que afetam a ligação de oxigênio à hemoglobina são mostrados na Figura 44.11.

A. 2,3-Bisfosfoglicerato

O 2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG) é formado nas células sangüíneas vermelhas a partir do intermediário glicolítico 1,3-bisfosfoglicerato, como indicado na Figura 44.1. O 2,3-BPG liga-se à hemoglobina na cavidade central formada pelas quatro subunidades, aumentando a energia requerida para as mudanças conformacionais que facilitam a ligação de oxigênio. Então, o 2,3-BPG diminui a afinidade da hemoglobina por oxigênio. Portanto, o oxigênio não é ligado tão facilmente (isto é, liberado mais rapidamente nos tecidos) quando a hemoglobina contém 2,3-BPG.

Os defeitos nas proteínas do citoesqueleto do eritrócito levam à anemia hemolítica. Estresses de cisalhamento (*shear stresses*) na circulação resultam na perda de pedaços de membrana da célula vermelha. Assim que a membrana é perdida, a célula sangüínea vermelha se torna mais esférica e perde sua deformabilidade. Como as células se tornam mais esféricas, é mais provável que se rompam em resposta ao estresse mecânico na circulação, ou que sejam capturadas e destruídas no baço.

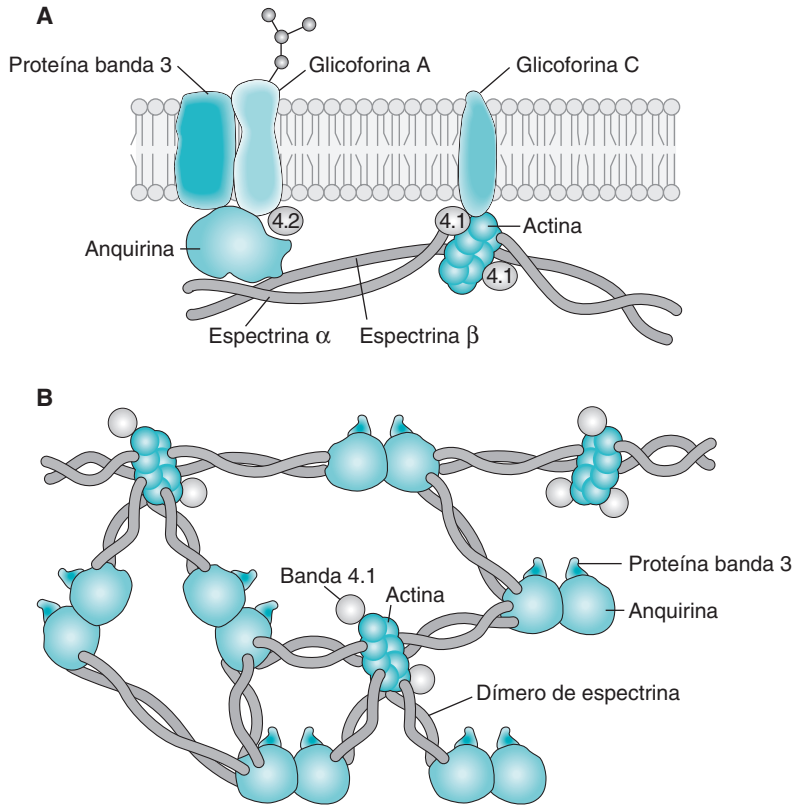


Figura 44.10 Uma visão generalizada do citoesqueleto de eritrócito. **A.** A principal proteína, a espectrina, é ligada à membrana plasmática por meio de interações com a anquirina e a banda 3, ou com a actina, a banda 4.1 e a glicoforina. Outras proteínas nesse complexo, mas não mostradas, são a tropomiosina e a aducina. **B.** Uma visão do lado interno da célula, observando o citoesqueleto. Essa visão mostra as ligações cruzadas dos dímeros de espectrina com a actina e os sítios de ancoramento da banda 3.

$HbO_2 \longrightarrow Hb + O_2$

① Íons hidrogênio

② 2,3-Bisfosfoglicerato

③ Ligação covalente do CO_2

Figura 44.11 Agentes que afetam a ligação de oxigênio à hemoglobina. A ligação de íons hidrogênio, 2,3-bisfosfoglicerato e dióxido de carbono à hemoglobina diminui sua afinidade pelo oxigênio.

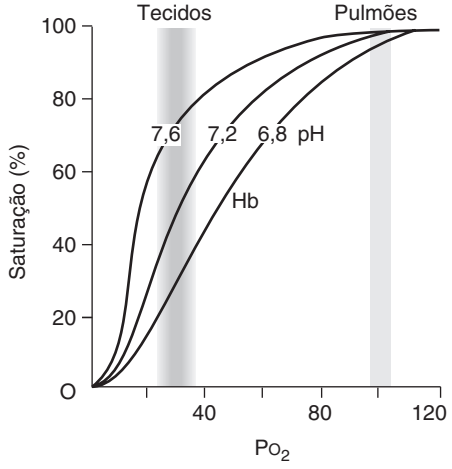


Figura 44.12 Efeitos do pH nas curvas de saturação de oxigênio. Quando o pH decresce, diminui a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, produzindo o efeito Bohr.

B. Ligação de Próton (Efeito Bohr)

A ligação de prótons pela hemoglobina diminui sua afinidade por oxigênio (Figura 44.12), contribuindo para um fenômeno conhecido como efeito Bohr (Figura 44.13). O pH do sangue diminui quando ele entra nos tecidos (e a concentração de prótons aumenta), pois o CO_2 produzido pelo metabolismo é convertido em ácido carbônico pela reação catalisada pela anidrase carbônica nas células sangüíneas vermelhas. A dissociação do ácido carbônico produz prótons que reagem com muitos resíduos de aminoácidos na hemoglobina, promovendo alterações conformacionais que causam a liberação de oxigênio.

Nos pulmões, esse processo é revertido. O oxigênio se liga à hemoglobina, promovendo uma liberação de prótons, os quais combinam com bicarbonato para formar ácido carbônico. Esse decréscimo de prótons promove um aumento no pH sangüíneo. A anidrase carbônica cliva o ácido carbônico em H_2O e CO_2, e o CO_2 é exalado. Então, em tecidos nos quais o pH sangüíneo é baixo devido ao CO_2 produzido pelo metabolismo, o oxigênio é liberado da hemoglobina. Nos pulmões, onde o pH do sangue é mais elevado porque CO_2 está sendo exalado, o oxigênio se liga à hemoglobina.

C. Dióxido de Carbono

Embora a maioria do CO_2 produzido pelo metabolismo nos tecidos seja carregada para os pulmões como bicarbonato, um pouco do CO_2 é covalentemente ligado à hemoglobina (Figura 44.14). Nos tecidos, o CO_2 forma adutos de carbamato com os grupos N-terminais da desoxiemoglobina e estabiliza a conformação desoxi. Nos pulmões, onde a pO_2 é alta, o oxigênio se liga à hemoglobina, e o CO_2 ligado é liberado.

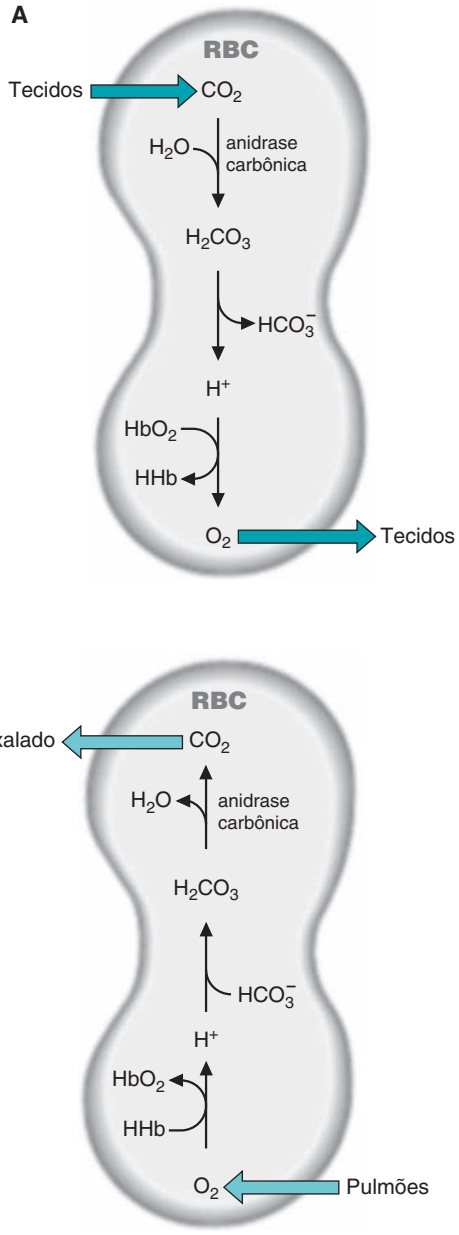


Figura 44.13 Efeito do H^+ na ligação de oxigênio à hemoglobina (Hb). **A.** Nos tecidos, o CO_2 é liberado. Nas células sangüíneas vermelhas, esse CO_2 produz ácido carbônico, que libera prótons. Os prótons se ligam à hemoglobina, promovendo a liberação do oxigênio para os tecidos. **B.** Nos pulmões, ocorrem as reações reversas. O O_2 se liga à Hb protonada, promovendo a liberação de prótons. Eles se ligam ao bicarbonato (HCO_3^-), formando ácido carbônico, que é clivado em água e CO_2, o qual é exalado.

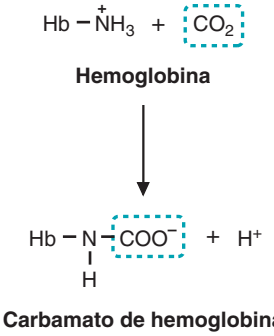
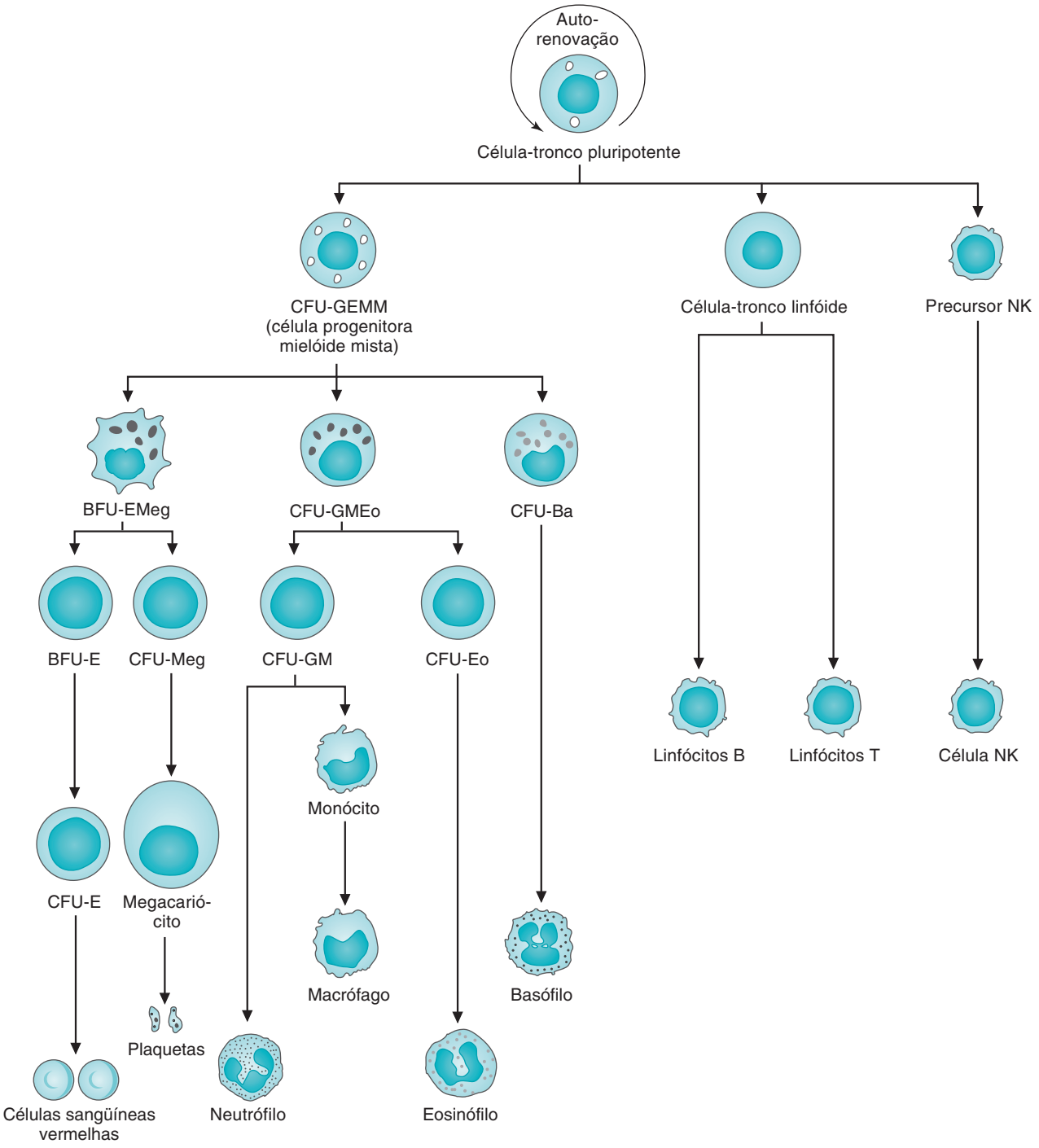


Figura 44.14 Ligação de CO_2 à hemoglobina. O CO_2 produz carbamatos com grupos amino N-terminais das cadeias de Hb. Aproximadamente 15% do CO_2 do sangue são transportados aos pulmões ligados à Hb. A reação libera prótons, que contribuem para o efeito Bohr. O efeito total é a estabilização da forma desoxi da hemoglobina.

V. HEMATOPOIESE

Os vários tipos de células (linhagens) que compõem o sangue estão constantemente sendo produzidos na medula óssea. Todas as linhagens celulares são descendentes de uma célula-tronco hematopoiética, que é renovável durante a vida do indivíduo. A população de células-tronco hematopoiéticas é muito pequena. Estimativas variam entre 1 e 10 por 10^5 células da medula óssea. Na presença de sinais apropriados, as células-tronco hematopoiéticas proliferam-se, diferenciam-se e amadurecem em qualquer dos tipos de células que compõem o sangue (Figura 44.15).

Populações de células hematopoiéticas enriquecidas com células-tronco podem ser isoladas pela tipagem de células ativadas por fluorescência, com base na expressão de marcadores específicos de superfície. O aumento na população de células-tronco, em células usadas para um transplante de medula óssea, aumenta a chance de sucesso do transplante.



Figuara 44.15 A árvore hematopoiética. Todas as células sangüíneas originam-se a partir de uma célula-tronco pluripotente auto-regenerativa. Diferentes citocinas são necessárias em cada passo para que esses eventos ocorram. CFU = unidade formadora de colônia (do inglês *colony-forming unit*); BFU = unidade formadora de *burst* (do inglês *burst-forming unit*).

As leucemias, doenças malignas do sangue, aparecem quando uma célula hematopoiética diferenciada não completa seu programa de desenvolvimento, mas permanece em um estado proliferativo imaturo. As leucemias têm sido encontradas em muitas linhagens hematopoiéticas.

A diferenciação hematopoiética é hierárquica. O número de destinos que uma célula sangüínea em desenvolvimento pode adotar torna-se progressivamente restrito. Os progenitores hematopoiéticos são designados unidade de linhagens formadoras de colônia ou unidade eritróide formadora de colônia (CFU-E, do inglês *colony-forming unit-erythroid*). Progenitores que formam colônias muito grandes são denominados unidades formadoras de *burst*.

A. Citocinas e Hematopoiese

As células progenitoras em desenvolvimento na medula óssea crescem em proximidade com as células do estroma. Essas incluem fibroblastos, células endoteliais, adipócitos e macrófagos. As células do estroma formam uma matriz extracelular e secretam fatores de crescimento que regulam o desenvolvimento hematopoiético.

Os fatores de crescimento hematopoiéticos têm múltiplos efeitos. Um fator de crescimento individual pode estimular a proliferação, a diferenciação e a maturação das células progenitoras e também pode impedir a apoptose. Esses fatores também podem ativar várias funções no interior da célula madura. Alguns fatores de crescimento hematopoiéticos atuam em múltiplas linhagens, enquanto outros têm alvos mais limitados.

A maioria dos fatores de crescimento hematopoiéticos é reconhecida por receptores pertencentes à superfamília de receptores de citocinas. A união de um ligante ao receptor resulta na agregação do receptor, a qual induz a fosforilação de janus-quinases (JAK, do inglês *Janus kinases*). As JAK são uma família de tirosina-quinases citoplasmáticas que são ativas quando fosforiladas (ver Capítulo 11, Seção III.C, e Figura 11.15). As JAK ativadas, então, fosforilam o receptor de citocina. A fosforilação do receptor cria regiões de ancoramento onde se ligam moléculas adicionais de transdução de sinal, incluindo membros da família de transcrição de ativadores e transdutores de sinais (STAT, do inglês *signal transducer and activator of transcription*) de fatores de transcrição. As JAK fosforilam as STAT, as quais se dimerizam e se translocam para o núcleo, onde ativam genes-alvo. Proteínas adicionais de transdução de sinal se ligam ao receptor de citocinas fosforilado, conduzindo à ativação da via Ras/Raf/MAP-quinase. São também ativadas outras vias, algumas das quais conduzem à inibição da apoptose (ver Capítulo 18).

A resposta à ligação de citocinas em geral é transitória, pois a célula contém múltiplos reguladores negativos de sinalização de citocinas. A família de proteínas silenciadoras da sinalização de citocinas (SOCS, do inglês *silencer of cytokine signaling*) é induzida pela ligação de citocinas. Um membro dessa família se liga ao receptor fosforilado e impede a ancoragem de proteínas de transdução de sinal. Outras proteínas SOCS se ligam às JAK e as inibem. É incerto se a inibição de JAK por SOCS é uma conseqüência da inibição estérica ou se SOCS recrutam fosfatases que, então, desfosforilam as JAK (Figura 44.16).

A SHP-1 é uma tirosina-fosfatase encontrada primariamente em células hematopoiéticas que é necessária para o desenvolvimento apropriado das linhagens mielóide e linfóide. Sua função é desfosforilar JAK2, conseqüentemente inativando-a.

As STAT também são inativadas. A família de proteínas inibidoras de STAT ativada (PIAS, do inglês *protein inhibitors of activated STAT*) se liga às STAT fosforiladas e impede sua dimerização ou promove a dissociação de dímeros de STAT. As STAT também podem ser inativadas por desfosforilação, embora as fosfatases específicas ainda não tenham sido identificadas, ou por destinar STAT ativadas para a degradação proteolítica.

B. Eritropoiese

A produção de células vermelhas é regulada pela demanda de oxigênio entregue aos tecidos. Em resposta à oxigenação tecidual reduzida, o rim libera o hormônio eritropoietina, o qual estimula a multiplicação e a maturação de progenitores eritróides. A progressão ao longo da via eritróide inicia com a célula-tronco e continua através da célula progenitora mielóide mista (CFU-GEMM, unidade formadora de colônia granulocítica, eritróide, de monócitos e de megacariócitos, do inglês *colony-forming unit-granulocyte, erythroid, monocyte, megakaryocyte*), da unidade eritróide formadora de *burst* (BFU-E, do inglês *burst-forming unit-erythroid*), da unidade eritróide formadora de colônia (CFU-E, do inglês *colony-forming unit-erythroid*) e do primeiro precursor reconhecível de célula vermelha, o normoblasto. Cada normoblasto sofre mais quatro ciclos de divisão celular. Durante esses quatro ciclos, o núcleo torna-se menor e mais condensado. Após a última divisão, o núcleo é expulso. Nessa fase, a célula vermelha é chamada de reticulócito. Os reticulócitos ainda contém ribossomos e mRNA e são capazes de sintetizar hemoglobina. Eles são liberados da medula óssea e circulam durante 1 a 2 dias. Os reticulócitos amadurecem no baço, onde os ribossomos e o mRNA são perdidos (Figura 44.17).



As células da medula óssea podem ser cultivadas em meio semi-sólido com a adição de fatores de crescimento apropriados. Após 14 a 18 dias em cultura, podem ser vistas colônias de células sangüíneas. O tipo (linhagem) dessas células pode ser determinado com base nas propriedades morfológicas ou de coloração. A maioria das colônias será de uma única linhagem, indicando a descendência de um progenitor hematopoiético que foi destinado para uma linhagem. Ocasionalmente, uma colônia multilinhagem será obtida, indicando que foi derivada de um progenitor hematopoiético mais primitivo.



No distúrbio de imunodeficiência grave combinada (SCID, do inglês *severe combinated immunodeficiency disease*) ligada ao X, a forma mais comum de SCID, os linfócitos T circulantes não são formados, e os linfócitos B não estão ativos. O gene afetado codifica a cadeia γ do receptor de interleucina 2. Os receptores mutantes são incapazes de ativar JAK3, e as células não são responsivas a citocinas que estimulam o crescimento e a diferenciação. Lembre-se também que a deficiência de adenosina-desaminase (ver Capítulo 41), a qual não é ligada ao X, também conduz a uma forma de SCID, mas por razões diferentes.



Têm-se identificado famílias cujos membros têm um receptor mutante de eritropoietina (epo) que é incapaz de ligar SHP-1. A eritropoietina é a citocina hematopoiética que estimula a produção de células sangüíneas vermelhas. Os indivíduos com o receptor mutante de epo têm uma porcentagem maior do que o normal de células sangüíneas vermelhas na circulação, pois o mutante do receptor epo não pode ser desativado por SHP-1. Nesse caso, a eritropoietina causa ativação sustentada de JAK2 e STAT 5.



A alteração da sinalização JAK/STAT está associada ao desenvolvimento de leucemias mielóides e linfóides, neutropenia congênita grave, uma condição na qual os níveis de neutrófilos circulantes estão gravemente reduzidos, e anemia de Fanconi, a qual é caracterizada por falência da medula óssea e suscetibilidade aumentada à malignidade.

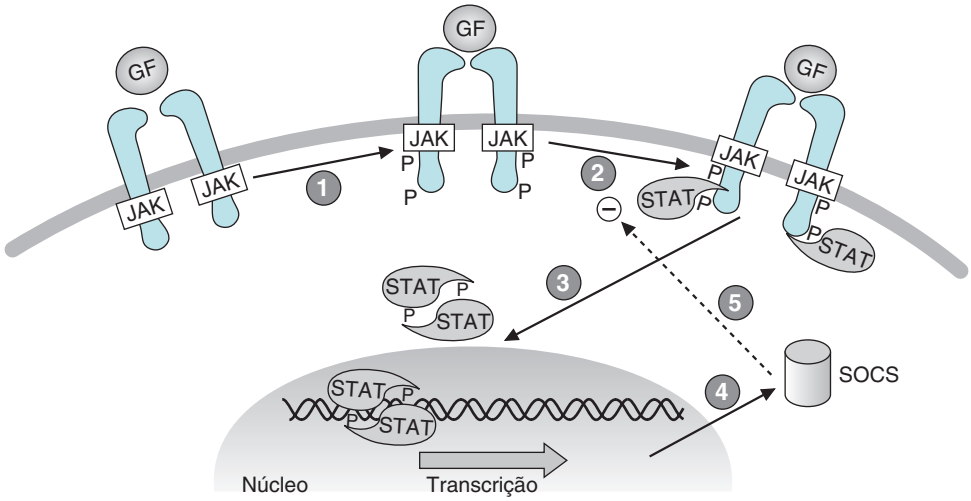


Figura 44.16 Sinalização por citocinas através da via JAK/STAT. 1. A ligação de citocina aos receptores inicia a dimerização e a ativação da JAK-quinase, a qual fosforila o receptor em resíduos de tirosina. 2. As proteínas STAT se ligam aos receptores ativados, e eles se autofosforilam. 3. As proteínas STAT fosforiladas se dimerizam, vão para o núcleo e iniciam a transcrição gênica. 4. Uma das proteínas cuja síntese é estimulada por STAT é a SOCS (supressor da sinalização de citocinas, do inglês *supressor of cytokine signaling*), a qual inibe ativações posteriores de proteínas STAT (círculo 5) por uma variedade de mecanismos.

C. Anemias Nutricionais

Cada pessoa produz aproximadamente 10^{12} células sangüíneas vermelhas por dia. Como muitas células precisam ser produzidas, deficiências nutricionais de ferro, de vitamina B12 e de folato evitam a formação adequada de células sangüíneas vermelhas. A aparência física das células, no caso de uma anemia nutricional, freqüentemente fornece um indicativo da natureza da deficiência.

No caso da deficiência de ferro, as células são menores e menos coradas do que as células normais. A falta de ferro resulta em síntese do heme diminuída, a qual, por sua vez, afeta a síntese de globina. As células vermelhas em amadurecimento seguem seu programa normal de desenvolvimento e dividem-se até que tenham alcançado a concentração apropriada de hemoglobina. As células sangüíneas vermelhas em desenvolvimento deficientes em ferro (e hemoglobina) continuam dividindo-se além da etapa

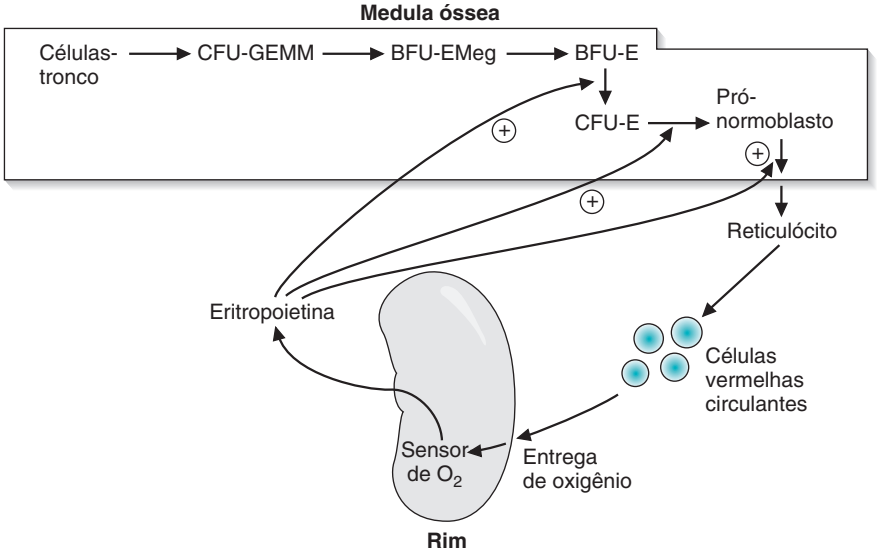


Figura 44.17 Estimulação da maturação eritrocitária por eritropoietina. As abreviaturas estão descritas no texto.

normal de parada, resultando em células vermelhas pequenas (microcíticas). As células também são menos coradas devido à perda da hemoglobina, quando comparadas com as células normais (então, isso resulta em uma anemia microcítica e hipocrômica).

Deficiências de folato ou de vitamina B12 podem causar anemia megaloblástica, na qual as células são maiores do que o normal. Folato e vitamina B12 são necessários para a síntese de DNA (ver Capítulos 40 e 41). Quando essas vitaminas estão deficientes, a replicação do DNA e a divisão nuclear não acompanham o ritmo da maturação citoplasmática. Conseqüentemente, o núcleo é expulso antes que tenha ocorrido o número adequado de divisões celulares, o volume celular é maior do que deveria ser, e menos células são produzidas.

VI. HEMOGLOBINOPATIAS, PERSISTÊNCIA HEREDITÁRIA DA HEMOGLOBINA FETAL E TROCA DA HEMOGLOBINA

A. Hemoglobinopatias: Desordens na Estrutura ou na Quantidade das Cadeias de Globina

Mais de 700 hemoglobinas mutantes diferentes foram descobertas. A maioria ocorre por uma única substituição de base, resultando em uma única substituição de aminoácido. Muitas foram descobertas em triagens de populações e não são clinicamente significantes. Entretanto, em pacientes com hemoglobina S (HbS, anemia falciforme; *sickle cell anemia*), a mutação mais comum de hemoglobina, a substituição de aminoácido, tem um efeito devastador no homozigoto (ver **Will Sichel** no Capítulo 6). Outra variante comum da hemoglobina, a HbC, resulta de uma substituição de glu por lys na mesma posição da mutação da HbS. Essa mutação tem dois efeitos. Ela promove a perda de água pela célula, por ativar o transporte de K^+ por um mecanismo desconhecido, resultando em uma concentração de hemoglobina maior do que o normal no interior da célula. A substituição de aminoácido também diminui substancialmente a solubilidade da hemoglobina no homozigoto, resultando em uma tendência da hemoglobina mutante a precipitar no interior da célula vermelha, embora, ao contrário das células falciformes, aquela não se torne deformada. Os homozigotos para mutações da HbC têm uma anemia hemolítica branda. Os indivíduos heterozigotos não são clinicamente afetados.

B. Talassemias

Para uma função ótima, as cadeias globinas α e β da hemoglobina precisam ter uma estrutura adequada e ser sintetizadas na proporção de 1:1. O excesso de uma subunidade resulta na classe de doenças chamadas de talassemias. Essas anemias são clinicamente muito heterogêneas, pois podem surgir por mecanismos múltiplos. Como a anemia falciforme, as mutações da talassemia fornecem resistência à malária no estado heterozigoto.

As mutações com substituição em um único aminoácido na hemoglobina, que originam uma subunidade globina de baixa estabilidade, constituem um dos mecanismos que dão origem à talassemia. Mais comuns, entretanto, são as mutações que resultam na síntese diminuída de uma subunidade. As α-talassemias geralmente originam-se a partir da deleção completa de genes. São encontradas duas cópias do gene da globina α em cada cromossomo 16, para um total de 4 genes de globinaα por célula precursora. Se uma cópia do gene é deletada, o tamanho e a concentração de hemoglobina das células sangüíneas vermelhas individuais são minimamente reduzidos. Se duas cópias são deletadas, as células sangüíneas vermelhas são de tamanho reduzido (microcíticas) e têm concentração reduzida de hemoglobina (hipocrômicas). Entretanto, o indivíduo geralmente não é anêmico. A perda de três genes de globinaα causa uma anemia microcítica e hipocrômica moderadamente grave (hemoglobina de 7 a 10 g/dL) com es-

Há duas maneiras pelas quais um indivíduo poderia ter dois genes de globina α deletados. Em um dos casos, uma cópia do cromossomo 16 poderia ter ambos os genes da globina α deletados, enquanto a outra cópia teria dois genes funcionais α. Em um segundo caso, ambos os cromossomos poderiam ter perdido uma das suas duas cópias do gene da globina α. A primeira possibilidade é mais comum entre os asiáticos; a última, entre os africanos.

Um registro de mutações de hemoglobina é encontrado no International Hemoglobin Information Center http://e20.manu.edu.mk/rcgeb/ihic/.

Uma complicação da anemia falciforme é a formação elevada de cálculos biliares. Uma crise falciforme acompanhada pela destruição intravascular de células sangüíneas vermelhas (hemólise), experimentada por pacientes com anemia falciforme, tal como **Will Sichel**, aumenta a quantidade de bilirrubina não-conjugada, que é transportada para o fígado. Se a concentração dessa bilirrubina não-conjugada excede a capacidade dos hepatócitos em conjugá-la em diglicuronídeo mais solúvel, pela interação com UDP-glicuronato, os níveis de bilirrubina total e de não-conjugada poderiam se elevar no sangue. Uma quantidade maior de bilirrubina não-conjugada poderia ser secretada na bile pelo fígado. O aumento na bilirrubina não-conjugada (a qual não é muito hidrossolúvel) resulta em sua precipitação no lúmen da vesícula biliar, conduzindo à formação de pedras biliares pigmentadas (bilirrubinato de cálcio).

A HbC é encontrada em alta freqüência na África Ocidental, em regiões com uma freqüência elevada de HbS. Conseqüentemente, heterozigotos compostos para HbS e HbC não são incomuns em algumas regiões da África e entre afro-americanos. Os indivíduos HbS/HbC têm significativamente mais hematopatologias do que os indivíduos com traços de anemia falciforme (HbA/HbS). A polimerização de HbS desoxigenada é dependente da concentração de HbS no interior da célula. A presença de HbC no heterozigoto composto aumenta a concentração de HbS, por estimular o efluxo de K^+ e de água da célula. Uma vez que a globina da HbC é produzida mais lentamente do que a da HbA ou da HbS, a proporção de HbS tende a ser mais elevada nas células HbS/HbC do que nas células de indivíduos com traços de anemia falciforme (HbS/HbA). A via na qual múltiplas mutações melhoram ou exacerbam doenças hematológicas tem fornecido indícios para os mecanismos moleculares da função da hemoglobina e da regulação durante o desenvolvimento.



A diferença na composição de aminoácidos entre cadeias β de HbA e cadeias γ de HbF resulta em alterações estruturais que induzem a HbF a ter uma menor afinidade por 2,3-BPG do que a hemoglobina adulta (HbA) e, por isso, uma maior afinidade por oxigênio. Portanto, o oxigênio liberado da hemoglobina materna (HbA) é prontamente ligado pela HbF no feto. Então, a transferência de oxigênio, a partir da mãe para o feto, é facilitada pela diferença estrutural entre a molécula de hemoglobina da mãe e a do feto.

plenomegalia (baço aumentado). A ausência de quatro genes de globina α (hidropsia fetal) em geral é fatal *in utero*.

Como discutido no Capítulo 14, a β-talassemia é uma doença genética muito heterogênea. A síntese insuficiente de globina β pode resultar de deleções, mutações na região promotora e mutações na junção de *splice*. Os heterozigotos para β^+ (alguma síntese de cadeia globina) ou β nulo (β^0, ausência de síntese de cadeia globina) em geral são assintomáticos, apesar de eles tipicamente terem células sangüíneas vermelhas microcíticas, hipocrômicas e poderem ter uma anemia branda. Os homozigotos β^+/β^+ têm uma anemia de gravidade variável, os heterozigotos compostos β^+/β^0 tendem a ser mais gravemente afetados, e os homozigotos β^0/β^0 têm doença grave. Em geral, as doenças de deficiência da cadeia β são mais graves do que as doenças de deficiência da cadeia β. Excesso de cadeias β forma um homotetrâmero, a hemoglobina H (HbH), a qual é inútil para a entrega de oxigênio aos tecidos devido à sua alta afinidade por oxigênio. Com o envelhecimento das células sangüíneas vermelhas, a HbH irá precipitar nas células, formando corpos de inclusão. As células sangüíneas vermelhas com corpos de inclusão têm uma vida encurtada, pois é mais provável que sejam captadas e destruídas no baço. As cadeias α em excesso são incapazes de formar um tetrâmero estável. Entretanto, o excesso de cadeias α precipita nos eritrócitos em cada estágio de desenvolvimento. A precipitação de cadeias α em precursores eritróides resulta em sua destruição ampla, um processo chamado de eritropoiese ineficaz. As cadeias α precipitadas também danificam a membrana das células vermelhas devido à oxidação de lipídeos facilitada pelo heme por meio de espécies reativas de oxigênio. Ambos, lipídeos e proteínas, particularmente a banda 4.1, são danificados.

C. Persistência Hereditária de Hemoglobina Fetal

A hemoglobina fetal (HbF), predominante do período fetal, consiste em duas cadeias α e duas cadeias γ, enquanto a Hb do adulto consiste em duas cadeias α e duas cadeias β. O processo que regula a conversão da HbF em HbA é chamado de troca da hemoglobina. A mudança não é de 100%; a maioria dos indivíduos continua a produzir uma pequena quantidade de HbF ao longo da vida. Entretanto, algumas pessoas, que são clinicamente normais, produzem níveis anormalmente elevados (de até 100%) de hemoglobina fetal (hemoglobina F) no lugar de HbA. Os pacientes com hemoglobinopatias, como β-talassemia ou anemia falciforme, com freqüência têm doença menos grave se seus níveis de hemoglobina fetal forem elevados. Um objetivo dos muitos estudos sobre a troca da hemoglobina é descobrir uma forma de reativar a transcrição dos genes da globina γ para compensar a síntese defeituosa da globina β. Os indivíduos que expressam hemoglobina fetal após o nascimento têm persistência hereditária de hemoglobina fetal (HPFH, do inglês *hereditary persistence of fetal hemoglobin*).



Os indivíduos com anemia falciforme ou β-talassemia (geralmente) têm os *loci* de globina γ intactos. Se pudesse ser encontrada uma maneira para reativar os *loci* de globina γ (o fármaco hidroxiuréia é um potencial candidato para isso), essa poderia ser uma opção terapêutica atrativa para o tratamento dessas doenças.

1. FORMAS DE NÃO-DELEÇÃO DE HPFH

As formas de não-deleção de HPFH são aquelas que derivam de mutações pontuais nos promotores Aγ e Gγ. Quando essas mutações são encontradas com mutações de células em foice (falciformes) ou β-talassemia, elas têm um efeito de melhoramento sobre a doença, devido à produção aumentada de cadeias γ.



Uma fonte adicional da variação nos níveis de hemoglobina fetal é o *locus* FCP (produtor de célula F; do inglês, *F-cell producing*) no braço curto do cromossomo X, em uma região que não parece ser suscetível à inativação do X. Indivíduos normais e indivíduos com hemoglobinopatias apresentam variação na quantidade de hemoglobina F que produzem. Em estudos com indivíduos normais, um nível elevado de hemoglobina F parece ser herdado como um traço dominante ligado ao X. O *locus* FCP é responsável por uma quantidade importante de variação na hemoglobina F, encontrada em pacientes com anemia falciforme. A proteína codificada no *locus* FCP não foi identificada; especulações atuais indicam que ela é um fator de transcrição envolvido na regulação do *locus* da globina.

2. FORMAS DE DELEÇÃO DE HPFH

Na deleção de HPFH, ambos os genes βe δ foram deletados a partir de uma cópia do cromossomo 11, e somente a HbF pode ser produzida. Em alguns indivíduos, a globina fetal permanece ativada após o nascimento, e HbF suficiente é produzida, sendo os indivíduos clinicamente normais. Outros indivíduos com deleções similares que removem totalmente os genes β e δ não produzem hemoglobina fetal suficiente para compensar a deleção e são considerados pacientes com $\delta^0\beta^0$-talassemia. Acredita-se que a diferença entre esses dois efeitos seja o sítio no qual as deleções terminam no interior do grupo de gene da globina β. Na deleção HPFH, seqüências estimuladoras potentes em 3' do gene da globina β são reposicionadas, devido à deleção, ativando promotores γ. Em indivíduos com $\delta^0\beta^0$-talassemia, as seqüências estimuladoras não foram reposicionadas, de tal forma que podem interagir com os promotores γ.

D. Troca da Hemoglobina: um Processo ao Longo do Desenvolvimento, Controlado por Fatores de Transcrição

Em seres humanos, os megaloblastos embrionários (a célula sangüínea vermelha embrionária é grande e denominada "blasto", pois retém seu núcleo) são primeiramente produzidos no saco vitelino, aproximadamente 15 dias após a fertilização. Após seis semanas, o sítio de eritropoiese muda para o fígado. O fígado e, em menor extensão, o baço são os principais sítios de eritropoiese fetal. Nas últimas semanas antes do nascimento, a medula óssea inicia a produção de células sangüíneas vermelhas. De 8 a 10 semanas após o nascimento, a medula óssea é o único sítio de produção de eritrócitos. A composição da hemoglobina também muda com o desenvolvimento, pois os *loci* das globinas α e β têm múltiplos genes, que são diferentemente expressos durante o desenvolvimento (Figura 44.18).

E. Estrutura e Regulação Transcricional dos *Loci* do Gene de Globinas α e β

O *locus* da globina α no cromossomo 16 contém o gene embrionário ζ (zeta) e duas copias do gene α, α_2 e α_1. O *locus* da globina β no cromossomo 11 contém o gene embrionário ε, duas cópias do gene fetal da globina β Gγ e Aγ (os quais diferem por um aminoácido) e dois genes adultos, δ e β. A ordem dos genes no cromossomo é pa-

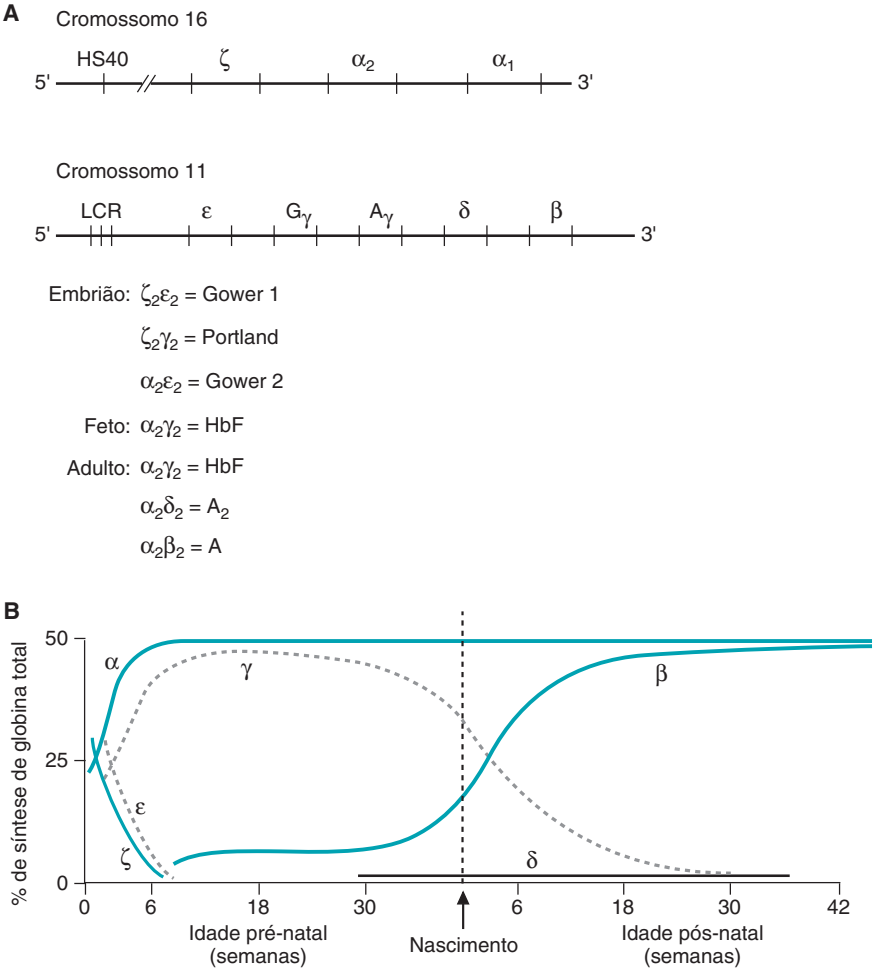


Figura 44.18 Grupos de genes da globina e expressão durante o desenvolvimento. **A.** O grupo de genes da globina com os genes α no cromossomo 16 e os genes β no cromossomo 11. LCR = região controladora do *locus*. **B.** A troca da síntese da cadeia de globina durante o desenvolvimento.

ralela à ordem de expressão dos genes durante o desenvolvimento (ver Figura 44.18). As hemoglobinas embrionárias são $\zeta_2\varepsilon_2$ (Gower 1), $\zeta_2\gamma_2$ (Portland) e $\alpha_2\gamma_2$ (Gower 2). A hemoglobina fetal é predominantemente $\alpha_2G_{\gamma2}$. O tipo principal no adulto é a $\alpha_2\beta_2$ (hemoglobina A); o tipo de menor predominância no adulto é a $\alpha_2\delta_2$ (hemoglobina A_2). A hemoglobina fetal encontrada em células adultas é a $\alpha_2A_{\gamma2}$. O período de troca da hemoglobina é controlado por um relógio desenvolvente, que não é alterado de forma significativa por condições ambientais e é relacionado com mudanças na expressão de fatores de transcrição específicos. Recém-nascidos prematuros convertem a HbF em HbA de acordo com suas idades gestacionais.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

As células sangüíneas vermelhas de **Spiro Site** são deficientes em espectrina. Essa deficiência diminui a capacidade dos eritrócitos de manter a área de superfície redundante necessária para conservar a deformabilidade. O estresse mecânico na circulação causa perda progressiva de pedaços da membrana. À medida que os componentes da membrana são perdidos, as células sangüíneas vermelhas de **Spiro Site** se tornam esféricas e incapazes de deformar. O baço está aumentado devido ao grande número de células sangüíneas vermelhas que ficam presas dentro dele. Os eritrócitos são rompidos por estresse mecânico na circulação e por macrófagos no baço. Conseqüentemente, esse processo hemolítico resulta em uma anemia. Os cálculos biliares foram o resultado de grandes quantidades de bilirrubina produzidas e armazenadas na vesícula biliar devido à hemólise. As células sangüíneas vermelhas anormalmente arredondadas vistas no esfregaço sangüíneo são características de esferocitose hereditária.

As mutações nos genes para anquirina, espectrina β ou banda 3 são responsáveis por três quartos dos casos de esferocitose hereditária, enquanto as mutações nos genes para espectrina α ou banda 4.2 são responsáveis pelo restante. A conseqüência da síntese defeituosa de qualquer das proteínas do citoesqueleto da membrana resulta na formação imprópria desse citoesqueleto. Excessos de proteínas de membrana são catabolizados, resultando em uma deficiência total de espectrina. **Spiro Site** foi submetido a uma esplenectomia. Como o baço era o principal sítio de destruição das células sangüíneas vermelhas, a anemia melhorou significativamente após a cirurgia. Ele teve alta hospitalar com a recomendação de tomar suplemento de folato diariamente. Foi explicado para o Sr. Site que, devido ao fato de o baço ter um papel principal na proteção contra certos agentes bacterianos, ele necessitaria de imunizações contra pneumococo, meningococo e *Haemophilus influenzae* tipo b.

Foi descoberto que **Anne Niemick** era heterozigota composta para mutações no gene da globina β. Em um dos genes, uma mutação na posição 6 do íntron 1 converteu T em C. A presença dessa mutação, por razões desconhecidas, aumenta a produção de HbF. O outro gene da globina β tinha uma mutação na posição 110 do éxon 1 (uma mutação de C para T). Ambas as cadeias de globina β têm atividade reduzida, mas combinada com uma expressão aumentada de HbF, resulta em uma β^+-talassemia.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Como é controlada a troca da hemoglobina? Embora ainda existam muitas questões não-respondidas, alguns dos mecanismos moleculares foram identificados. O *locus* da globina α abrange ~100 kb. O principal elemento regulatório, a HS 40, é uma região do DNA sensível a nuclease que se encontra a 5' do gene ζ (ver Figura 44.18). A HS 40 atua como um estimulador eritróide-específico que interage com a região regulatória anterior dos genes ζ e α e estimula suas transcrições. A região imediatamente a 5' do gene ζ contém a seqüência regulatória responsável por silenciar a transcrição do gene ζ. Entretanto, a seqüência exata e os fatores de transcrição responsáveis por esse silenciamento ainda não foram identificados. Mesmo depois do silenciamento, baixos níveis de transcritos do gene ζ ainda são produzidos após o período embrionário; entretanto, não são traduzidos. Isso ocorre porque ambos os transcritos globina ζ e globina α têm regiões que se ligam a um complexo de ribonucleoproteína mensageira (mRNP) determi-

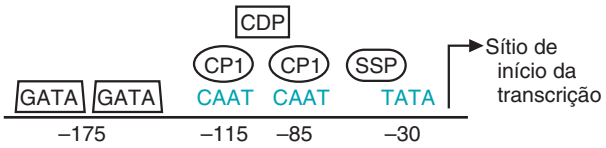


Figura 44.19 O promotor do gene da globina γ indicando alguns dos sítios de ligação de fatores de transcrição associados com a persistência hereditária de hemoglobina fetal.

nante de estabilidade. A ligação a esse complexo impede a degradação do mRNA. O RNA mensageiro de globina α tem afinidade muito maior pelo mRNP do que o mensageiro da globina ζ, o que leva o mensageiro da globina ζ a ser rapidamente degradado.

O *locus* da globina β abrange ~100 kb. De 5 a 25 kb acima do gene ε está a região-controle do *locus* (LCR, do inglês *locus control region*), contendo cinco sítios hipersensíveis a DNAse. A LCR é necessária para a função do *locus* da globina β. Ela mantém a cromatina de todo o *locus* em uma configuração ativa e atua como uma região estimuladora e ponto de entrada para os fatores que transcrevem os genes do *locus* globina β. Um modelo do controle da troca da hemoglobina postula que as proteínas ligadas aos promotores dos genes das globinas ε, γ e β competem para interagir com as regiões estimuladoras da LCR.

Cada gene no *locus* da globina β tem elementos regulatórios individuais – um promotor, silenciadores ou intensificadores que controlam sua regulação desenvolvente. Os promotores que controlam os genes das globinas γ e β têm sido intensamente estudados devido à sua importância clínica.

O gene da globina ε, como o gene da globina-ζ, tem silenciadores na região regulatória 5'. A ligação de proteínas nessas regiões desliga o gene ε.

A região proximal ao promotor do gene da globina γ tem múltiplos sítios de ligação de fatores de transcrição (Figura 44.19). Muitos mapas de mutações HPFH para esses sítios de ligação de fatores de transcrição ocorrem tanto por destruição de um sítio, como pela criação de um novo, mas os mecanismos exatos ainda não são conhecidos. Dois sítios que parecem ser significativos no controle da troca da hemoglobina são o sítio de ligação de proteína seletora de estágio (SSP, do inglês *stage selector protein*) e a região CAAT *box*. Quando o complexo SSP é ligado ao promotor, o gene da globina γ tem uma vantagem competitiva sobre o promotor da globina β, por interagir com a LCR. Um segundo fator de transcrição, Sp1, também se liga no sítio de ligação SSP, onde pode atuar como um repressor, e a competição entre esses dois complexos de proteínas pelo sítio de ligação SSP ajuda a determinar a atividade do gene da globina γ. Um mecanismo similar parece operar na região CAAT *box*. O CP1, embora sendo um ativador da transcrição, liga-se na região CAAT *box*. A proteína de deslocamento de CAAT (CDP, do inglês *CAAT displacement protein*) é um repressor que se liga no sítio CAAT e desloca o CP1. Parte do mecanismo de troca da hemoglobina parece ser a ligação de repressores na região regulatória anterior do gene da globina ε e da globina γ.

O gene da globina β também tem sítios para múltiplos fatores de transcrição em suas regiões regulatórias. As mutações que afetam a ligação de fatores de transcrição podem produzir talassemia por reduzirem a atividade do promotor da globina β. Há também uma região estimuladora 3' do sinal poli A que parece ser necessária para a ativação estágio-específica do promotor da globina β.



Os camundongos transgênicos constituem uma ferramenta incalculável para estudar os papéis dos fatores de transcrição nos processos de desenvolvimento em geral e de troca da hemoglobina em particular. Os camundongos transgênicos foram criados com mutações na região silenciadora dos genes da globina ε. Esses camundongos continuaram expressando o gene da globina ε na idade adulta.

Leituras Sugeridas

Krebs DL, Hilton DJ. SOCS proteins: negative regulators of cytokine signaling. Stem Cells 2001;19:378-387.

Stamatoyannopoulos G, Grosveld F. Hemoglobin switching. In: Stamatoyannopoulos G, Majerus PW, Perlmutter, RM Varmus H, eds. The Molecular Basis of Blood Diseases. 3rd Ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001:135-182

Ward AC, Touw I, Yoshimura A. The Jak-Stat pathway in normal and perturbed hematopoiesis. Blood 2000;95:19-29,

Weatherall DJ. The thalassemias In: Stamatoyannopoulos G, Majerus PW, Perlmutter, RM Varmus H, eds. The Molecular Basis of Blood Diseases. 3rd Ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001:183-226.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 44

1. Qual dos mecanismos relacionados poderia ser um mecanismo compensatório para permitir a entrega adequada de oxigênio aos tecidos, em altitudes elevadas, onde as concentrações de oxigênio são baixas?

   (A) Um aumento na síntese de 2,3-bisfosfoglicerato pela célula vermelha
   (B) Uma diminuição na síntese de 2,3-bisfosfoglicerato pela célula vermelha
   (C) Um aumento na síntese de hemoglobina pela célula vermelha
   (D) Uma diminuição na síntese de hemoglobina pela célula vermelha
   (E) Decréscimo no pH sangüíneo

2. Um menino de 2 anos de idade, de peso e altura normais, é levado ao médico devido a fadiga excessiva. A análise sangüínea indica uma anemia, com células vermelhas microcíticas e hipocrômicas. O menino vive em um apartamento de 100 anos de construção e foi encontrado ingerindo fragmentos com tintas. Os pais informaram que a criança alimenta-se com uma dieta saudável e ingere diariamente um suplemento de vitamina dos Flintstones. A anemia é atribuída mais provavelmente a uma deficiência de:

   (A) Ferro
   (B) B12
   (C) Folato
   (D) Heme
   (E) B6

3. Fármacos estão sendo desenvolvidos para induzir a transcrição de genes da globina, os quais estão, normalmente, silenciosos em pacientes afetados por anemia falciforme. Qual dos seguintes genes poderia ser um gene-alvo para tal terapia nessa doença?

   (A) O gene $\alpha 1$
   (B) O gene $\alpha 2$
   (C) O gene γ
   (D) O gene β
   (E) O gene ζ

4. Uma célula sangüínea madura que perde o núcleo é qual das seguintes?

   (A) Linfócito
   (B) Basófilo
   (C) Eosinófilo
   (D) Plaqueta
   (E) Neutrófilo

5. Uma família tem duas crianças, uma com um caso leve de talassemia e outra com um caso grave de talassemia, requerendo freqüentes transfusões sangüíneas como parte do plano de tratamento. Um dos pais é descendente do Mediterrâneo, o outro é descendente Asiático. Nenhum dos pais exibe sinais clínicos de talassemia. Ambas as crianças expressam 20% dos níveis esperados de globina β; a criança mais gravemente afetada expressa níveis normais de globina α, enquanto a criança menos afetada expressa apenas 50% dos níveis normais de globina α. Por que a criança que apresenta uma deficiência na expressão de globina α é menos afetada?

   (A) A talassemia é causada por uma mutação no gene α, e a criança mais gravemente afetada expressa mais desse gene.
   (B) A criança menos afetada precisa sintetizar o gene ζ para compensar a deficiência em uma síntese de cadeia α.
   (C) A criança mais gravemente afetada também tem HPFH.
   (D) A criança mais gravemente afetada produz mais tetrâmeros de globina inativa do que a criança menos afetada.
   (E) A talassemia é causada por uma deficiência de ferro, e, quando a criança está sintetizando níveis normais de globina α, não há ferro suficiente para povoar todas as moléculas de heme sintetizadas.

45 Proteínas Plasmáticas do Sangue, Coagulação e Fibrinólise

O sangue é o principal sistema de transporte do corpo. Embora o transporte e a entrega de oxigênio para as células dos tecidos sejam realizados por células especializadas, outros componentes vitais, como nutrientes, metabólitos, eletrólitos e hormônios, são todos transportados na fração acelular do sangue, o ***plasma****. Alguns componentes (como a glicose) são dissolvidos no plasma; outros, por exemplo, lipídeos e hormônios esteróides, são ligados a proteínas carreadoras para transporte. A* ***pressão osmótica*** *das proteínas plasmáticas regula a distribuição de água entre o sangue e os tecidos. As proteínas plasmáticas, em conjunto com as plaquetas, mantêm a integridade do sistema circulatório por meio do processo de coagulação.*

O sangue normalmente circula através dos vasos sangüíneos revestidos por endotélio. Quando um vaso sangüíneo é rompido, um ***coágulo sangüíneo*** *(chamado de* ***trombo****, o qual é formado pelo processo de* ***trombose****) é formado, como parte da* ***hemostasia****, a resposta fisiológica que interrompe o sangramento. Os coágulos sangüíneos também se formam para reparar danos ao revestimento endotelial, no qual os componentes da* ***camada subendotelial*** *tornam-se acessíveis às proteínas plasmáticas.*

Na hemostasia e na trombose, um tampão hemostático primário, consistindo em ***plaquetas agregadas*** *e de um* ***coágulo de fibrina,*** *é formado no sítio de dano. As plaquetas são ligadas à camada subendotelial do vaso, principalmente pelo* ***fator de von Willebrand****, e são ativadas para ligar fibrinogênio. O* ***fibrinogênio*** *une as plaquetas entre si, para formar um agregado de plaquetas. O agregado de plaquetas é rapidamente coberto com camadas de* ***fibrina****, a qual é formada pela enzima proteolítica* ***trombina*** *a partir do fibrinogênio.*

O dano ao endotélio e a exposição do ***fator tecidual****, na* ***camada subendotelial****, às proteínas plasmáticas, também ativam a cascata de coagulação sangüínea, a qual finalmente ativa a trombina e o* ***Fator XIII****. Esse fator forma* ***ligações cruzadas*** *entre os monômeros de fibrina polimerizada para formar um coágulo estável (o* ***tampão hemostático secundário****). A cascata de coagulação sangüínea consiste em uma série de enzimas (como o* ***Fator X****), as quais são inativas até a clivagem proteolítica pela enzima precedente na cascata. Outras proteínas (****Fator V*** *e* ***Fator VIII****) servem como proteínas de ligação, as quais reúnem complexos de fatores no sítio do dano.* ***Ca^{2+}*** *e resíduos de* ***γ-carboxiglutamato*** *nas proteínas (formado por um processo vitamina K-dependente, no fígado) ligam complexos de fatores a* ***fosfolipídeos*** *expostos na membrana das plaquetas. Como conseqüência, a formação de trombo é rapidamente acelerada e localizada no sítio do dano.*

Os mecanismos regulatórios *no interior da cascata de coagulação e os* ***mecanismos antifibrinolíticos*** *impedem a coagulação casual no interior dos vasos sangüíneos que podem obstruir o fluxo do sangue. Deficiências nesses mecanismos conduzem à trombose.*

SALA DE ESPERA

Sloe Klotter, um menino de 6 meses, foi trazido ao consultório de seu pediatra com uma massa dolorosa e expansiva na coxa superior direita, que foi notada pela primeira vez após ele ter caído três degraus em sua casa. A criança parecia em sofrimento grave.

O raio X não mostrou fraturas, mas um edema de tecidos moles, consistente com um hematoma (sangramento para dentro dos tecidos), foi observado. A mãe de Sloe relatou que logo após ele começar a engatinhar, os joelhos se tornaram inchados e pareciam doloridos.

O pediatra suspeitou de um distúrbio de coagulação. Um perfil de triagem de coagulação sugeriu uma possível deficiência de Fator VIII, uma proteína envolvida na formação de coágulos sangüíneos. O nível plasmático de Fator VIII de Sloe era de apenas 3% do nível médio encontrado em indivíduos normais. O diagnóstico foi de hemofilia A.

I. PROTEÍNAS PLASMÁTICAS MANTÊM A DISTRIBUIÇÃO APROPRIADA DE ÁGUA ENTRE O SANGUE E OS TECIDOS

Quando as células são removidas do sangue, o plasma remanescente é composto de água, nutrientes, metabólitos, hormônios, eletrólitos e proteínas. O plasma tem essencialmente a mesma composição eletrolítica que outros fluidos extracelulares e constitui cerca de 25% do fluido extracelular total do corpo. As proteínas plasmáticas possuem várias funções, as quais incluem a manutenção da distribuição apropriada de água entre o sangue e os tecidos, o transporte de nutrientes, de metabólitos e de hormônios pelo corpo, a defesa contra infecções e a manutenção da integridade da circulação por meio da coagulação. Muitas doenças alteram a quantidade de proteínas plasmáticas produzidas e, portanto, sua concentração no sangue. Essas mudanças podem ser determinadas por meio de eletroforese de proteínas plasmáticas durante o curso de uma doença.

A. Manutenção do Fluido Corporal entre os Tecidos e o Sangue

Conforme o sangue arterial entra nos capilares, o fluido se move a partir do espaço intravascular para o espaço intersticial (que circunda os capilares), sendo por isso conhecido como forças de Starling. A pressão hidrostática na terminação arteriolar dos capilares (~37 mmHg) excede a soma da pressão tecidual (~1 mmHg) e a pressão osmótica das proteínas plasmáticas (~25 mmHg). Assim, a água tende a deixar os capilares e entra nos espaços extravasculares. No terminal venoso dos capilares, a pressão hidrostática cai para aproximadamente 17 mmHg, enquanto a pressão osmótica e a pressão tecidual permanecem constantes, resultando no movimento de retorno do fluido do espaço extravascular (intersticial) e para o sangue. Então, a principal força responsável por trazer a água de volta, a partir dos tecidos, é a pressão osmótica mediada pela presença de proteínas no plasma.

A pressão hidrostática em uma arteríola é a força que "empurra" o fluido para fora dos capilares e para dentro do espaço intersticial. A pressão osmótica das proteínas plasmáticas, mais a pressão tecidual, é a força que "puxa" água a partir do espaço intersticial para o lado venular dos capilares. Então, se a pressão hidrostática for maior do que a pressão osmótica, o fluido irá deixar a circulação; se for menor, o fluido irá entrar na circulação.

Nos casos de desnutrição protéica grave (kwashiorkor), a concentração das proteínas plasmáticas diminui, como resultado da redução da pressão osmótica. Como conseqüência, o fluido não é drenado de volta para o sangue e, em vez disso, acumula-se no espaço intersticial (edema). O abdômen distendido de vítimas da fome é o resultado do acúmulo de líquidos nos tecidos extravasculares devido à grave diminuição da concentração de proteínas plasmáticas, especialmente a albumina. A síntese de albumina diminui de forma moderada sob condições razoavelmente precoces de desnutrição protéica.

B. Albumina, a Principal Proteína Sérica

Como indicado na Tabela 45.1, o fígado produz várias proteínas de transporte ou de ligação e as secreta no sangue. A principal proteína sintetizada é a albumina, a qual constitui aproximadamente 60% das proteínas plasmáticas totais; contudo, devido ao seu tamanho relativamente pequeno (69 kDa), acredita-se que contribua com 70 a 80% da pressão osmótica total do plasma. A albumina, como a maioria das proteínas plasmáticas, é uma glicoproteína e é um transportador de ácidos graxos livres, cálcio, zinco, hormônios esteróides, cobre e bilirrubina. Muitos fármacos também se ligam à albumina, a qual pode ter importantes implicações farmacológicas. Por exemplo, quan-

Tabela 45.1 Proteínas Plasmáticas de Ligação Específicas Sintetizadas no Fígado

Ceruloplasmina	Liga cobre; parece ser mais importante como *pool* de estoque de cobre do que como proteína de transporte; integra a homeostase do ferro e do cobre
Globulina ligadora de corticosteróide	Liga cortisol
Haptoglobina	Liga heme extracorpuscular
Lipoproteínas	Transportam colesterol e ácidos graxos
Proteína ligadora de retinol	Liga vitamina A
Globulina ligadora de hormônios sexuais	Liga estradiol e testosterona
Transferrina	Transporta ferro
Transtiretina	Liga tiroxina (T_4); também forma um complexo com a proteína ligadora de retinol

do um fármaco se liga à albumina, tal ligação provavelmente diminuirá a concentração efetiva de tal fármaco e pode aumentar sua meia-vida na circulação. A dosimetria de fármacos pode ser necessária para recalcular se a concentração de proteínas plasmáticas de um paciente é anormal.

Apesar da importância da albumina na manutenção da pressão osmótica do sangue, os indivíduos que não possuem albumina (analbuminemia) apresentam um edema apenas moderado. Aparentemente, a concentração de outras proteínas plasmáticas é aumentada para compensar a falta de albumina. A freqüência de analbuminemia é de menos de um por um milhão de indivíduos.

II. O PLASMA CONTÉM PROTEÍNAS QUE AUXILIAM NA DEFESA IMUNOLÓGICA

Dois diferentes tipos de proteínas auxiliam na resposta imunológica: as imunoglobulinas e as proteínas do sistema complemento. As imunoglobulinas são secretadas por um subtipo de linfócitos B diferenciados, denominados células plasmáticas, e ligam antígenos nos sítios de ligação formados por regiões hipervariáveis das proteínas (ver Capítulo 7). Uma vez que o complexo antígeno-anticorpo é formado, ele precisa ser removido da circulação. O sistema complemento participa nessa função. O sistema complemento consiste em cerca de 20 proteínas que se tornam ativas de duas maneiras. A primeira é a interação com complexos de antígeno-anticorpo e a segunda, específica para infecções bacterianas, é por meio da interação de polissacarídeos da célula bacteriana com a proteína C3b do sistema complemento. A ativação do sistema complemento por uma ou outra maneira desencadeia a cascata de ativação proteolítica das proteínas do sistema complemento, resultando na liberação de peptídeos biologicamente ativos ou fragmentos polipeptídicos. Esses peptídeos medeiam a resposta inflamatória, atraem células fagocíticas para a área, iniciam a desgranulação de granulócitos e promovem a depuração de complexos de antígeno-anticorpo.

Os inibidores de protease no plasma servem para controlar cuidadosamente a resposta inflamatória. Os neutrófilos ativados liberam proteases lisossomais a partir de seus grânulos, que podem agredir a elastina, os vários tipos de colágeno e outras proteínas da matriz extracelular. As proteínas plasmáticas α_1-antiproteinase (α_1-antitripsina) e α_2-macroglobulina limitam o dano proteolítico por formarem complexos não-covalentes com as proteases, portanto inativando-as. Entretanto, o produto da mieloperoxidase de neutrófilos, HOCl, inativa os inibidores de proteases, assegurando, assim, que as proteases estejam ativas no sítio de infecção.

A α_1-antiproteinase (AAP) é o principal inibidor de serina-protease do plasma humano. Em indivíduos com uma mutação pontual no éxon 5 do gene da AAP, a qual resulta em uma única substituição de aminoácido na proteína, a secreção de AAP pelo fígado está diminuída. Esses indivíduos apresentam risco aumentado para desenvolver enfisema. Quando os neutrófilos sofrem desgranulação nos pulmões, como parte da defesa do corpo contra microrganismos, níveis insuficientes de AAP estão presentes para neutralizar a elastase e outras proteases liberadas. O excesso de atividade proteolítica danifica o tecido pulmonar, levando à perda da elasticidade alveolar e ao enfisema.

A metionina 358 da AAP é necessária para a ligação da AAP às proteases. A oxidação dessa metionina destrói a capacidade de ligação da AAP a proteases. Fumantes de cigarro oxidam Met-358, aumentando, assim, o risco para enfisema.

III. PROTEÍNAS PLASMÁTICAS MANTÊM A INTEGRIDADE DO SISTEMA CIRCULATÓRIO

O sangue é perdido a partir da circulação quando a camada endotelial dos vasos sangüíneos é danificada e a parede dos vasos é parcial ou totalmente rompida. Quando isso acontece, a camada de células subendoteliais é exposta, consistindo em uma membrana basal de células endoteliais e células musculares lisas. Em resposta a um dano, uma barreira (o tampão hemostático, um coágulo de fibrina), iniciada pela ligação das plaquetas à área danificada, é formada no sítio de dano. Os mecanismos regulatórios limitam a formação do coágulo no sítio de dano e controlam seu tamanho e sua estabilidade. Conforme os vasos cicatrizam, o coágulo é degradado (fibrinólise). As proteínas plasmáticas são necessárias para que esses processos aconteçam.

A. Formação do Tampão Hemostático

1. A PLAQUETA

As plaquetas são células anucleadas, presentes no sangue, cuja principal função é formar tampões mecânicos no sítio de dano vascular e secretar reguladores do processo de coagulação e do reparo vascular. Na ausência de plaquetas, é comum a perda de sangue em pequenos vasos a partir de orifícios.

Na plaqueta não-ativada (uma plaqueta não-envolvida na formação do coágulo), a membrana plasmática invagina extensivamente para o interior da célula, formando um sistema (canalicular) de membrana aberta. Como a membrana contém receptores e fosfolipídeos que aceleram o processo de coagulação, a estrutura canalicular aumenta de forma substancial a área de superfície da membrana potencialmente disponível para as reações de coagulação. O interior da plaqueta contém microfilamentos e um amplo sistema actina/miosina. A ativação plaquetária em resposta ao dano endotelial causa mudanças Ca^{2+}-dependentes nos elementos contráteis, os quais, por sua vez, alteram de forma substancial a arquitetura da membrana plasmática. Longos pseudópodes são gerados, aumentando a área de superfície da membrana quando a formação de coágulo é iniciada.

As plaquetas contêm três tipos de grânulos. Os primeiros são grânulos eletrodensos, os quais contêm cálcio, difosfato de adenosina (ADP), trifosfato de adenosina (ATP) e serotonina. O segundo tipo de grânulo é o grânulo α, o qual contém um antagonista de heparina (a heparina interfere na coagulação sangüínea; ver Comentários Bioquímicos), fator de crescimento derivado de plaquetas, β-tromboglobulina, fibrinogênio, fator von Willebrand (vWF) e outros fatores de coagulação. O terceiro tipo de grânulo é o grânulo lisossomal, o qual contém enzimas hidrolíticas. Durante a ativação, os conteúdos desses grânulos são secretados, os quais modulam a agregação plaquetária e a coagulação.

As plaquetas são derivadas dos megacariócitos na medula óssea. Os megacariócitos se diferenciam a partir das células-tronco hematopoiéticas. À medida que o megacariócito amadurece, ele sofre replicação nuclear sincronizada, sem divisão celular, para formar uma célula com um núcleo multilobulado e um citoplasma aumentado. Aproximadamente no oitavo estágio nuclear, o citoplasma se torna granular, e as plaquetas são liberadas por brotamento do citoplasma. Um único megacariócito dá origem a cerca de 4.000 plaquetas.

A púrpura trombocitopênica idiopática (ITP, do inglês *idiopathic thrombocytopenic purpura*) é uma doença auto-imune na qual são produzidos anticorpos contra glicoproteínas plaquetárias. Os anticorpos se ligam às plaquetas e promovem sua remoção pelo baço. Um sintoma precoce da doença é o aparecimento de pequenas manchas vermelhas na pele (petéquias hemorrágicas) causadas pela perda de sangue pelos capilares. Danos menores às células endoteliais vasculares são causados constantemente por forças mecânicas relacionadas ao fluxo sangüíneo. Em pacientes com ITP, poucas plaquetas estão disponíveis para reparar o dano.

2. ATIVAÇÃO PLAQUETÁRIA

Três mecanismos fundamentais estão envolvidos na função plaquetária durante a coagulação sangüínea: adesão, agregação e secreção. A adesão inicia de uma série de reações denominadas ativação plaquetária, a qual leva à agregação plaquetária e à secreção do conteúdo dos grânulos plaquetários.

A etapa de adesão se refere primariamente à interação subendotelial-plaqueta que ocorre quando as plaquetas inicialmente se aderem aos sítios de dano vascular (Figura 45.1). O dano vascular sangüíneo expõe colágeno, vWF ligado à matriz subendotelial e outros componentes da matriz. O vWF é uma proteína sintetizada nas células endoteliais e nos megacariócitos e está localizado na matriz subendotelial, em grânulos plaquetários específicos e na circulação, ligado ao Fator VIII. A membrana da célula plaquetária contém glicoproteínas (GP) que se ligam ao colágeno e ao vWF, promovendo a adesão da plaqueta ao subendotélio. A ligação de GPIa (integrina $\alpha_2\beta_1$) ao colágeno induz a plaqueta a mudar sua forma, de um disco plano para uma célula esférica. Essa última

O fator de von Willebrand é uma glicoproteína multimérica grande com uma subunidade de peso molecular de 220.000 dáltons. Seu tamanho na circulação varia entre 500 e 20.000 kDa, e seu papel nesse local é estabilizar o Fator VIII e protegê-lo da degradação. As formas de alto peso molecular são concentradas no endotélio dos vasos sangüíneos e são liberadas em resposta aos hormônios de estresse e ao dano endotelial. O vWF de alto peso molecular, liberado pelo endotélio, é clivado no soro por uma metaloprotease específica, reduzindo o tamanho do vWF circulante. Os multímeros de vWF grandes são mais eficientes em formar complexos com as plaquetas do que os multímeros de vWF pequenos.

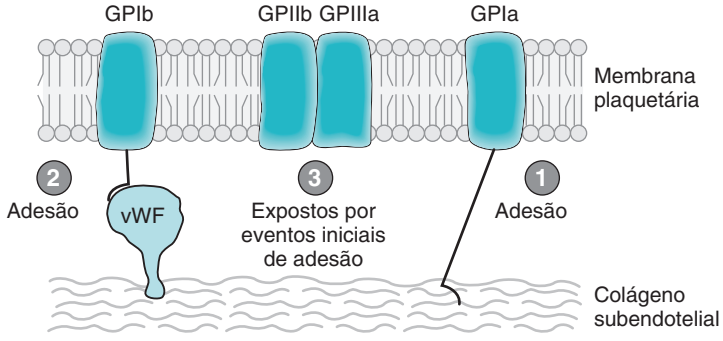


Figura 45.1 Adesão de plaquetas à camada de células subendoteliais. 1. A GPIa inicialmente se liga ao colágeno exposto, o que resulta em mudanças na configuração tridimensional do complexo, permitindo à GPIb se ligar ao vWF (2). 3. Esse segundo evento de ligação expõe o complexo GPIIb/GPIIIa, o qual também se liga ao vWF e ao fibrinogênio.

exterioriza longos pseudópodes, os quais promovem interações plaqueta/plaqueta. A ligação de GPIb ao vWF subendotelial promove alterações na membrana plaquetária, que expõem sítios de ligação GPIIb/IIIa (integrina $\alpha IIb\beta_3$) ao fibrinogênio e ao vWF.

A aderência inicial de plaquetas desencadeia uma série de reações (ativação plaquetária) que resultam em mais plaquetas sendo recrutadas e agregadas no sítio de dano. Após a aderência inicial, algumas das plaquetas liberam o conteúdo de seus grânulos densos e de seus grânulos α, com a liberação de ADP sendo de particular importância, pois o ADP é um potente ativador plaquetário. O ADP liberado pelas plaquetas e por células sangüíneas vermelhas danificadas se liga a um receptor na membrana plaquetária, o que leva à exposição adicional de sítios de ligação GPIIb/IIIa. A agregação de plaquetas não pode ocorrer sem a estimulação por ADP, pois o ADP induz o inchamento das plaquetas ativadas, promovendo o contato plaqueta/plaqueta e a aderência.

O fibrinogênio é uma proteína que circula no sangue e também é encontrada nos grânulos plaquetários. Ele consiste em duas hélices tríplices mantidas juntas por meio de pontes dissulfeto (Figura 45.2). A ligação de fibrinogênio a plaquetas ativadas é

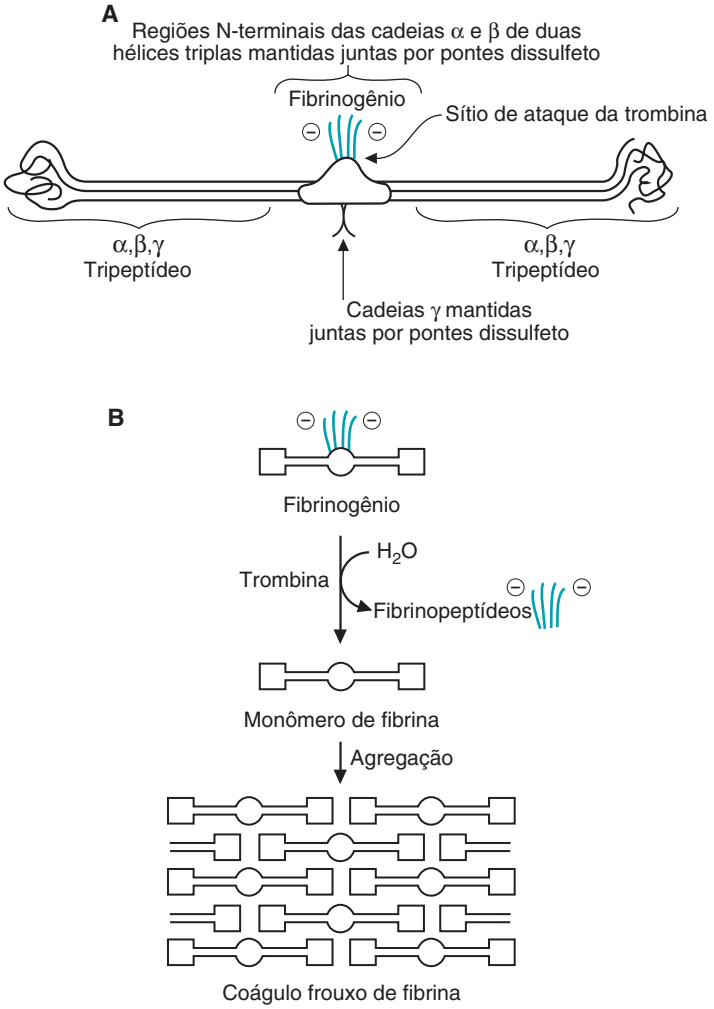


Figura 45.2 A clivagem do fibrinogênio resulta na formação do coágulo. **A.** O fibrinogênio, a proteína precursora da fibrina, é formado de duas hélices tríplices, unidas nas terminações N-terminal. Os peptídeos α e β são mantidos juntos por pontes dissulfeto, e os peptídeos γ são unidos uns aos outros por pontes dissulfeto. As regiões terminais dos peptídeos α e β, mostradas em azul, contêm resíduos de glutamato e aspartato carregados negativamente que se repelem e impedem a agregação. **B.** A trombina, uma serina-protease, cliva as porções terminais do fibrinogênio que contêm cargas negativas. Os monômeros de fibrina podem, então, agregar-se e formar um coágulo "frouxo". O coágulo frouxo sofre, subseqüentemente, ligação cruzada por outra enzima.

A deficiência de vWF é a causa mais comum de distúrbios hereditários de sangramento. Tanto a aderência plaquetária quanto a cascata da coagulação são afetadas, pois os níveis de Fator VIII são baixos. Na ausência do vWF, o Fator VIII é rapidamente removido do sistema. O gene do vWF é grande, cobrindo aproximadamente 180 kb, e contém 52 éxons. Inúmeras mutações são conhecidas, com apresentações clínicas variadas.

Os defeitos na GPIb causam um distúrbio de sangramento conhecido como síndrome de Bernard-Soulier. A agregação plaquetária é afetada devido à incapacidade de o GPIb aderir ao vWF subendotelial.

A púrpura trombocitopênica trombótica (TTP, do inglês *trombotic thrombocytopenic purpura*) é uma doença caracterizada pela formação, na circulação, de microcoágulos (microtrombos) constituídos de plaquetas agregadas. Os microtrombos acumulam-se na microvasculatura e danificam as células sangüíneas vermelhas, causando anemia hemolítica. Eles também danificam o endotélio vascular, expondo o colágeno e liberando o vWF de alto peso molecular e promovendo mais agregação plaquetária. A subseqüente depleção de plaquetas torna o paciente suscetível à hemorragia interna. A mortalidade em pacientes com TTP não-tratados pode alcançar 90%.

A TTP familiar está associada a mutações nas metaloproteases específicas ao vWF, embora nem todos os indivíduos com protease defeituosa desenvolvam TTP. Casos esporádicos de TTP estão associados ao desenvolvimento de um anticorpo contra a metaloprotease.

Em resposta ao colágeno e à trombina, as plaquetas liberam vasoconstritores. A serotonina é liberada a partir dos grânulos densos das plaquetas, e a síntese de tromboxano A2 é estimulada. Isso irá reduzir o fluxo sangüíneo para a área lesada. O fator de crescimento derivado de plaquetas, o qual estimula a proliferação de células vasculares, também é liberado no ambiente que envolve a lesão.

A utilização de uma serina do sítio ativo para clivar uma ligação peptídica é comum a uma variedade de enzimas referidas como serina-proteases. As serina-proteases são essenciais para ativar a formação de um coágulo sangüíneo a partir da fibrina. A fibrina e muitas das outras proteínas envolvidas na coagulação sangüínea estão presentes no sangue como precursores inativos ou zimogênios, os quais precisam ser ativados por clivagem proteolítica. A trombina, a serina-protease que converte fibrinogênio em fibrina, tem a mesma tríade catalítica aspartato-histidina-serina encontrada na quimotripsina e na tripsina.

A trombina é ativada pela clivagem proteolítica de sua proteína precursora, a protrombina. A seqüência das clivagens proteolíticas que conduzem à ativação da trombina requer o Fator VIII, a proteína de coagulação sangüínea deficiente em **Sloe Klotter**.

necessária para a agregação, fornecendo, em parte, o mecanismo pelo qual as plaquetas aderem umas às outras. A clivagem do fibrinogênio pela trombina (uma protease que é ativada pela cascata de coagulação) produz monômeros de fibrina que polimerizam e, junto com as plaquetas, formam um "coágulo frouxo". A trombina é um potente ativador plaquetário, pela ligação a um receptor específico na superfície das plaquetas.

B. Cascata de Coagulação Sangüínea

A formação do trombo (coágulo) é aumentada pela ativação da trombina, a qual é mediada por uma interação complexa que constitui a cascata de coagulação sangüínea. Essa cascata (Figura 45.3) consiste primariamente em proteínas que servem como enzimas ou co-fatores, os quais agem para acelerar a formação de trombina e localizá-la no sítio de dano. As proteínas estão listadas na Tabela 45.2. Todas essas proteínas estão presentes no plasma como pró-proteínas (zimogênios). Essas proteínas precursoras são ativadas pela clivagem da cadeia polipeptídica, em um ou mais pontos. A chave para o sucesso e para a formação apropriada do trombo é a regulação das proteases que ativam esses zimogênios.

As pró-enzimas (Fatores VII, XI, IX, X e XII e pró-trombina) são serina-proteases que, quando ativadas por clivagem, clivam a próxima pró-enzima na cascata. Devido à ativação seqüencial, uma grande aceleração e amplificação da resposta é alcançada. Se a clivagem e a ativação ocorreram, isso é indicado pela adição de um "a" ao nome da pró-enzima (p. ex., o Fator IX é clivado para formar o Fator IXa ativo).

As proteínas co-fatores (fator tecidual, Fatores V e VIII) servem como sítios de ligação para outros fatores. O fator tecidual não é relacionado estruturalmente a outros co-fatores da coagulação sangüínea e é uma proteína integral de membrana que não requer clivagem para ativar a função. Os Fatores V e VIII servem como pró-co-fatores, os quais, quando ativados por clivagem, agem como sítios de ligação para outros fatores.

Duas proteínas adicionais que são consideradas parte da cascata de coagulação sangüínea, a proteína S e a proteína C, são proteínas regulatórias. Somente a proteína C é regulada por clivagem proteolítica, e, quando ativada, ela própria é uma serina-protease.

C. O Processo de Coagulação Sangüínea

A ativação da cascata de coagulação sangüínea é desencadeada pela reação de proteínas plasmáticas com o subendotélio, ao mesmo tempo em que as plaquetas estão se aderindo à camada subendotelial. Historicamente, duas vias diferentes foram descobertas: uma dependente de estímulos externos (como o trauma direto, o qual inicia a via extrínseca) e uma usando estímulos internos (a via intrínseca). Como o entendimento da cascata de coagulação sangüínea tem expandido, ficou óbvio que essas distinções não são corretas, pois há uma superposição entre as vias; contudo, os termos têm persistido na descrição das vias.

No caso de trauma externo, os danos teciduais apresentam o fator tecidual para o sangue, no sítio de dano, desencadeando a fase extrínseca da coagulação sangüínea. O Fator VII circulante se liga ao fator tecidual, o qual autocatalisa sua própria ativação para o Fator VIIa. Esse, então, ativa o Fator X (em Xa) na via extrínseca e o Fator IX (em IXa) na via intrínseca. O Fator IXa, como parte da via intrínseca, também ativa o Fator X. Portanto, a ativação de ambas as vias, extrínseca e intrínseca, resulta na conversão do Fator X em Fator Xa. Todas essas conversões requerem o acesso às membranas e ao cálcio; a membrana plaquetária, a qual se aderiu ao sítio danificado, é usada como um trampolim para que as reações de ativação aconteçam. As proteínas da coagulação γ-carboxiladas são queladas à superfície das membranas, por alterações eletrostáticas, com cálcio e fosfolipídeos negativamente carregados da membrana das plaquetas. Os co-fatores protéicos VIIIa e Va servem como sítios para a montagem dos complexos enzima-co-fator na superfície das plaquetas, conseqüentemente acelerando e localizando a reação. O resultado é a formação de trombina, a qual aumenta sua própria formação por converter os Fatores V, VIII e XI em fatores ativados e por estimulação a desgranulação das plaquetas. Note que esses fatores estão na via intrínseca. Pensa-se que a via intrínseca sustente a resposta de coagulação iniciada pela via extrínseca. O principal substrato da trombina é o fibrinogênio, o qual é hidrolisado

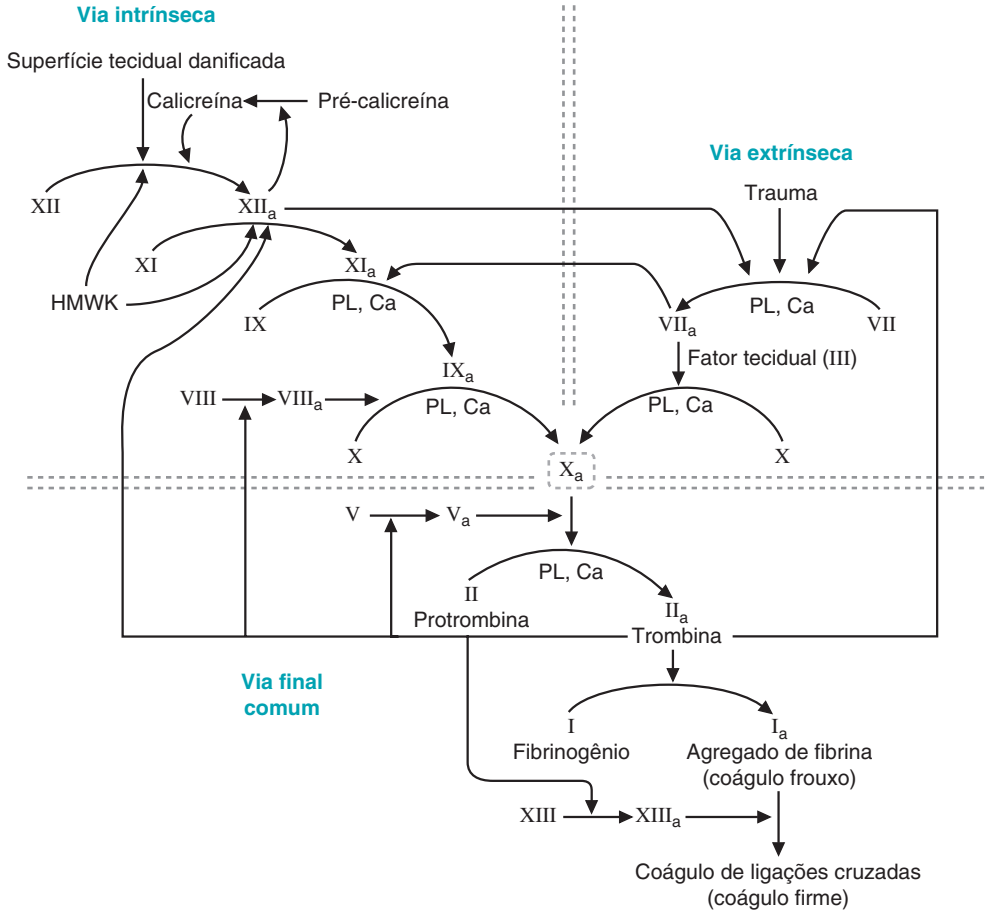


Figura 45.3 Cascata da coagulação sangüínea. A ativação da formação do coágulo ocorre através de duas vias separadas, mas entrelaçadas, denominadas vias intrínseca e extrínseca. A via intrínseca é ativada quando as proteínas plasmáticas reagem com o subendotélio exposto do vaso sangüíneo lesado. As plaquetas e o vWF se ligam ao subendotélio exposto, e as plaquetas, por sua vez, ligam fibrinogênio. A via extrínseca é ativada pelo fator tecidual. As reações designadas por "PL, Ca" estão ocorrendo devido aos fatores ligados aos fosfolipídeos (PL, do inglês *phospholipids*) na superfície da célula em um complexo de coordenação de Ca^{2+}. Os Fatores XIIa, XIa, IXa, VIIa e Xa e a trombina são serina-proteases. Note a regulação por *feedback* positivo da trombina sobre a ativação de proteases no início da seqüência da cascata. HMWK = cininogênio de alto peso molecular.

Tabela 45.2 Proteínas da Coagulação Sangüínea

Fatores da Coagulação		
Fator	**Nome Descritivo**	**Função/Forma Ativa**
I	Fibrinogênio	Fibrina
II	Protrombina	Serina-protease
III	Fator tecidual	Receptor e co-fator
IV	Ca^{2+}	Co-fator
V	Pró-acelerina, fator lábil	Co-fator
VII	Pró-convertina	Serina-protease
VIII	Fator A anti-hemofilia	Co-fator
IX	Fator B anti-hemofilia, fator Christmas	Serina-protease
X	Fator Stuart-Prower	Serina-protease
XI	Antecedente de tromboplastina plasmática	Serina-protease
XII	Fator Hageman (de contato)	Serina-protease
XIII	Fator estabilizador da fibrina	Transglutaminase Ca^{2+}-dependente
Pré-calicreína		Serina-protease
Cininogênio de alto peso molecular		Co-fator
Proteínas Regulatórias		
Trombomodulina		Receptor de células endoteliais; liga trombina
Proteína C		Ativada por trombina ligada à trombomodulina; é uma serina-protease
Proteína S		Co-fator; liga proteína C ativada

A ativação inicial da protrombina em trombina é lenta, pois os co-fatores ativadores, Fatores VIIIa e Va, estão presentes somente em pequenas quantidades. Entretanto, quando uma pequena quantidade de trombina é ativada, ela irá acelerar sua própria produção por clivar os Fatores V e VIII a suas formas ativas.

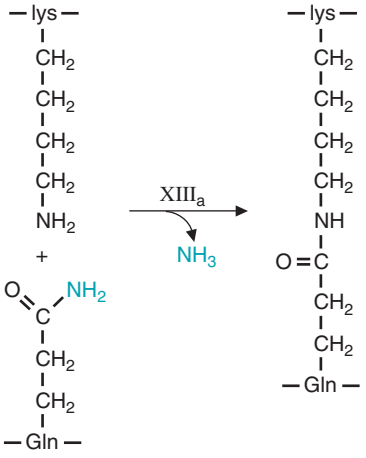


Figura 45.4 A reação de transamidação catalisada pelo Fator XIIIa, a transglutaminase. Essa reação forma reações cruzadas dos monômeros de fibrina, permitindo que seja formado um coágulo "firme".

para formar monômeros de fibrina, que sofrem polimerização espontânea para formar o coágulo de fibrina. Esse é considerado um coágulo "frouxo", pois os monômeros de fibrina não estão fazendo ligação cruzada. A ligação cruzada requer o Fator XIIIa, o qual é ativado pela clivagem do Fator XIII pela trombina.

1. LIGAÇÃO CRUZADA DE FIBRINA

O Fator XIIIa catalisa a reação de transamidação entre as cadeias laterais de Gln e Lys nos monômeros de fibrina adjacentes. As ligações cruzadas covalentes ocorrem em três dimensões, criando uma forte rede de fibras, resistente a danos mecânicos e proteolíticos. Essa rede de fibras de fibrina prende as plaquetas agregadas e outras células, formando um coágulo que tampona a abertura na parede vascular (Figura 45.4). O Fator XIIIa é a única enzima na cascata de coagulação que não é uma serina-protease.

2. CALICREÍNA E CININOGÊNIO DE ALTO PESO MOLECULAR

A via intrínseca clássica inicia com a reunião da pré-calicreína, do cininogênio de alto peso molecular (HMWK, do inglês *high molecular-weight kininogen*), do Fator XII e do Fator XI em uma superfície carregada de forma negativa, presumivelmente uma célula endotelial *in vivo* (ver Figura 45.3). O cininogênio de alto peso molecular é uma glicoproteína que se liga à pré-calicreína e auxilia na sua associação à superfície da célula endotelial. A pré-calicreína é uma forma de zimogênio de uma serina-protease. O Fator XII se auto-ativa, formando o Fator XIIa, o qual converte a pré-calicreína em calicreína. Essa, então, aumenta a ativação do Fator XII, o qual leva à ativação dos Fatores XI e VII.

Ainda é desconhecido o quão importante são esses passos na iniciação da cascata de coagulação. Os indivíduos que não possuem HMWK, pré-calicreína ou Fator XII não sofrem de distúrbios da coagulação. Em condições normais, a ativação do Fator VII, com subseqüente ativação dos Fatores IX e X, parece ser suficiente para ativar a via de coagulação.

3. COMPLEXOS DE FATORES

Em muitos dos passos essenciais da cascata de coagulação sangüínea, a protease ativada é ligada a um complexo ligado à superfície das plaquetas que estão agregadas no sítio de dano. Os Fatores VII, IX, X e a protrombina contêm um domínio no qual um ou mais resíduos de glutamato são carboxilados a carboxiglutamato γ, em uma reação que requer vitamina K (Figura 45.5). A protrombina e o Fator X contêm 10 ou mais resíduos de carboxiglutamato γ que ligam Ca^{2+}. O Ca^{2+} forma um complexo de coordenação com os fosfolipídeos da membrana plaquetária negativamente carregada e os carboxiglutamatos γ, localizando, assim, a associação do complexo e a formação de trombina na superfície da plaqueta.

O co-fator Va contém um sítio de ligação para o Fator Xa e a protrombina, o substrato zimogênio do Fator Xa. Sobre a ligação do complexo Fator Va-plaqueta, a protrombina sofre uma mudança conformacional, tornando-a mais suscetível à clivagem enzimática. A ligação do Fator Xa ao complexo Fator Va-protrombina-plaqueta permite a conversão de protrombina em trombina. A formação do complexo acelera o índice de sua conversão em 10.000 a 15.000 vezes, quando comparado com a não-formação do complexo.

O Fator VIIIa forma um complexo de tipo similar na superfície das plaquetas ativadas, mas liga o Fator IXa e seu substrato zimogênio, o Fator X. O fator tecidual age de forma um pouco diferente, pois é uma proteína integral de membrana. Entretanto, uma vez que ocorra o dano, ele também liga o Fator VIIa e inicia a formação do complexo.

A formação do complexo tem duas importantes conseqüências fisiológicas. Primeiro, ela aumenta a taxa de formação de trombina em centenas de milhares de vezes, permitindo que o coágulo se forme rápido o suficiente para preservar a homeostasia. Secundariamente, essa formação explosiva de trombina é localizada no local do dano

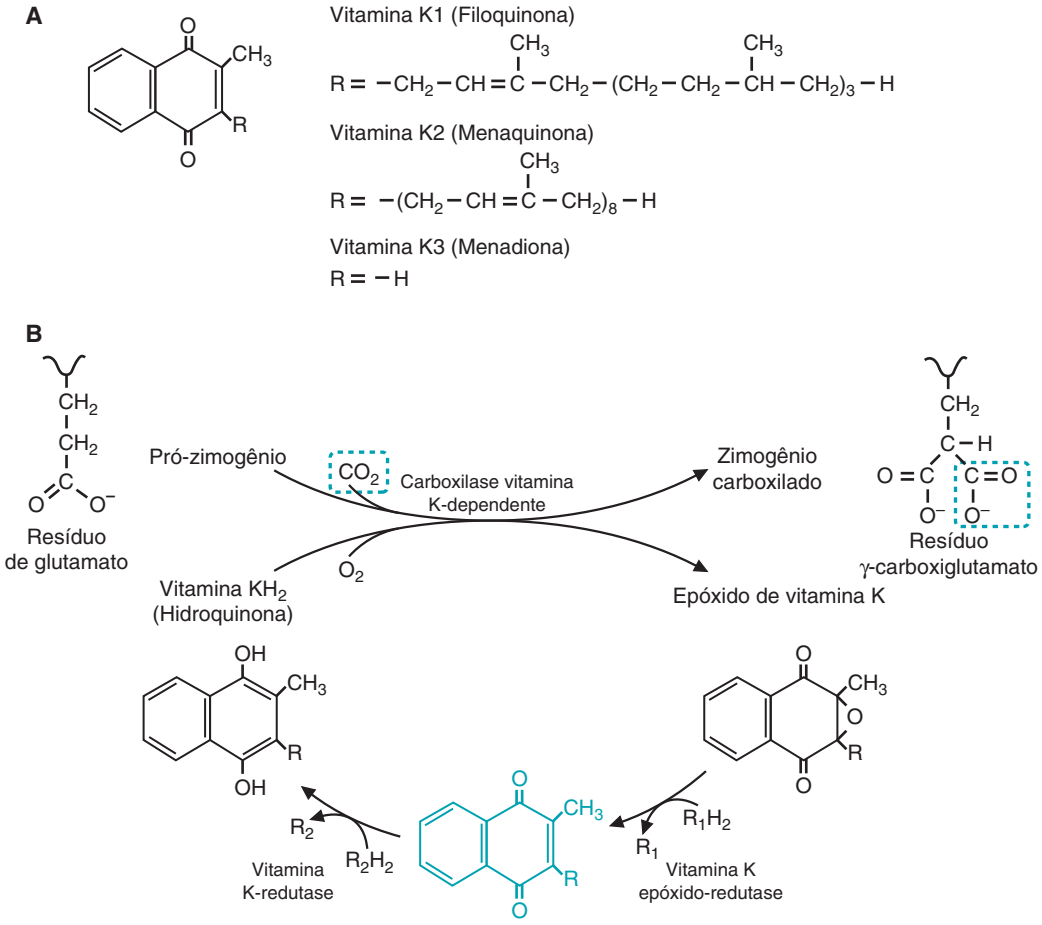


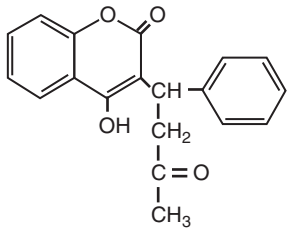
Figura 45.5 **A.** Estrutura dos derivados da vitamina K. A filoquinona é encontrada em folhas verdes, e bactérias intestinais sintetizam menaquinona. Os seres humanos converterão menadiona em uma forma ativa da vitamina K. **B.** Formação de resíduos de γ-carboxiglutamato vitamina K-dependentes. Trombina, Fator VII, Fator IX e Fator X estão ligados aos seus sítios de ativação formados por fosfolipídeos, na superfície das membranas celulares, por Ca^{2+}. A carboxilase vitamina K-dependente, a qual adiciona o grupo carboxila extra, usa a forma reduzida da vitamina K (KH_2) como doador de elétrons e converte a vitamina K em um epóxido. O epóxido de vitamina K é reduzido, em dois passos, de volta à sua forma ativa pelas enzimas vitamina K epóxido-redutase e vitamina K-redutase.

vascular, no qual são expostos os fosfolipídeos negativamente carregados. A partir do conhecimento da localização de tais fosfolipídeos nas membranas celulares e de organelas subcelulares, esses sítios de ligação de superfície somente são expostos em um local de dano no qual a ruptura da célula expõe a superfície interna da membrana (lembre-se que certos fosfolipídeos somente estão voltados para o citoplasma; se esses lipídeos agora são expostos ao meio ambiente, danos celulares importantes devem ter acontecido).

4. REQUERIMENTO DE VITAMINA K PARA A COAGULAÇÃO SANGÜÍNEA

A formação de resíduos de γ-carboxiglutamato em fatores de coagulação sangüínea ocorre nos hepatócitos, antes da liberação da proteína. No interior do hepatócito, a vitamina K (a qual está presente na forma de quinona) é reduzida para formar vitamina KH_2 por uma quinona-redutase microssomal (ver Figura 45.5). A vitamina KH_2 é um co-fator para carboxilases que adicionam um grupo carboxila nos resíduos apropriados de glutamato na pró-enzima, para formar uma pró-enzima carboxilada (p. ex., protrombina). Na mesma reação, a vitamina K é convertida em epóxido de vitamina K. Para restabelecer a vitamina KH_2 ativa, a vitamina K é primeiramente reduzida

A varfarina (Coumadin®) é um anticoagulante sangüíneo lento e de longa duração com uma estrutura semelhante à da vitamina K. A similaridade estrutural permite ao composto competir com a vitamina K e impedir a γ-carboxilação de resíduos de glutamato nos Fatores II, VII, IX e X e nas proteínas C e S. Os precursores das proteínas não-carboxiladas da coagulação sangüínea se elevam no sangue e no plasma, mas são incapazes de promover a coagulação sangüínea, pois não podem ligar cálcio e, por isso, não podem se ligar aos seus sítios de ativação compostos por fosfolipídeos de membrana.



Varfarina

A varfarina é um veneno para ratos comumente usado, e, por isso, casos de envenenamento acidental são ocasionalmente encontrados em setores de emergência. Ela é eficiente como veneno para ratos, pois demora muitas horas para desenvolver sintomas patológicos, o que permite a uma isca envenenada matar mais de um rato.

A deficiência na quantidade ou na funcionalidade da proteína C ou da proteína S aumenta o risco de tromboembolismo venoso. Os indivíduos homozigotos para essas mutações não sobrevivem ao período neonatal, a menos que seja fornecida terapia de reposição.

Em populações européias, uma mutação pontual no gene do Fator V (Fator V Leiden) causa a substituição de uma Arg por uma Gln no sítio preferencial para a clivagem por proteína C ativada, tornando o Fator Va Leiden resistente à APC. Os indivíduos heterozigotos têm um risco aumentado de 6 a 8 vezes de desenvolver trombose venosa profunda, enquanto em indivíduos homozigotos esse risco é aumentado de 30 a 140 vezes. As mutações no Fator V Leiden não parecem estar associadas ao risco aumentado de trombose arterial, tal como o infarto do miocárdio, exceto em mulheres jovens que fumam.

Estudos genéticos sugerem que as mutações no Fator V Leiden apareceram após a separação das populações européias, asiáticas e africanas. A freqüência dessa variante indica que ela, em algum momento, conferiu alguma vantagem seletiva. No mundo desenvolvido, a resistência hereditária de APC é o fator de risco mais prevalente para a doença trombótica familiar.

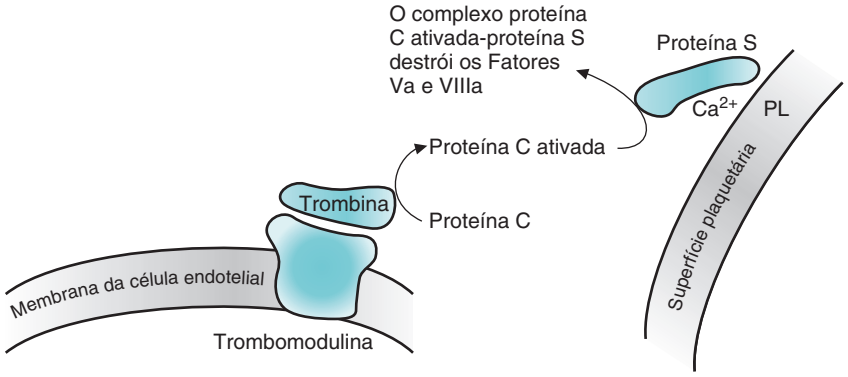


Figura 45.6 Efeitos antitrombóticos da trombina. A trombina, ligada à trombomodulina na superfície da célula endotelial, ativa a proteína C. Essa proteína ativada, formando um complexo com a proteína S, liga-se na membrana da plaqueta, e o complexo ativado destrói os Fatores Va e VIIIa, inibindo, assim, a cascata de coagulação.

para a forma quinona pela vitamina K epóxido-redutase e, então, para a forma hidroquinona ativa.

D. Regulação pela Amplificação e Inibição do *Feedback*

Uma vez iniciada a formação do coágulo (trombo), ela é acelerada de forma quase explosiva por diversos processos coletivamente denominados amplificação do *feedback*.

1. PAPEL DA TROMBINA NA REGULAÇÃO

A trombina tem um papel regulatório pró-trombótico (amplificação do *feedback*) e um papel regulatório antitrombótico (inibição do *feedback*). A ação pró-trombótica é iniciada quando a trombina estimula sua própria formação, por ativar os Fatores V, VIII e XI, conseqüentemente acelerando a taxa de formação de coágulo (Figura 45.3). A trombina também promove a formação do coágulo por ativar a agregação plaquetária, estimular a liberação do Fator VIII a partir do vWF e clivar o Fator XIII em Fator XIIIa.

Os efeitos antitrombóticos da trombina resultam da sua ligação a um receptor de célula endotelial, chamado de trombomodulina (Figura 45.6). A trombomodulina suprime a função de coagulação da trombina e permite à trombina ativar a proteína C, a qual tem efeitos anticoagulantes.

2. PROTEÍNAS S E C

A proteína C e seu co-fator (a proteína S) servem para suprimir a atividade da cascata de coagulação. Após a ativação, a proteína C forma um complexo com a proteína S. A proteína S ancora o complexo de proteína C ativada (APC, do inglês *activated protein C*) ao coágulo pela ligação de Ca^{++}/γ-carboxiglutamato aos fosfolipídeos plaquetários. A APC destrói os co-fatores ativos da coagulação sangüínea, Fator VIIIa e Fator Va, por clivagem proteolítica, diminuindo a produção de trombina. A APC também estimula as células endoteliais a aumentarem a secreção de prostaglandina PGI_2, a qual reduz a agregação plaquetária.

3. SERPINAS

Muitas proteases do sistema enzimático da coagulação sangüínea são serina-proteases. Devido ao fato de que a atividade proteolítica descontrolada poderia ser destrutiva, mecanismos modulatórios controlam e limitam a proteólise intravascular. As serpinas (inibidores de serina-protease; do inglês *serpin – serine protease inhibitors*) são um grupo de proteínas inibitórias que ocorrem naturalmente e estão presentes no plasma em concentrações elevadas (cerca de 10% das proteínas plasmáticas são serpinas).

Oito inibidores principais foram encontrados, os quais compartilham um mecanismo de ação comum e inibem as proteases envolvidas na coagulação e na dissolução do coágulo (fibrinólise). Cada inibidor possui um sítio reativo que parece ser um substrato ideal para uma serina-protease específica e, desse modo, atua como uma armadilha para aquela protease. A serina-protease ligada ataca a ligação peptídica localizada em resíduo de aminoácido crítico, no interior da serpina, e forma um complexo enzima-inibidor firme.

A atividade da trombina é controlada pela serpina antitrombina III (ATIII). A regulação da cascata de coagulação sangüínea no nível da trombina é crítica, pois essa enzima afeta tanto a via de coagulação quanto a fibrinólise (ver Seção F). Uma molécula de ATIII inativa irreversivelmente uma molécula de trombina pela reação de um resíduo de arginina na ATIII com o resíduo de serina no sítio ativo da trombina. A formação do complexo ATIII-trombina é muito aumentada na presença de heparina. A heparina é um glicosaminoglicano (ver Capítulo 49) encontrado em grânulos secretórios de mastócitos e no tecido conjuntivo frouxo em volta do leito vascular pequeno. A heparina se liga a resíduos lisil na ATIII e acelera significativamente sua velocidade de ligação à trombina. Isso é devido a uma alteração alostérica na ATIII, de tal forma que a posição do resíduo crítico de arginina da ATIII é mais prontamente disponível para a interação com a trombina. A formação do complexo ATIII-trombina libera a molécula de heparina, de tal forma que ela pode ser reutilizada, e, portanto, a função da heparina é catalítica. A trombina que está ligada à superfície, por exemplo, à trombomodulina na membrana da célula endotelial, não está mais participando na formação do coágulo e não é prontamente atacada pela ATIII ou pelo complexo ATIII-heparina. O complexo ATIII-heparina também pode inativar as serina-proteases Fatores XIIIa, XIa, IXa e Xa, mas não tem efeito sobre o Fator VIIa ou sobre a proteína C ativada.

E. Tromborresistência do Endotélio Vascular

As células endoteliais dos vasos sangüíneos fornecem uma barreira seletivamente permeável entre o sangue circulante e os tecidos. O revestimento normal da célula endotelial não ativa a coagulação, nem suporta a adesão plaquetária; então, é chamado de superfície não-trombogênica. Várias propriedades contribuem para a tromborresistência do endotélio vascular normal. As células endoteliais são altamente carregadas de forma negativa, uma característica que pode repelir as plaquetas carregadas negativamente. As células endoteliais sintetizam prostaglandina I_2 (PGI_2) e óxido nítrico, vasodilatadores e potentes inibidores de agregação plaquetária. A síntese de PGI_2 é estimulada por trombina, adrenalina e dano vascular local. As células endoteliais também sintetizam dois co-fatores que inibem a ação da trombina, trombomodulina e heparan-sulfato. O heparan-sulfato é um glicosaminoglicano similar à heparina que potencializa a antitrombina III, mas não de forma tão eficiente. A inativação da trombina é acelerada por heparan-sulfato, presente na superfície das células endoteliais. Assim, o endotélio intacto tem uma capacidade de modificar a ação da trombina e inibir a agregação plaquetária.

F. Fibrinólise

Após a formação bem-sucedida do tampão hemostático, a propagação adicional do coágulo precisa ser prevenida. Isso é realizado em parte pela interrupção da coagulação sangüínea e em parte pelo acionamento da fibrinólise. A fibrinólise envolve a degradação da fibrina em um coágulo, pela plasmina, uma serina-protease que é formada a partir de seu zimogênio, o plasminogênio. O plasminogênio é uma proteína sérica circulante que tem uma alta afinidade por fibrina, promovendo a incorporação do plasminogênio no coágulo em desenvolvimento. A atividade do plasminogênio é mediada por proteínas conhecidas como ativadores de plasminogênio. A conversão de plasminogênio em plasmina, por ativadores de plasminogênio, pode ocorrer na fase líquida do sangue e na superfície do coágulo; entretanto, esse último processo é, de longe, o mais eficiente. A proteína C ativada (APC), além de inativar a cascata de coagulação sangüínea, também estimula a liberação do ativador de plasminogênio a partir dos teci-

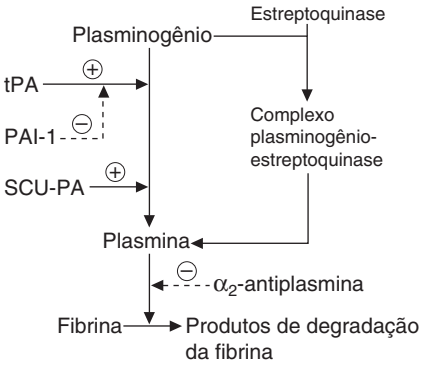


Figura 45.7 Regulação da ativação da plasmina. O plasminogênio pode ser ativado por t-PA ou por scu-PA (+). O PAI-1 bloqueia a ação do t-PA (-). A ligação da estreptoquinase ao plasminogênio permite a autocatálise para formar plasmina. A α_2-antiplasmina circulante bloqueia (-) a atividade de qualquer plasmina solúvel que esteja no sangue.

Tanto a estreptoquinase quanto o t-PA foram aprovados para o tratamento do infarto do miocárdio. Ambos reduzem a mortalidade. Embora haja mais efeitos colaterais associados ao uso de estreptoquinase, seu custo é inferior ao do t-PA.

dos (t-PA, ativador tecidual de plasminogênio; do inglês *tissue plaminogen activator*) e simultaneamente inativa um inibidor do ativador de plasminogênio, PAI-1.

A liberação do ativador de plasminogênio pode conduzir à formação de plasmina na circulação. Entretanto, a plasmina circulante é rapidamente inativada pela ligação com α_2-antiplasmina, um inibidor de protease circulante. A plasmina ligada ao coágulo não é prontamente inativada pela α-antiplasmina. Então, o plasminogênio ligado à fibrina facilita sua ativação em plasmina, protege-a de serpinas sangüíneas e a localiza no substrato de fibrina, para subseqüente ataque proteolítico eficiente. Esse mecanismo permite a dissolução da fibrina em trombos patológicos ou tampões hemostáticos grandes e, ao mesmo tempo, previne a degradação do fibrinogênio no sangue circulante.

Dois ativadores endógenos do plasminogênio são mais importantes; ambos são sintetizados em uma variedade de células. O ativador tecidual de plasminogênio (t-PA) é produzido principalmente pelas células endoteliais vasculares, tem uma alta afinidade por fibrina e desempenha um papel importante na fibrinólise. A uroquinase de cadeia simples (scu-PA, do inglês *single-chain urokinase plaminogen activator*) é sintetizada na maioria das células e dos tecidos e tem uma afinidade moderada por fibrina. A estreptoquinase, o ativador bacteriano exógeno de plasminogênio de *Streptococcus* β hemolítico, não é uma enzima, mas um modificador alostérico do plasminogênio humano que permite uma reação autocatalítica, de tal forma que a plasmina é formada. *In vivo*, estresse físico, hipoxia e um grande número de compostos orgânicos de baixo peso molecular promovem o aumento da síntese e da liberação de t-PA e de scu-PA a partir dos tecidos para o sangue. O balanço entre a liberação de ativadores de plasminogênio, a disponibilidade de fibrina e inibidores de ativadores e plasmina determina a regulação da resposta fibrinolítica, como indicado na Figura 45.7.

G. Regulação da Fibrinólise

Os antiativadores regulam a interação entre plasminogênio no sangue com ativadores de plasminogênio em um equilíbrio dinâmico. Mesmo que pequenas quantidades de plasmina sejam geradas (p. ex., após a liberação de ativadores vasculares de plasminogênio após o estresse), é provável que a enzima seja inativada por antiplasmina. Com a ativação do sistema de coagulação sangüínea, um coágulo de fibrina é formado, o qual não apenas liga fortemente t-PA e plasminogênio a partir do sangue, mas também acelera a taxa de ativação da plasmina. A plasmina ligada ao coágulo é protegida de inibidores enquanto estiver ligada à fibrina. A enzima é inativada por α_2-antiplasmina e α_2-macroglobulina após a dissolução proteolítica da fibrina e sua liberação na fase líquida do sangue. Dessa forma, a rede de fibrina catalisa a iniciação e a regulação da fibrinólise.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

Sloe Klotter tem hemofilia A, o distúrbio grave da coagulação sangüínea de maior freqüência em seres humanos, ocorrendo em 1 a cada 10.000 homens. A doença é transmitida por um padrão de herança ligado ao X.

As manifestações mais comuns de hemofilia A são aquelas causadas por sangramento para os tecidos moles (hematomas), como músculo, ou para os espaços corporais, como a cavidade peritoneal ou o lúmen do trato gastrintestinal. Quando o sangramento ocorre repetidamente nas articulações (hemartrose), as articulações podem, finalmente, tornar-se deformadas e imóveis.

No passado, episódios de sangramento eram manejados principalmente com a administração de Fator VIII, o qual é algumas vezes referido como co-fator anti-hemofilia. Infelizmente, a concentração de Fator VIII no plasma é muito baixa (0,3 nM comparado com 8.800 nM do fibrinogênio), necessitando que ele seja preparado a partir de muitos doadores. Antes que a utilização de procedimentos de triagem de doadores e de inativação de vírus durante a preparação do Fator VIII essencialmente

eliminasse a transmissão de doenças por transfusões de sangue, mais de 50% dos pacientes tratados com esse Fator durante a década de 1980 na Europa Ocidental e na América do Norte foram infectados com HIV. O Fator VIII recombinante está atualmente disponível para uso clínico.

Um outro distúrbio de sangramento ligado ao X é a hemofilia B, causada por mutações no gene para o Fator IX. A perda da atividade desse Fator leva a uma incapacidade em converter protrombina em trombina e prejudica a coagulação.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS

Vários fármacos têm sido desenvolvidos para inibir a cascata de coagulação sangüínea. Tais fármacos são úteis em casos nos quais os pacientes desenvolvem trombos espontaneamente, que, se não tratados, podem resultar em um embolismo pulmonar fatal. Há três principais classes desses fármacos; as heparinas, os antagonistas da vitamina K e os inibidores específicos da trombina.

A heparina ligará e ativará a ATIII, a qual conduz a uma inativação da trombina. A ATIII também bloqueia a atividade dos Fatores VIIIa, IXa, Xa e XIa. A heparina pode ser administrada em uma das duas formas: não-fracionada ou heparina de alto peso molecular (HMW, do inglês *high-molecular-weight*) e fracionada ou heparina de baixo peso molecular (LMW, do inglês *low-molecular-weight*). A heparina de HMW é uma mistura heterogênea de glicosaminoglicanos, com uma cadeia de comprimento médio de 45 monossacarídeos e com um peso molecular médio de 15 kDa (o intervalo é de 3 a 30 kDa). As heparinas de LMW são fragmentos de heparina de HMW, contendo menos de 18 monossacarídeos, com um peso molecular médio de 4 a 5 kDa.

A heparina de HMW irá se ligar a proteínas plasmáticas e à superfície celular em adição ao seu alvo primário, a ATIII. Como diferentes indivíduos sintetizam níveis diferentes de proteínas plasmáticas, o uso dessa forma de heparina como anticoagulante requer o monitoramento constante do paciente para assegurar que a dose correta tenha sido dada, de tal forma que nem trombos espontâneos se desenvolvam, nem sangramento espontâneo ocorra. A heparina de LMW tem menor número de interações não-específicas do que a heparina de HMW, e seus efeitos são mais fáceis de predizer em pacientes, de forma que o monitoramento constante não é necessário.

Uma complicação importante da terapia de heparina é a trombocitopenia induzida por heparina (HIT, do inglês *heparin-induced trombocytopenia* – coagulação sangüínea excessiva com uma redução no número de plaquetas circulantes). Esse resultado inesperado do tratamento com heparina é causado pela ligação da heparina a uma proteína plaquetária, o fator plaquetário 4 (PF4, do Inglês *platelet factor* 4), o qual induz uma mudança conformacional em PF4 de tal forma que o sistema imunológico reconhece o complexo como estranho. Assim, anticorpos são desenvolvidos contra o complexo heparina-PF4. Quando os anticorpos se ligam às plaquetas, essas são ativadas, e os trombos se desenvolvem. O tratamento consiste na remoção da heparina e no uso de diferentes formas de agentes antitrombóticos.

O antagonista clássico de vitamina K é a varfarina (*warfarin*). A varfarina atua bloqueando as enzimas vitamina K-redutases, requeridas para regenerar a vitamina K ativa (ver Figura 45.5). Isso resulta em γ-carboxilação reduzida dos Fatores II, VII, IX e X. Na ausência de γ-carboxilação, os fatores não podem ligar cálcio, nem formar os complexos necessários para iniciar a cascata de coagulação. Entretanto, a varfarina também bloqueia a atividade das proteínas S e C; então, tanto a coagulação sangüínea como a regulação da coagulação são prejudicadas pela administração de varfarina.

Ambas as terapias de heparina e de varfarina sofrem pela falta de especificidade; então, fármacos específicos para passos únicos na via de coagulação sangüínea têm sido procurados e identificados. A análise da potenciação heparínica na ligação do Fator Xa a ATIII mostrou que uma única seqüência pentassacarídica era necessária. Um pentassacarídeo apropriado, denominado fondaparinux, foi desenvolvido para aumentar especificamente as interações da ATIII com o Fator Xa (Figura 45.8). O fondaparinux estimula a ligação de ATIII ao Fator Xa em 300 vezes e é específico para a inibição do Fator Xa. O fondaparinux não afeta a atividade da trombina ou da plaqueta e não é um agente ativador de plaquetas. Devido ao fato de o fondaparinux não se ligar ao PF4, a HIT não é uma complicação dessa terapia.

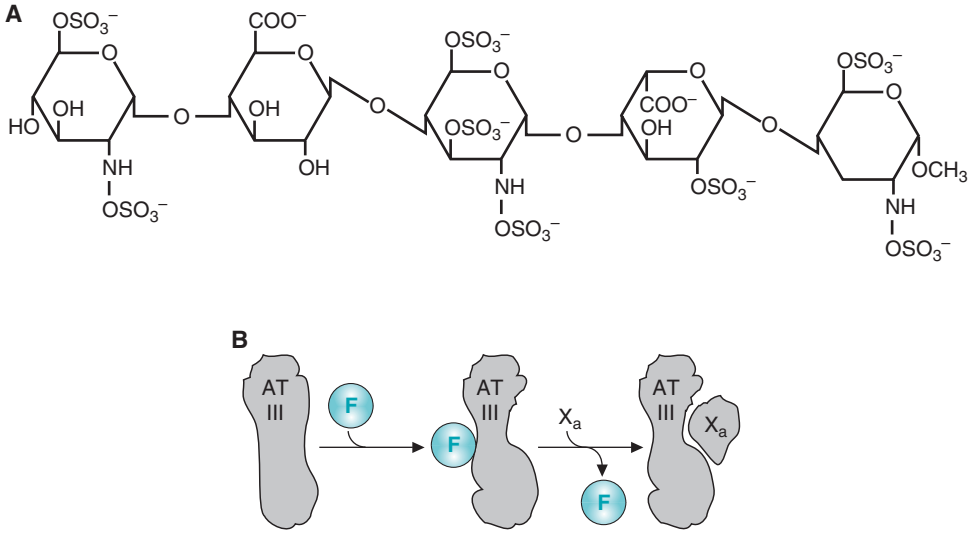


Figura 45.8 **A.** Estrutura do fondaparinux. **B.** Mecanismo de ação do fondaparinux. O fármaco (mostrado em azul) se liga à antitrombina III (ATIII), a qual induz uma mudança conformacional de tal forma que o Fator Xa pode agora ligar-se à ATIII. Uma vez que o Fator Xa se liga, e é inativado, o fármaco é liberado e pode ativar uma outra molécula de ATIII.

Os inibidores diretos da trombina são fundamentados nas moléculas de hirudina, as quais foram inicialmente descobertas em sanguessugas e em outros organismos sugadores de sangue. Esses organismos não seriam capazes de se alimentar se o sangue coagulasse no sítio da punção; então, os organismos secretam inibidores de trombina para impedir que ocorra a coagulação. O tratamento com a hirudina é perigoso, já que a formação do complexo hirudina-trombina é irreversível, e o uso do fármaco requer monitoramento constante do paciente. Então, para superar esse problema, foi utilizado o desenho racional de fármacos com base na estrutura da hirudina, e foi sintetizado um peptídeo sintético de 20 aminoácidos, conhecido como bivalirudina. Esse agente tem uma alta afinidade de ligação e especificidade por trombina, embora seus efeitos sobre a trombina sejam transitórios (não-irreversíveis), fazendo desse um agente seguro para o uso em longo prazo.

Leituras Sugeridas

Bauer KA. Selective inhibition of coagulation factors: advances in antithrombotic therapy. Seminars in Thrombosis and Hemostasis 2002;28:15-24.

Robetorye RS, Rodgers GM. Update on selected inherited venous thrombotic disorders. Am J Hematol 2001;68:256-268.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 45

1. O edema observado em pacientes com desnutrição protéica não-calórica é devido à qual das seguintes alternativas?

   (A) Perda de massa muscular
   (B) Ingestão de excesso de carboidratos
   (C) Captação aumentada de fluido
   (D) Síntese protéica reduzida no fígado
   (E) Produção aumentada de corpos cetônicos

2. Um paciente cirúrgico recente, recebendo terapia de varfarina, apresentou sangramentos internos. O processo de coagulação é deficiente nesse paciente, principalmente, devido à qual das seguintes alternativas?

   (A) Incapacidade do fígado em sintetizar fatores de coagulação
   (B) Uma inibição específica da ativação do Fator XIII

(C) Uma incapacidade em formar complexos de fatores da coagulação sobre as membranas
(D) Uma redução dos níveis plasmáticos de cálcio
(E) Uma elevação na atividade da proteína C

3. Uma mutação inativadora em qual das seguintes pró-enzimas poderia levar à trombose, coagulação sangüínea descontrolada?

(A) Fator XIII
(B) Protrombina
(C) Proteína C
(D) Fator VIII
(E) Fator tecidual

4. A hemofilia A clássica resulta em uma incapacidade para ativar diretamente qual dos seguintes fatores?

(A) Fator II
(B) Fator IX
(C) Fator X
(D) Proteína S
(E) Proteína C

5. A hemofilia B resulta em uma incapacidade para ativar diretamente qual dos seguintes fatores?

(A) Fator II
(B) Fator IX
(C) Fator X
(D) Proteína S
(E) Proteína C

46 Metabolismo do Fígado

O fígado está estrategicamente interposto entre a circulação geral e o trato digestivo. Ele recebe pela veia porta (que leva os nutrientes absorvidos e outras substâncias do trato gastrintestinal para o fígado) e pela artéria hepática (que leva o sangue da circulação geral de volta para o fígado) de 20 a 25% do volume de sangue que deixa o coração por minuto (débito cardíaco). Agentes potencialmente tóxicos absorvidos pelo intestino ou levados para o fígado pela artéria hepática devem passar por esse ***órgão metabolicamente ativo*** *antes que possam alcançar outros órgãos do corpo. Seu tamanho relativamente grande (cerca de 3% do peso corporal) permite tempo de permanência prolongado dentro dele para que os nutrientes sejam metabolizados de forma adequada, bem como as substâncias potencialmente perigosas sejam destoxificadas e preparadas para a excreção na urina ou nas fezes. Portanto, entre outras funções, o fígado, em conjunto com o rim e o intestino, é um* ***órgão excretor*** *equipado com um espectro amplo de mecanismos de destoxificação. Por exemplo, ele tem a capacidade de executar* ***rotas de conversões metabólicas*** *e possui* ***sistemas secretores*** *que permitem a excreção de compostos potencialmente tóxicos. Ao mesmo tempo, o fígado contém* ***mecanismos de transporte*** *altamente seletivos e específicos para nutrientes essenciais que são necessários não apenas para suprir sua própria energia, mas também para fornecer substratos fisiologicamente importantes para as necessidades sistêmicas do organismo. Além de uma miríade de processos de transporte presentes na membrana plasmática sinusoidal e canalicular (ver a seguir), sistemas intracelulares de transporte existem nas organelas dos hepatócitos, como* ***endossomos***, ***mitocôndria***, ***lisossomos***, *bem como no* ***núcleo***. *As etapas de transporte seqüencial, executadas por essas organelas, incluem (1)* ***captação***, *(2)* ***seqüestro e ligação intracelular***, *(3)* ***metabolismo***, *(4)* ***secreção sinusoidal*** *e (5)* ***excreção biliar***. *A taxa de transporte hepatobiliar é determinada, em parte, pela taxa de atividade de cada uma dessas etapas. A taxa de transporte global também é determinada por fatores como fluxo sangüíneo hepático, ligação de proteínas plasmáticas e taxa de reabsorção canalicular. Os vários aspectos dos principais processos metabólicos executados pelo fígado foram discutidos com detalhes em outras partes deste livro. O amplo espectro das contribuições do fígado para a saúde e a doença como um todo é discutido neste capítulo.*



SALA DE ESPERA



As dificuldades familiares de **Jean Ann Tonich** continuaram, e, apesar de um período de sobriedade que durou seis meses, ela finalmente recomeçou a beber quantidades crescentes de gim em um esforço para lidar com suas várias ansiedades; lentamente, o apetite também diminuiu. Ela se retirou, gradualmente, de muitos dos programas sociais de apoio que seus médicos e amigos tentaram estabelecer durante seu esforço de reabilitação. A dor no hemiabdômen superior se tornou quase constante, e ela notou aumento da cintura e distensão abdominal. Bem cedo em uma manhã, ela foi acordada por dor intensa no abdômen superior. Ela vomitou um

material marrom-escuro com aparência de "borra de café" seguido de quantidades copiosas de sangue vermelho-vivo. Ela ligou para uma amiga, que a levou rapidamente para a emergência do hospital.



Amy Biasis, uma missionária de 23 anos, foi trazida à emergência do hospital queixando-se de início abrupto de febre, calafrios e dor intensa no quadrante superior direito do abdômen. A dor era de natureza constante e irradiava para o topo do ombro direito. Ela vomitou alimentos não-digeridos duas vezes na hora anterior à chegada na emergência. Isso não aliviou a dor.

Sua história médica indicava que, durante o serviço como missionária em Belize ocidental, América Central, dois meses antes, ela tinha tido uma doença por três dias que incluía febre, calafrios e diarréia leve, mas persistente. Lá, uma missionária médica amiga de Amy prescreveu-lhe uma medicação não-identificada que ela tomou por sete dias. A diarréia de Amy lentamente melhorou, e, desde então, ela se sentiu bem até que os sintomas abdominais atuais começassem.

Ao exame físico, ela parecia toxêmica e apresentava uma temperatura de 38,3ºC. Ela estava suando profusamente. A margem inferior anterior do fígado era palpável a três dedos abaixo do arco costal direito, o que é sugestivo de aumento do tamanho do fígado. A borda do fígado estava arredondada e macia. A primeira percussão do arco costal inferior direito posterior, mesmo de forma delicada, causou dor forte. Exames laboratoriais de rotina foram solicitados, e uma tomografia computadorizada (TC) do abdômen superior foi agendada para ser feita imediatamente.

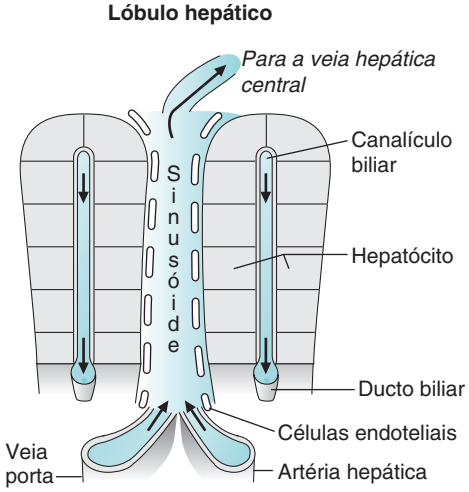


Figura 46.1 Visão esquemática da anatomia do fígado.

I. ANATOMIA DO FÍGADO

O fígado humano consiste em dois lobos, cada um contendo múltiplos lóbulos e sinusóides. O fígado recebe 75% do seu suprimento sangüíneo pela veia porta, que leva o sangue que retorna para o coração a partir do intestino delgado, do estômago, do pâncreas e do baço. Os 25% restantes do suprimento sangüíneo do fígado são arteriais, levados ao fígado pela artéria hepática.

Tanto o sangue da veia porta quanto o da artéria hepática desembocam em um conduto comum, misturando seus conteúdos na medida em que entram nos sinusóides hepáticos (Figura 46.1). Os sinusóides são canais vasculares expansíveis que percorrem os lóbulos hepáticos. Eles são revestidos por células endoteliais que são descritas como "vazadas", pois, conforme o sangue flui através dos sinusóides, o conteúdo do plasma tem um acesso relativamente livre aos hepatócitos, os quais estão localizados no outro lado das células endoteliais.

O fígado também é um órgão exócrino que secreta bile para o sistema de drenagem biliar. Os hepatócitos secretam a bile para o canalículo biliar, cujo conteúdo corre em paralelo àquele dos sinusóides, mas em direção oposta. Os canalículos desembocam nos ductos biliares. Então, os lumens desses ductos biliares se fundem, formando o ducto biliar comum. Esse ducto, por fim, libera a bile dentro do duodeno. Parte do efluente hepático é armazenada na vesícula biliar e é descarregada no duodeno após a alimentação para ajudar na digestão.

Toda a superfície do fígado é recoberta por uma cápsula de tecido conjuntivo que se ramifica e se estende por todo o fígado. Essa cápsula fornece suporte para os vasos sangüíneos e linfáticos e para os ductos biliares que permeiam o fígado. Além disso, essa lâmina de tecido conjuntivo subdivide os lobos hepáticos em lóbulos menores.

II. TIPOS DE CÉLULAS DO FÍGADO

As principais células do fígado são os hepatócitos. Essas células, também conhecidas como células parenquimatosas do fígado, formam os lóbulos hepáticos. Oitenta por cento do volume do fígado são compostos de hepatócitos, mas esses são apenas 60% do número total de células do fígado. Os outros 40% são de células não-parenquimatosas, que constituem as células de revestimento das paredes dos sinusóides.

Essas células compreendem as células endoteliais, as células de Kupffer e as células estreladas hepáticas. Além disso, linfócitos intra-hepáticos, que incluem as *pit cells* (células NK, ou *natural killer*, específicas do fígado), também estão presentes no revestimento sinusoidal.

A. Hepatócitos

Os hepatócitos são as células que desempenham as várias funções do fígado. Quase todas as vias do metabolismo estão representadas no hepatócito, e essas vias são controladas por ações de hormônios que se ligam a receptores localizados na membrana plasmática de suas células. Embora sejam células normalmente quiescentes com baixo *turnover* e longa duração, os hepatócitos podem ser estimulados a crescer se ocorrerem danos a outras células no fígado. A massa do fígado apresenta uma relação praticamente constante à massa corporal em indivíduos adultos. Desvios da relação ideal ou normal (causados, p. ex., por uma hepatectomia parcial ou lesão ou morte significativa de células hepáticas) são corrigidos de forma rápida por crescimento hepático causado pelo aumento proporcional na replicação de hepatócitos.



Os resultados dos exames laboratoriais iniciais de **Amy Biasis** mostraram uma elevação de transaminases hepáticas, fosfatase alcalina e bilirrubina total no soro.

B. Células Endoteliais

As células endoteliais sinusoidais são as células de revestimento dos sinusóides. Ao contrário das células endoteliais de outros tecidos do corpo, elas contêm fenestrações com um diâmetro médio de 100 nm. Portanto, não formam uma barreira compacta de membrana basal entre elas mesmas e os hepatócitos. Desse modo, permitem a difusão livre de moléculas pequenas para os hepatócitos, mas não de partículas do tamanho de quilomícrons (entretanto, os quilomícrons remanescentes, que são menores do que os quilomícrons, realmente têm livre passagem para os hepatócitos). As células endoteliais são capazes de fazer endocitose de vários ligantes e também podem secretar citocinas quando estimuladas de forma adequada. Devido ao seu posicionamento, à falta de junções de oclusão e à ausência de uma membrana basal compacta, as células endoteliais do fígado não representam uma barreira significativa contra o movimento do conteúdo dos sinusóides para o interior dos hepatócitos. Suas fenestrações ou poros, na verdade, promovem a passagem livre dos componentes do sangue através dessa membrana para as células parenquimatosas do fígado.

C. Células de Kupffer

Essas células estão localizadas no revestimento sinusoidal. Elas contêm quase um quarto de todos os lisossomas do fígado. As células de Kupffer são macrófagos teciduais com capacidade tanto endocítica quanto fagocítica. Elas fagocitam muitas substâncias, como albumina desnaturada, bactérias e complexos imunológicos. Elas protegem o fígado contra materiais particulados, derivados do intestino, e produtos bacterianos. Sob a estimulação de imunomoduladores, essas células secretam potentes mediadores de resposta inflamatória e participam da defesa imunológica do fígado através da liberação de citocinas, que levam à inativação de substâncias consideradas estranhas ao organismo. As células de Kupffer também removem os eritrócitos danificados da circulação.

D. Células Estrelares Hepáticas

As células estrelares hepáticas também são chamadas de células perissinusoidais ou de Ito. Existem aproximadamente de 5 a 20 dessas células para cada centena de hepatócitos. As células estrelares são células preenchidas por lipídeo (são o principal local de armazenamento de vitamina A). Elas também controlam o *turnover* do tecido conjuntivo hepático e da matriz extracelular e regulam a contratilidade dos sinusóides. Na vigência de cirrose hepática, as células estrelares são estimuladas por vários sinais a aumentar a sua síntese de material da matriz extracelular. Essa, por sua vez, infiltra difusamente o fígado, o que acaba por interferir com a função dos hepatócitos.

E. *Pit Cells*

As *pit cells* (células de "ataque, luta, rinha") hepáticas, também conhecidas por linfócitos associados ao fígado, são as células NK (do inglês *natural killer*, matadoras naturais), um mecanismo de defesa contra a invasão do fígado por agentes potencialmente tóxicos, como as células tumorais ou os vírus.

III. PRINCIPAIS FUNÇÕES DO FÍGADO

A. O Fígado é a Sede Central de Recebimento e Reciclagem para o Corpo

O fígado pode executar uma multiplicidade de reações bioquímicas. Isso é necessário devido ao seu papel de monitorar, reciclar, modificar e distribuir constantemente todos os vários compostos absorvidos vindos do trato digestivo e levados ao fígado. Se qualquer porção de um composto absorvido é potencialmente útil para o organismo, o fígado irá retê-la e convertê-la em substratos que possam ser usados pelas células hepáticas e não-hepáticas. Ao mesmo tempo, o fígado remove muitos compostos tóxicos que são ingeridos ou produzidos no corpo e os destina para excreção na urina e na bile.

Como mencionado previamente, o fígado recebe sangue rico em nutrientes da circulação entérica pela veia porta; assim, todos os compostos que entram no sangue vindos do trato digestivo passam através do fígado no seu trajeto para os outros tecidos. A circulação entero-hepática permite ao fígado ter o primeiro acesso aos nutrientes para cumprir funções específicas (como a síntese de proteínas de coagulação do sangue, heme, purinas e pirimidinas) e ter o primeiro acesso a compostos tóxicos ingeridos (como o etanol) e a produtos metabólicos potencialmente perigosos (como o NH_4^+ produzido pelo metabolismo bacteriano no intestino).

Além do suprimento sangüíneo que vem pela veia porta, o fígado recebe sangue rico em oxigênio pela artéria hepática; esse sangue arterial se mistura com aquele vindo pela veia porta nos sinusóides. Esse processo incomum de mistura dá ao fígado acesso a vários metabólitos produzidos na periferia e secretados na circulação periférica, como glicose, alguns aminoácidos particulares, certas proteínas, complexos ferro-transferrina e metabólitos de eliminação, bem como toxinas potenciais produzidas durante o metabolismo de substratos. Como já mencionado, a fenestração das células endoteliais, combinada com as aberturas entre as células, a ausência de membrana basal entre as células endoteliais e os hepatócitos, e a baixa pressão sangüínea portal (que resulta em fluxo sangüíneo lento) contribuem para a troca eficiente de compostos entre o sangue sinusoidal e os hepatócitos, e para a depuração de compostos indesejáveis do sangue. Assim, moléculas grandes destinadas para processamento, como proteínas séricas e quilomícrons remanescentes, podem ser removidas pelo hepatócito, degradadas, e seus componentes podem ser reciclados. Da mesma forma, moléculas recém-sintetizadas, como lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e proteínas séricas, podem ser facilmente secretadas para o sangue. Além disso, o fígado pode converter todos os aminoácidos constituintes de proteínas em glicose, ácidos graxos e corpos cetônicos. A secreção de VLDL pelo fígado não apenas leva o excesso de calorias ao tecido adiposo para o armazenamento de ácidos graxos na forma de triacilglicerol, como também leva fosfolipídeos e colesterol para os tecidos que necessitam desses compostos para a síntese das membranas da célula, bem como para outras funções. A secreção de glicoproteínas pelo fígado é realizada pela sua capacidade gliconeogenética, seu acesso a uma variedade de açúcares da dieta para formar as cadeias de oligossacarídeos, bem como pelo seu acesso aos aminoácidos da dieta com os quais o fígado sintetiza proteínas. Assim, o fígado tem a capacidade de executar um enorme número de reações biossintéticas. Ele tem recursos bioquímicos para sintetizar uma miríade de compostos a partir de um amplo espectro de precursores. Ao mesmo tempo, ele metaboliza compostos a produtos bioquimicamente úteis. Por outro lado, o fígado tem a habilidade de degradar e excretar aqueles compostos apresentados a ele que não podem ser mais utilizados pelo corpo.



A tomografia computadorizada do abdômen superior de **Amy Biasis** mostrou hemidiafragma direito aumentado, bem como várias massas císticas no fígado, a maior delas localizada na porção superior do lobo direito. A história clínica, bem como a história de possível exposição a parasitas quando estava trabalhando em Belize, América Central, em uma parte da cidade de sabidamente com recursos sanitários precários, levou o médico a solicitar prontamente uma titulação de anticorpos do soro contra o parasita *Entamoeba histolytica* além de medir anticorpos séricos contra outros parasitas invasivos.

O conhecimento das características funcionais das células hepáticas tem sido usado para projetar reagentes diagnósticos que possam ser usados para determinar a normalidade de rotas bioquímicas específicas de hepatócitos. Esses fármacos "feitos sob medida" podem ser planejados para serem captados por um ou mais dos mecanismos de transporte disponíveis no fígado. Por exemplo, os processos de endocitose mediados por receptor podem ser usados como alvos para investigar funções de transporte mediadas por receptores específicos de células hepáticas. O receptor de assialoglicoproteína, conhecida como uma proteína específica do fígado, tem sido usado com essa abordagem diagnóstica. O substrato $^{99}T_c^m$-galactosil-neoglicoalbumina (NGA) foi desenvolvido como um ligante específico para a captação seletiva por esse receptor hepático particular. A duração e a extensão da assimilação dessa sonda pelos hepatócitos, determinada pela visualização por imagem do fígado em intervalos precisos após a administração desse isótopo, fornecem uma estimativa do fluxo sangüíneo hepático bem como da capacidade de transporte dessa proteína transportadora hepática específica.

A titulação de anticorpos contra *Entamoeba histolytica* por imunoensaio enzimático foi muito reagente no sangue de **Amy Biasis**. O diagnóstico de amebíase foi feito. Os médicos iniciaram a administração intravenosa do amebicida nitroimidazole na dose de 500 mg a cada 6 horas, por 10 dias. No terceiro dia de tratamento, Amy começou a sentir-se visivelmente melhor. Os médicos comunicaram que a expectativa de resposta clínica plena a esse tratamento é esperada em 95% dos pacientes com abscessos hepáticos por amebíase, embora os abscessos hepáticos múltiplos piorem um pouco o seu prognóstico.

Tabela 46.1 Exemplos de Enzimas Usadas na Biotransformação de Substâncias Xenobióticas

Acetiltransferase
Amidase-esterase
Desidrogenase
Flavina-monoxigenase
Glutationa-S-transferase
Metiltransferase
Oxidase de função mista
Redutase
Sulfotransferase
UDP-glucosiltransferase
UDP-glucuronosiltransferase

Cada uma das células do fígado descritas possui mecanismos especializados de transporte e captação para enzimas, agentes infecciosos, fármacos e outros xenobióticos que especificamente destinam essas substâncias para certos tipos de célula do fígado. Isso é alcançado devido ao fato de esses agentes ligarem-se covalentemente a seus carreadores específicos por ligações biodegradáveis. Esses carreadores, então, determinam o destino particular do fármaco pelo uso de reconhecimento, captação, transporte e rotas de biodegradação celulares específicos.

B. Inativação e Destoxificação de Compostos Xenobióticos e de Metabólitos

Os xenobióticos são compostos que não têm nenhum valor nutritivo (não podem ser utilizados pelo corpo para os requerimentos de energia) e são potencialmente tóxicos. Eles estão presentes como componentes naturais dos alimentos ou podem ser introduzidos nesses como aditivos ou por processamento. As drogas farmacológicas e recreacionais também são substâncias xenobióticas. O fígado é o principal local do corpo para a degradação desses compostos. Como muitas dessas substâncias são lipofílicas, elas são oxidadas, hidroxiladas ou hidrolisadas por enzimas nas reações de fase I. Estas reações introduzem ou expõem grupos hidroxila e outros sítios reativos que podem ser utilizados para as reações de conjugação (as reações de fase II). As reações de conjugação adicionam à molécula um grupo carregado negativamente, como glicina ou sulfato. Os compostos xenobióticos são transformados por várias rotas diferentes. Um esquema geral de inativação é mostrado na Figura 46.2.

As rotas de conjugação e inativação são similares àquelas usadas pelo fígado para a inativação de seus próprios produtos metabólicos de eliminação. Essas rotas estão intimamente relacionadas às cascatas biossintéticas que existem no fígado. O fígado pode sintetizar os precursores que são requeridos para as reações de conjugação e inativação a partir de outros compostos. Por exemplo, a sulfatação é utilizada pelo fígado para retirar da circulação hormônios esteróides. O sulfato utilizado para esse propósito pode ser obtido a partir da degradação de cisteína ou metionina.

O fígado, o rim e o intestino são os principais locais do corpo para a biotransformação de compostos xenobióticos. Muitos desses compostos contêm anéis aromáticos (como o benzopireno na fumaça do tabaco) ou estruturas de anel heterocíclico (como os anéis nitrogenados da nicotina ou da piridoxina), os quais os seres humanos são incapazes de degradar ou reciclar em compostos utilizáveis. Essas estruturas são hidrofóbicas, o que provoca a retenção dessas moléculas no tecido adiposo a menos que sejam seqüestradas pelo fígado, rim ou intestino para as reações de biotransformação. Entretanto, algumas vezes, o efeito é contrário ao desejado, e as reações de fase I e II convertem moléculas hidrofóbicas inofensivas em toxinas ou produtos carcinógenos potentes.

1. CITOCROMO P450 E METABOLISMO XENOBIÓTICO

A toxificação/destoxificação de xenobióticos é obtida por meio da atividade de um grupo de enzimas com um amplo espectro de atividade biológica. Alguns exemplos de enzimas envolvidas em transformação xenobiótica estão descritos na Tabela 46.1. Da extensa variedade de enzimas que estão envolvidas no metabolismo xenobiótico, apenas o sistema monoxigenase dependente de citocromo P450 é discutido aqui. As enzimas monoxigenases dependentes de citocromo P450 são determinantes na degradação oxidativa, peroxidativa e redutiva de substâncias exógenas (produtos químicos, carcinógenos e poluentes, etc.) e endógenas (esteróides, prostaglandinas, retinóides, etc.). Os constituintes enzimáticos principais desse sistema são a flavoproteína NA-

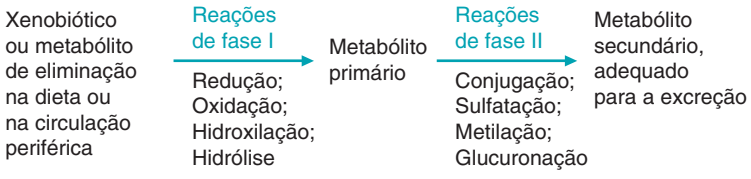


Figura 46.2 Esquema geral de destoxificação de xenobióticos.

DPH-citocromo P450-oxirredutase e o citocromo P450 (Figura 46.3). Esse último é o aceptor de elétrons terminal e o sítio de ligação de substrato do complexo oxidase de função mista microssomal, um sistema catalítico muito versátil. Esse sistema recebeu seu nome em 1962, quando Omura e Sato descobriram um pigmento com características espectrais únicas derivado de microssomo hepático de coelhos. Quando reduzido e complexado com monóxido de carbono, ele exibia uma absorbância espectral máxima a 450 nm.

O principal papel das enzimas citocromo P450 (ver Capítulo 25) é oxidar substratos e introduzir oxigênio em suas estruturas. Reações similares podem ser realizadas por outras flavina-monoxigenases que não contêm citocromo P450.

A família de enzimas citocromo P450 contém pelo menos de 100 a 150 isoenzimas diferentes com no mínimo 40% de seqüências homólogas. Essas isoenzimas têm especificidades diferentes, mas sobrepostas. As enzimas de seres humanos em geral são divididas em seis subfamílias maiores, e cada uma delas também é subdividida. Por exemplo, no nome da principal enzima envolvida na oxidação de etanol a acetaldeído, a CYP2E1, o "CYP" (***cy**tochrome **P**450*) denota a família citocromo P450, o "2" denota a subfamília, o "E" denota o **e**tanol, e o "1" denota a isoenzima específica.

A isoforma CYP3A4 representa 60% das enzimas CYP450 do fígado e 70% das enzimas de citocromo dos enterócitos da parede do intestino. Ela metaboliza a maioria dos fármacos em seres humanos. Os fármacos específicos são substratos para a CYP3A4. A ingestão concomitante de dois substratos da CYP3A4 poderia potencialmente induzir a competição pelo sítio de ligação, o que, por sua vez, poderia alterar os níveis sangüíneos desses dois agentes. O fármaco com maior afinidade pela enzima seria preferencialmente metabolizado, enquanto o metabolismo (e a degradação) do outro fármaco seria diminuído, e, então, sua concentração sangüínea aumentaria.

Além disso, muitas substâncias ou fármacos prejudicam ou inibem a atividade da enzima CYP3A4, prejudicando, assim, a capacidade do corpo para metabolizar um fármaco. Os agentes de diminuição dos níveis de lipídeos conhecidos como estatinas (inibidores da HMG-CoA-redutase) requerem a CYP3A4 para a sua degradação. O tratamento medicamentoso adequado e sua dose levam em consideração a rota degradativa normal do fármaco. Entretanto, o suco de toranja (*grapefruit*) é um inibidor potente do metabolismo de fármacos mediado por CYP3A4. Evidências sugerem que, se a estatina é tomada regularmente com suco de toranja, seus níveis no sangue podem se elevar até 15 vezes. Esse aumento marcante na sua concentração plasmática poderia aumentar a toxicidade hepática e muscular da estatina em questão, pois os efeitos colaterais das estatinas parecem ser dose-dependentes.

Todas as isoenzimas citocromo P450 apresentam certos aspectos em comum:

1. Todas contêm citocromo P450, oxidam o substrato e reduzem o oxigênio.
2. Todas contêm uma subunidade redutase contendo flavina que utiliza NADPH, e não NADH, como substrato.
3. Todas são encontradas no retículo endoplasmático liso e são referidas como enzimas microssomais (p. ex., CYP2E1 também é referida como sistema microssomal de oxidação de etanol [MEOS, do inglês *microsomal ethanol oxidazing system*]).
4. Todas são ligadas à porção lipídica da membrana, provavelmente na fosfatidilcolina.
5. Todas são induzíveis na presença do seu substrato preferencial e um pouco menos induzíveis pelos substratos de outras isoenzimas P450.
6. Todas geram um composto reativo radical livre como intermediário na reação.

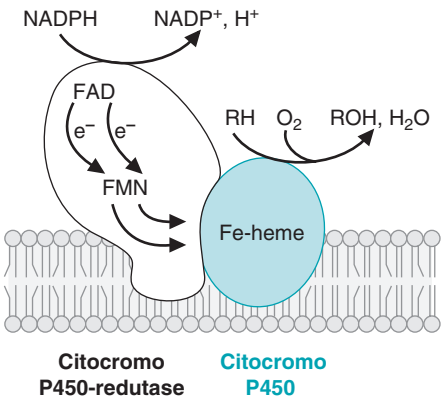


Figura 46.3 Estrutura geral de enzimas P450. O O_2 se liga ao Fe-heme no sítio ativo do P450 e é ativado a uma forma reativa pelo recebimento de elétrons. Os elétrons são doados pela citocromo P450-redutase que contém um FAD e mais um FMN ou um centro Fe-S para facilitar a transferência de elétrons isolados do NADPH ao O_2. As enzimas P450 envolvidas na esteroidogênese têm uma estrutura um pouco diferente. Para a CYP2E1, o RH é o etanol (CH_3CH_2OH), e o ROH é o acetaldeído (CH_3COH).

2. EXEMPLOS DE REAÇÕES DE DESTOXIFICAÇÃO DE CITOCROMO P450

i. Cloreto de Vinil

A destoxificação do cloreto de vinil fornece um exemplo de destoxificação efetiva por uma isoenzima P450 (a destoxificação do etanol foi discutida no Capítulo 25). O cloreto de vinil é usado na síntese de plásticos e pode causar angiossarcoma no fígado de trabalhadores expostos a ele. O cloreto de vinil é ativado em uma reação de fase I a um epóxido reativo por uma isoenzima P450 hepática (CYP2E1), que pode reagir com a

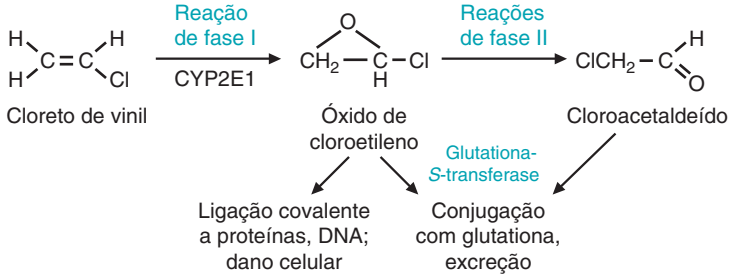


Figura 46.4 Destoxificação de cloreto de vinil.

guanina no DNA e outras moléculas celulares. Entretanto, ele também pode ser convertido em cloroacetato, conjugado com glutationa reduzida e excretado em uma série de reações de fase II (Figura 46.4).

ii. Aflatoxina B1

A aflatoxina B1 é um exemplo de composto que pode se tornar mais tóxico por uma reação de citocromo P450 (CYP2A1). Pesquisas atuais sugerem que a aflatoxina B1 ingerida em alimentos contaminados (ela é produzida por um fungo [*Aspergillus flavus*] que cresce em amendoins estocados em condições de umidade) está diretamente envolvida na hepatocarcinogênese em seres humanos por introduzir uma mutação G > T no gene *p53*. A aflatoxina é ativada metabolicamente ao seu derivado 8,9-epóxido por duas isoenzimas de citocromo P450 diferentes. O epóxido modifica o DNA por formar adutos covalentes com resíduos de guanina. Além disso, o epóxido pode combinar-se com resíduos de lisina no interior de proteínas e, assim, também ser uma hepatotoxina.

iii. Acetaminofen

O acetaminofen (paracetamol) é um exemplo de um xenobiótico que é metabolizado pelo fígado para sua excreção segura; entretanto, pode ser tóxico se ingerido em altas

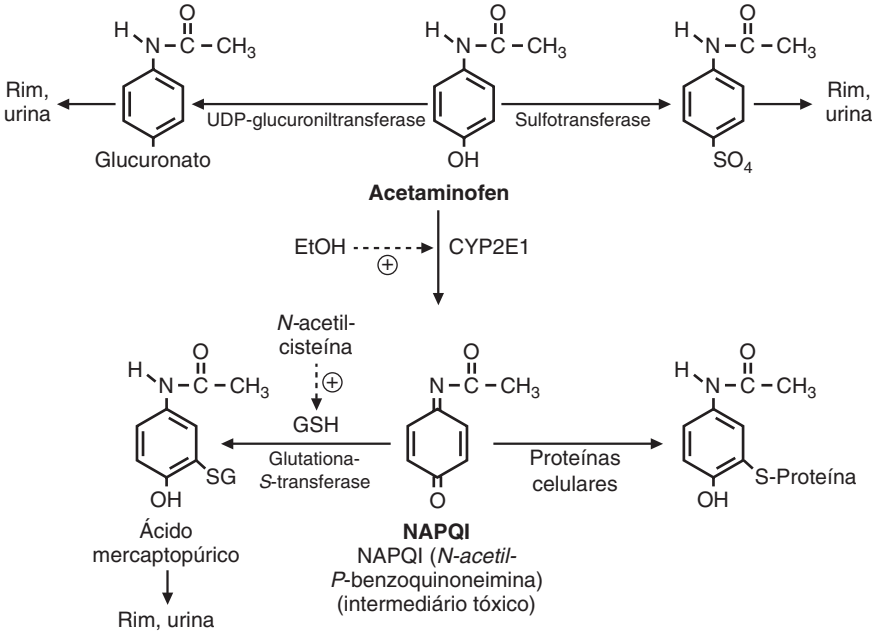


Figura 46.5 Vias de destoxificação de acetaminofen (paracetamol). A *N*-acetilcisteína estimula a produção de glutationa, conseqüentemente reduzindo os níveis de NAPQI, que pode provocar dano às proteínas celulares. O etanol provoca *upregulation* da atividade da CYP2E1 (a MEOS).

doses. As rotas para o metabolismo do acetaminofen estão mostradas na Figura 46.5. Como aparece na figura, o acetaminofen pode ser glucuronado ou sulfatado para sua excreção segura pelo rim. Entretanto, a enzima citocromo P450 produz o intermediário tóxico *N*-acetil-p-benzoquinoneimina (NAPQI) que pode ser excretado de forma segura na urina depois da conjugação com glutationa.

A NAPQI é um metabólito perigoso e instável que pode danificar as proteínas celulares e provocar a morte do hepatócito. Sob condições normais, quando o acetaminofen é tomado nas quantidades terapêuticas corretas, menos de 10% do fármaco forma NAPQI, uma quantidade que pode ser prontamente manipulada pelo sistema de destoxificação da glutationa (reações de fase II). Entretanto, quando ele é ingerido em doses potencialmente tóxicas, a capacidade dos sistemas da sulfotransferase e da glucuroniltransferase é ultrapassada, e mais acetaminofen é metabolizado pela rota da NAPQI. Quando isso ocorre, os níveis de glutationa no hepatócito são insuficientes para destoxificar a NAPQI, o que pode resultar na morte do hepatócito.

A enzima que produz NAPQI, a CYP2E1, é induzida por álcool (ver Capítulo 25, MEOS). Assim, os indivíduos que abusam cronicamente de álcool têm uma sensibilidade aumentada à toxicidade do acetaminofen devido ao fato de uma maior porcentagem do metabolismo do acetaminofen ser direcionada para a NAPQI, comparada com indivíduos com baixos níveis de CYP2E1. Portanto, mesmo doses terapêuticas recomendadas de acetaminofen podem ser tóxicas nesses indivíduos.

Um tratamento efetivo para a intoxicação por acetaminofen envolve o uso de *N*-acetilcisteína. Esse composto fornece cisteína como precursora para o aumento da produção de glutationa, o que, por sua vez, aumenta as reações de fase II que reduzem os níveis do intermediário tóxico.

C. Regulação dos Níveis de Glicose Sangüínea

Uma das funções primárias do fígado é manter a concentração de glicose sangüínea dentro do intervalo normal. A maneira pela qual o fígado consegue fazer isso foi assunto de capítulos anteriores (26, 31 e 36). Resumidamente, o pâncreas monitora os níveis de glicose sangüínea e secreta insulina, quando esses níveis aumentam, e glucagon, quando eles diminuem. Esses hormônios iniciam as cascatas regulatórias que afetam a glicogenólise, a síntese de glicogênio, a glicólise e a gliconeogênese hepáticas. Além disso, aumentos fisiológicos sustentados da secreção de hormônio do crescimento, cortisol e catecolaminas ajudam a manter os níveis normais de glicose sangüínea durante o jejum.



Inúmeros outros fatores além da insulina e do glucagon podem afetar o metabolismo da glicose no fígado, como foi descrito no Capítulo 43.

Quando os níveis de glicose sangüínea caem, a glicólise e a síntese de glicogênio são inibidas, e a gliconeogênese e a glicogenólise são ativadas. Simultaneamente, a oxidação de ácidos graxos é ativada para fornecer energia para a síntese de glicose. Durante um jejum noturno, os níveis de glicose sangüínea são mantidos principalmente pela glicogenólise, e, se a gliconeogênese for necessária, a energia (6 ATP são necessários para produzir uma molécula de glicose a partir de duas moléculas de piruvato) é obtida pela oxidação de ácidos graxos. Com a liberação de insulina, as rotas opostas são ativadas de tal forma que o excesso de substratos energéticos possa ser armazenado tanto como glicogênio quanto como ácido graxo. As rotas são reguladas pela ativação ou inibição de duas quinases-chave, a proteína-quinase dependente de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) e a proteína-quinase AMP-ativada (ver Figura 36.11 para uma revisão dessas rotas). Lembre-se que o fígado pode exportar glicose, pois é um dos dois tecidos que expressam glicose-6-fosfatase.

D. Síntese e Exportação de Colesterol e Triacilglicerol

Quando o suprimento de alimento é pleno, a ativação hormonal leva à síntese de ácidos graxos, triacilglicerol e colesterol. Uma ingestão dietética elevada e a alta reabsorção intestinal de colesterol serão compensadas pela redução da taxa de síntese hepática de colesterol, e, nesse caso, o fígado age como um depósito de reciclagem para enviar o excesso de colesterol da dieta para os tecidos periféricos quando necessário, bem como para receber colesterol desses tecidos quando requerido. As rotas do metabolismo de colesterol foram discutidas no Capítulo 34.

E. Amônia e Ciclo da Uréia

O fígado é o órgão fundamental para a síntese de uréia e, como tal, é um depósito central para a eliminação de amônia no corpo. Os grupos amônia são levados ao fígado sob a forma de glutamina e alanina, e o fígado converte esses nitrogênios da amônia em uréia para a excreção na urina. As reações do ciclo da uréia foram discutidas no Capítulo 38.

A Tabela 46.2 lista alguns dos compostos nitrogenados importantes que têm sua síntese e seu metabolismo principalmente no fígado.

F. Formação de Corpos Cetônicos

O fígado é o único órgão que pode produzir corpos cetônicos e, mais do que isso, é um dos poucos que não podem utilizar essas moléculas para a produção de energia. Os corpos cetônicos são produzidos quando a taxa de síntese de glicose está limitada (isto é, os substratos para a gliconeogênese estão limitados), e a oxidação de ácidos graxos está ocorrendo rapidamente. Os corpos cetônicos podem cruzar a barreira hematoencefálica e, sob condições de inanição, tornam-se o principal substrato energético para o sistema nervoso. A síntese e o metabolismo de corpos cetônicos foram descritos no Capítulo 23.

G. Biossíntese de Nucleotídeos

O fígado pode sintetizar e recuperar todos os ribonucleotídeos e desoxirribonucleotídeos para a utilização dessas substâncias por outras células. Certas células perderam a capacidade de produzir nucleotídeos *de novo*, mas podem usar rotas de recuperação

Tabela 46.2 Produtos Nitrogenados Formados pelo Fígado

Produtos	Precursores	Tecidos	Função
Creatina	Arginina, glicina e S-adenosilmetionina (SAM)	Fígado	Formação de creatina-fosfato no músculo para armazenar energia. Excretada como creatinina.
Glutationa	Glutamato, cisteína e glicina	Todos os tecidos, mas maior uso no fígado	Proteção contra dano por radicais livres causado pela redução de peróxido de hidrogênio e peróxidos lipídicos. No fígado e no rim, ela forma ácidos mercaptúricos.
Purinas	Glicina, glutamina, aspartato, dióxido de carbono, tetraidrofolato e PRPP	Fígado e pequenas quantidades no cérebro e células do sistema imunológico	Nucleosídeos e nucleotídeos de adenina e guanina. DNA, RNA e coenzimas, e nucleotídeos de transferência de energia.
Pirimidinas	Aspartato, glutamina e dióxido de carbono	Fígado e pequenas quantidades no cérebro e células do sistema imunológico	Uracil, timina e citosina.
Ácido siálico (NANA), outros aminoaçúcares	Glutamina	Maioria das células	No fígado, síntese de cadeias de oligossacarídeos nas proteínas secretadas. Maioria das células, glicoproteínas, proteoglicanos e glicolipídeos.
Compostos sulfatados	Cisteína	Fígado e rim produzem sulfato	Muitas células utilizam sulfato no sangue para formar PAPS, que transfere sulfato para proteoglicanos, fármacos e xenobióticos.
Taurina	Cisteína	Fígado	Sais biliares conjugados.
Ácidos glicocólico e glicoquenodesoxicólico	Glicina e sais biliares	Fígado	Os sais biliares conjugados são excretados na bile e ajudam na absorção de lipídeos e vitaminas lipossolúveis pela formação de micelas.
Esfingosina	Serina e palmitoil-CoA	Fígado, cérebro e outros tecidos	Precursor de esfingolipídeos encontrados na mielina e em outras membranas.
Heme	Glicina e succinil-CoA	Fígado e medula óssea	O heme do fígado é incorporado em citocromos. O heme da medula óssea é incorporado na hemoglobina.
Compostos xenobióticos glicina-conjugados	Glicina e ácidos carboxílicos hidrofóbicos de tamanho médio	Fígado e rim	Inativação e direcionamento para excreção urinária.
Niacina	Triptofano e glutamina	Fígado	Coenzimas NAD e NADP para reações de oxidação.
Doadores de unidades de um-carbono para tetraidrofolato e SAM	Glicina, serina, histidina e metionina	Maioria das células, mas maior no fígado	Colina, fosfatidilcolina, síntese de purinas e pirimidinas, inativação de metabólitos de eliminação e de xenobióticos por metilação.

para converter bases livres em nucleotídeos. O fígado pode secretar as bases livres para a circulação para a sua utilização por essas células com esse propósito. A síntese e a degradação de nucleotídeos estão discutidas no Capítulo 41.

H. Síntese de Proteínas do Sangue

O fígado é o principal local de síntese de proteínas circulantes, como albumina e fatores de coagulação. Quando a síntese protéica hepática está comprometida, os níveis de proteínas no sangue são reduzidos. A hipoproteinemia pode levar ao edema devido à diminuição da pressão osmótica proteína-mediada no sangue. Isso, por sua vez, faz com que a água do plasma saia da circulação e entre (se expandindo) no espaço intersticial, causando o edema.

A maioria das proteínas plasmáticas circulantes é sintetizada pelo fígado. Portanto, o hepatócito possui retículo endoplasmático, sistema de Golgi e citoesqueleto celular bem desenvolvidos, todos agindo na síntese, no processamento e na secreção de proteínas. A proteína plasmática mais abundante produzida pelo fígado é a albumina, a qual representa de 55 a 60% do *pool* total de proteínas plasmáticas. A albumina serve como carreadora de um grande número de compostos hidrofóbicos, como ácidos graxos, esteróides, aminoácidos hidrofóbicos, vitaminas e agentes farmacológicos. Ela também é um importante regulador osmótico na manutenção da pressão osmótica plasmática normal. As outras proteínas sintetizadas pelo fígado são, na sua maioria, glicoproteínas. Elas atuam nas funções de homeostasia, transporte, inibição de protease, união de ligantes, bem como secretagogos para a liberação de hormônios. As proteínas de fase aguda que fazem parte da resposta imunológica e da resposta do corpo a muitas formas de "dano" também são sintetizadas no fígado. A Tabela 46.3 lista algumas dessas proteínas e suas funções.



A cirrose hepática provoca hipertensão portal que, devido ao aumento da pressão retrógrada para as veias esofágicas, promove o desenvolvimento de veias esofágicas dilatadas e de paredes finas (varizes). Ao mesmo tempo, a síntese de proteínas de coagulação do sangue pelo fígado e as reações dependentes de vitamina K necessárias estão muito diminuídas (resultando em um tempo de protrombina prolongado, que, por sua vez, aumenta o tempo de coagulação). Quando as varizes esofágicas rompem, um sangramento maciço pode ocorrer para a cavidade torácica ou abdominal, bem como para o estômago. Muito do conteúdo protéico do sangue que entra no trato gastrintestinal é metabolizado pelas bactérias intestinais liberando íon amônio que entra na veia porta. Como a função hepatocelular foi comprometida, a capacidade do ciclo da uréia está inadequada, e o íon amônio entra na circulação periférica, contribuindo, assim, para a encefalopatia hepática (toxicidade cerebral devida à elevação dos níveis de amônia).

I. A Síntese de Glicoproteínas e Proteoglicanos

O fígado, por ser o local de síntese da maioria das proteínas do sangue (incluindo as glicoproteínas), tem um alto requerimento por açúcares que vão constituir a porção oligossacarídeo das glicoproteínas (a síntese de glicoproteínas é discutida no Capítulo 30). Esses açúcares incluem manose, frutose, galactose e aminoaçúcares.

Um dos aspectos intrigantes das rotas biossintéticas hepáticas que utilizam carboidratos na síntese desses compostos é que o fígado não é dependente nem da glicose da dieta nem da glicose hepática para gerar os intermediários precursores dessas rotas. Isso ocorre porque o fígado pode gerar carboidratos a partir dos aminoácidos da dieta (os quais em geral entram na gliconeogênese como piruvato ou como um intermediário do ciclo do TCA), lactato (gerado pela glicólise anaeróbica em outros tecidos) e glicerol (gerado pela liberação de ácidos graxos livres pelos adipócitos). É claro que, se carboidratos da dieta estiverem disponíveis, o fígado pode usá-los da mesma forma.

A maioria dos açúcares secretados pelo fígado é *O*-ligado, isto é, o carboidrato é ligado à proteína por seu carbono anômero por ligação glicosídica a –OH de um resíduo de serina ou treonina. Isso é diferente do arranjo *N*-ligado, no qual há uma ligação *N*-glicosil com o nitrogênio amida de um resíduo de asparagina (Figura 46.6). Um açúcar *O*-ligado particularmente importante é o ácido *N*-acetilneuramínico (NANA, do inglês *N-acetylneuraminic acid*, ou ácido siálico), um açúcar de nove carbonos que é sintetizado a partir de frutose-6-fosfato e fosfoenolpiruvato (Figura 30.8). Conforme

Tabela 46.3 Lista Parcial de Proteínas Sintetizadas no Fígado

Tipo de Proteína	Exemplos
Coagulação sangüínea	Fatores de coagulação do sangue: fibrinogênio, protrombina e Fatores V, VII, IX e X. Também a macroglobulina α-2.
Proteínas ligadoras de metais	Transferrina (ferro), ceruloplasmina (cobre), haptoglobina (heme) e hemopexina (heme).
Transporte de lipídeos	Apoproteína B-100 e apoproteína A-1
Inibidor de protease	α_1-Antitripsina

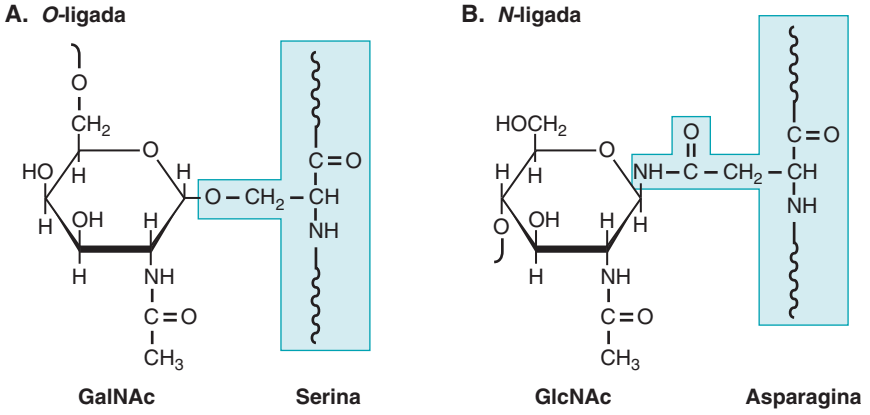


Figura 46.6 Configuração geral de glicoproteínas *O*-ligadas e *N*-ligadas.

as proteínas circulantes envelhecem, os resíduos de NANA (ácido siálico) são perdidos das proteínas séricas. Essa mudança sinaliza a remoção dessas proteínas da circulação e, por fim, sua degradação. Um receptor de assialoglicoproteína na superfície da célula hepática liga tais proteínas, e o complexo receptor-ligante sofre endocitose e é transportado aos lisossomas. Os aminoácidos da degradação protéica são, então, reciclados no fígado.

J. A Via da Pentose-fosfato

As principais funções da via da pentose-fosfato (ver Capítulo 29) são a geração de NADPH e açúcares de cinco carbonos. Todos os tipos celulares, incluindo as células vermelhas do sangue, podem executar essa rota, pois elas precisam gerar NADPH para que seja mantida a atividade da glutationa-redutase, a enzima que catalisa a reconversão de glutationa oxidada (GSSG) em glutationa reduzida (GSH). Sem a atividade dessa enzima, a proteção contra danos por radicais livres é perdida. Todas as células também precisam dessa via para a geração de ribose, especialmente aquelas células que estão se dividindo rapidamente ou têm altas taxas de síntese protéica.

O fígado tem uma demanda por NADPH muito maior do que a maioria dos outros tecidos. Ele utiliza NADPH para a biossíntese de colesterol e ácidos graxos, que deve realizar para produzir fosfolipídeos, e para a síntese de VLDL e sais biliares. Ele também utiliza NADPH para outras reações biossintéticas, como a síntese de prolina. O NADPH também é utilizado por oxidases de função mista, como o citocromo P450, que estão envolvidas no metabolismo de xenobióticos e de uma variedade de fármacos. Como o fígado participa em tantas reações capazes de gerar radicais livres, ele utiliza mais glutationa e NADPH para manter a atividade da glutationa-redutase e mais atividade da catalase do que qualquer outro tecido. Conseqüentemente, a concentração de glicose-6-fosfato-desidrogenase (a enzima limitante e regulatória da via da pentose-fosfato) é alta no fígado, e a taxa de fluxo por essa rota pode ser até 30% da taxa de fluxo pela glicólise.

IV. SUBSTRATOS ENERGÉTICOS PARA O FÍGADO

As reações utilizadas para modificar e inativar toxinas da dieta e metabólitos de eliminação requerem energia, da mesma forma que necessitam de energia as reações utilizadas pelas rotas anabólicas (biossintéticas), como a gliconeogênese e a síntese de ácidos graxos. Assim, o fígado tem um alto requerimento de energia e consome aproximadamente 20% do total de oxigênio utilizado pelo corpo. As principais formas nas quais a energia é fornecida a essas reações são as ligações de fosfato de alta energia de trifosfato de adenosina (ATP), trifosfato de uridina (UTP) e trifosfato de guanosina (GTP), NADPH (reduzido) e tioésteres de acil-CoA. A energia para a formação desses compostos é obtida diretamente do metabolismo oxidativo, do ciclo do TCA ou da cadeia transportadora de elétrons e fosforilação oxidativa. Após uma refeição mista

Tabela 46.4 Principais Destinos dos Carboidratos no Fígado

- Armazenamento como glicogênio
- Glicólise até piruvato
  - Seguido pela oxidação até dióxido de carbono no ciclo do TCA
  - Precursores para a síntese de glicerol-3-fosfato (o esqueleto dos triacilgliceróis e outros glicerolipídeos), ácido siálico e serina
  - Entrada no ciclo do TCA e saída como citrato, seguido pela conversão em acetil-CoA, malonil-CoA e entrada na síntese de ácidos graxos e secreção como VLDL
    - Síntese de fosfolipídeos e outros lipídeos a partir de triacilgliceróis
  - Conversão em manose, ácido siálico e outros açúcares necessários na síntese de oligossacarídeos para as glicoproteínas, incluindo aquelas secretadas no sangue
  - Síntese de açúcares ácidos para a síntese de proteoglicanos e formação de glucuronídeos
- Oxidação na via da pentose-fosfato para a formação de NADPH (necessário para reações biossintéticas como síntese de ácidos graxos, redução de glutationa e outras reações de destoxificação que utilizam NADPH)

contendo carboidrato, os principais substratos energéticos utilizados pelo fígado são a glicose, a galactose e a frutose. Se etanol for consumido, o fígado será o principal local de sua oxidação, produzindo principalmente acetato e, então, acetil-CoA. Durante um jejum noturno, os ácidos graxos se tornam o principal substrato energético para o fígado. Eles são oxidados a dióxido de carbono ou corpos cetônicos. O fígado também pode utilizar todos os aminoácidos como substratos energéticos, convertendo muitos deles em glicose. O ciclo da uréia elimina a amônia que é gerada a partir da oxidação de aminoácidos.

A. Metabolismo de Carboidratos no Fígado

Após uma refeição contendo carboidratos, a glicose, a galactose e a frutose entram na circulação portal e vão para o fígado. Esse órgão serve como o principal local do corpo para a utilização de galactose e frutose da dieta. Ele metaboliza esses compostos convertendo-os em glicose e intermediários da glicólise. Seus destinos são essencialmente os mesmos da glicose (Tabela 46.4).



Por que seria esperado que os níveis de frutose-1-fosfato promovessem a dissociação entre a glicoquinase e a proteína reguladora (RP, do inglês *regulatory protein*)?

B. Glicose como Substrato Energético

A entrada de glicose no fígado é dependente de uma alta concentração de glicose na veia porta após uma refeição rica em carboidrato. Como o K_m tanto do transportador de glicose (GLUT2) quanto da glicoquinase é bem alto (aproximadamente 10 mM), a glicose entrará no fígado principalmente após a sua concentração aumentar para 10 a 40 mM no sangue portal, e não entrará nas baixas concentrações de 5 mM da artéria hepática. O aumento da secreção de insulina que se segue a uma refeição rica em carboidratos promoverá a conversão de glicose em glicogênio. Além disso, a taxa de glicólise será aumentada (a PFK-2 está ativa; assim, a PFK-1 é ativada pela frutose-2,6-bisfosfato) de tal forma que a acetil-CoA pode ser produzida para a síntese de ácidos graxos (a acetil-CoA-carboxilase será ativada por citrato; ver Capítulo 33). Assim, após uma refeição rica em carboidratos, o fígado utiliza glicose como seu principal substrato energético, ao mesmo tempo em que ativa as rotas de síntese de glicogênio e ácido graxo.

A taxa de utilização de glicose pelo fígado é determinada, em parte, pelo nível de atividade da glicoquinase. A atividade da glicoquinase é regulada por uma proteína reguladora da glicoquinase (RP, do inglês *regulatory protein*; Figura 46.7), que está localizada no núcleo. Na ausência de glicose, a glicoquinase fica parcialmente seqüestrada no interior do núcleo, ligada à RP, em uma forma inativa. Altas concentrações de frutose-6-fosfato promovem a interação da glicoquinase com a RP, enquanto altos níveis de glicose ou de frutose-1-fosfato impedem que a glicoquinase se ligue à RP e promovem a dissociação do complexo. Assim, conforme os níveis de glicose aumentam no citoplasma e no núcleo (devido ao aumento dos níveis de glicose sangüínea após uma refeição, por exemplo), ocorre um aumento significativo da fosforilação da glicose, pois a glicoquinase é liberada do núcleo, vai para o citoplasma e fosforila a glicose.



O papel da RP da glicoquinase é muito complexo. Camundongos que foram manipulados por engenharia genética para não mais expressar a RP (camundongos *knockout*) apresentam níveis reduzidos de atividade total de glicoquinase no fígado. Isso é atribuído à descoberta de que a RP é importante no processamento pós-transcricional do mRNA da glicoquinase. Na ausência da RP, menos glicoquinase é produzida. Esses camundongos, portanto, não possuem glicoquinase no núcleo, a quantidade de glicoquinase citoplasmática é reduzida, e a fosforilação da glicose no fígado é deficiente quando os níveis de glicose aumentam.

R: A frutose-1-fosfato é produzida pelo metabolismo da frutose. A principal fonte dietética de frutose é a sacarose, cuja ingestão levaria ao aumento dos níveis de frutose-1-fosfato. A sacarose é um dissacarídeo de glicose e frutose. Assim, uma elevação da frutose-1-fosfato, em geral, indica uma elevação concomitante dos níveis de glicose.

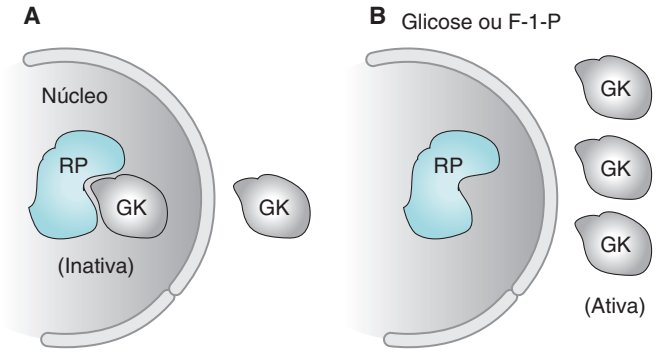


Figura 46.7 Regulação da glicoquinase pela proteína reguladora (RP). A RP está localizada no núcleo, e, na ausência de glicose ou presença de frutose-6-fosfato, a maioria da glicoquinase é translocada para o núcleo e se liga na RP. Essa forma da glicoquinase é inativa. Quando os níveis de glicose ou de frutose-1-fosfato aumentam, a glicoquinase é liberada da RP. Então, ela se transloca para o citoplasma e converte ativamente glicose em glicose-6-fosfato.

O principal passo regulatório para a glicólise hepática é o da PFK-1. Mesmo sob condições de jejum, a concentração de ATP no fígado (aproximadamente 2,5 mM) é suficientemente alta para inibir a atividade da PFK-1. Assim, a glicólise hepática é basicamente controlada pela modulação dos níveis de frutose-2,6-bisfosfato, o produto da reação da PFK-2. Conforme os níveis de frutose-2,6-bisfosfato aumentam (o que ocorreria na presença de insulina), a velocidade da glicólise também aumenta; quando os níveis de glucagon aumentam e a proteína-quinase A é ativada, de tal forma que a PFK-2 fica fosforilada e inativa, a glicólise será desacelerada, e a gliconeogênese será aumentada (ver Capítulos 22 e 31).

C. Metabolismo de Lipídeos

Os ácidos graxos de cadeia longa são o principal substrato energético para o fígado durante períodos de jejum, quando são liberados dos triacilgliceróis do tecido adiposo e vão para o fígado ligados à albumina.

No interior do fígado, eles se ligam a proteínas ligadoras de ácidos graxos e, então, são ativados na membrana mitocondrial interna e peroxissomal e no retículo endoplasmático liso pelas acil-CoA-sintetases. O grupo acila é transferido da CoA à carnitina para seu transporte através da membrana mitocondrial interna, sendo reconvertido em acil-CoA e oxidado a acetil-CoA na espiral de β-oxidação (ver Capítulo 23).

As enzimas das vias de ativação e β-oxidação de ácidos graxos (as sintetases, as carnitina-aciltransferases e as desidrogenases da β-oxidação) são relativamente específicas para o tamanho da cadeia carbonada do ácido graxo. A especificidade do tamanho da cadeia está dividida em enzimas para ácidos graxos de cadeia longa (C20 até aproximadamente C12), de cadeia média (aproximadamente C12 a C4) e de cadeia curta (C4-C2). Os principais lipídeos oxidados no fígado como substratos energéticos são os ácidos graxos de cadeia longa (ácidos palmítico, esteárico e oléico), pois são os lipídeos que são sintetizados no fígado, os principais lipídeos ingeridos de fontes lácteas ou carnes e a principal forma de ácido graxo presente nos triacilgliceróis do tecido adiposo. O fígado, bem como vários outros tecidos, utiliza ácidos graxos como substratos energéticos quando a concentração do complexo ácido graxo-albumina está aumentada no sangue.

1. OXIDAÇÃO DE ÁCIDO GRAXO DE CADEIA MÉDIA

O fígado e certas células do rim são os principais locais de oxidação de ácidos graxos de cadeia média. Esses ácidos graxos, em geral, estão presentes na dieta de crianças no leite materno como triacilgliceróis de cadeia média (MCT, do inglês *medium-chain-length triacylglycerols*). No intestino, os MCT são hidrolisados pela lipase gástrica,

pelas lipases dependentes de sais biliares e pela lipase pancreática mais rapidamente do que os triacilgliceróis de cadeia longa. Dentro dos enterócitos, eles não são nem reconvertidos em triacilgliceróis e nem incorporados nos quilomícrons. Em vez disso, eles são diretamente liberados na circulação portal (ácidos graxos com tamanho de cadeia de aproximadamente oito carbonos ou menos são hidrossolúveis). No fígado, eles se difundem através da membrana mitocondrial interna e são ativados a derivados acil-CoA pela enzima de ativação de ácidos graxos de cadeia média (MCFAE, do inglês *medium-chain-length fatty acid activating enzyme*), uma família de isoenzimas similares presente apenas no fígado e no rim. A acil-CoA de cadeia média é, então, oxidada pela via normal, iniciando com a desidrogenase de acil-CoA de cadeia média (MCAD, do inglês *medium-chain-length acyl CoA dehydrogenase*; ver Capítulo 23).



Os triglicerídeos de cadeia média (MCT) são componentes importantes de suplementos nutricionais usados em pacientes com distúrbios digestivos. Portanto, podem ser empregados como uma fonte facilmente absorvida de calorias em pacientes que tenham uma doença gastrintestinal que possa provocar desnutrição. Essas doenças incluem insuficiência pancreática, deficiência intraluminal de sais biliares devido à doença hepática colestática, obstrução biliar, doença ou ressecção ilíaca e doenças que causem obstrução linfática intestinal. Deve ser lembrado, entretanto, que os MCT não contêm ácidos graxos poliinsaturados que podem ser usados para a síntese de eicosanóides (ver Capítulo 35).

2. OXIDAÇÃO PEROXISSOMAL DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA MUITO LONGA

Os peroxissomas estão presentes em maior número no fígado do que em outros tecidos. Os peroxissomas do fígado contêm as enzimas para a oxidação de ácidos graxos de cadeia muito longa, como o C24:0 e o ácido fitânico, para a clivagem da cadeia lateral do colesterol (necessária para a síntese de sais biliares), para o passo de biossíntese de lipídeos éteres e para vários passos do metabolismo do ácido araquidônico. Os peroxissomas também contêm catalase e, assim, têm a capacidade de destoxificar o peróxido de hidrogênio.

Os ácidos graxos de cadeia muito longa, de C20 a C26 ou mais, são ativados a derivados de CoA pela sintetase de acil-CoA de cadeia muito longa presente na membrana peroxissomal. Os acil-CoA de cadeia muito longa são, então, oxidados nos peroxissomas hepáticos até o nível da octanoil-CoA de oito carbonos. Ao contrário da β-oxidação mitocondrial, a primeira enzima na β-oxidação peroxissomal introduz uma ligação dupla e produz peróxido de hidrogênio em vez de FAD(2H). O restante do ciclo, entretanto, permanece o mesmo, liberando NADH e acetil-CoA. A catalase peroxissomal inativa o peróxido de hidrogênio, e a acetil-CoA pode ser utilizada para rotas biossintéticas, como as de síntese de colesterol e dolicol.

A octanoil-CoA, que é o produto final da oxidação peroxissomal, deixa o peroxissoma, e o grupo octanoil é transferido através da membrana mitocondrial interna pela transferase de acilcarnitina de cadeia média. Nas mitocôndrias, ela entra na via normal de β-oxidação, começando na MCAD.



A síndrome de Zellweger (cérebro-hepatorrenal) ocorre em indivíduos com uma doença hereditária rara de ausência de peroxissomas em todos os tecidos. Os pacientes acumulam ácidos polienóicos C26-C38 no tecido cerebral devido ao defeito na oxidação peroxissomal de ácidos graxos de cadeia muito longa sintetizados no cérebro para a formação da mielina. No fígado, a síntese de ácidos biliares e de éteres de lipídeos está afetada, assim como está a oxidação de ácidos graxos de cadeia muito longa.

3. RECEPTORES ATIVADOS DE PROLIFERAÇÃO DE PEROXISSOMAS

Os receptores ativados de proliferação de peroxissomas (PPAR, do inglês *peroxisome proliferator activated receptors*) exercem um papel importante no metabolismo hepático. Esses receptores receberam seus nomes a partir do achado de que certos agonistas eram capazes de induzir a proliferação de peroxissomas no fígado. Esses agonistas incluíam agentes hipolipidêmicos, antiinflamatórios não-esteróides e toxinas ambientais. Os receptores que ligam esses agentes, os PPAR, são membros de uma família de receptores nucleares e, quando ativados, estimulam uma nova transcrição gênica. No fígado, a principal forma de PPAR regula diretamente a atividade dos genes que estão envolvidos na captação, β-oxidação e ω-oxidação de ácidos graxos.

Existem três isoformas principais de PPAR: a α, a δ/β e a γ. A principal forma encontrada no fígado é a forma α. Os ácidos graxos são ligantes endógenos para a forma α, sendo que, quando os níveis de ácidos graxos na circulação estão aumentados (com o aumento concomitante da quantidade de ácidos graxos nos hepatócitos), ocorre uma transcrição gênica aumentada daquelas proteínas envolvidas na regulação do metabolismo de ácidos graxos (Tabela 46.5). Camundongos geneticamente modificados foram produzidos, nos quais faltava PPAR-α. Esses camundongos *knockout* não exibem nenhum fenótipo anormal quando alimentados com uma dieta normal. Entretanto, quando em jejum ou quando se alimentam com uma dieta rica em gorduras, esses camundongos desenvolvem uma grave infiltração de gordura no fígado. A incapacidade de aumentar a velocidade de oxidação de ácidos graxos nesse órgão leva ao acúmulo excessivo desses compostos nos hepatócitos. Ela também leva à deficiência nos supri-

Tabela 46.5 Genes Regulados Pela Ativação de PPAR-α

Proteínas transportadoras de ácidos graxos
Enzimas mitocondriais e peroxissomais de oxidação de ácidos graxos
Carnitina-palmitoiltransferase I
HMG-CoA-sintase
Apoproteína CIII (supressão)

Os fibratos (p. ex., clofibrato) são uma classe de fármacos que se ligam aos PPAR para provocar mudanças no metabolismo de lipídeos. Eles são prescritos, tipicamente, para indivíduos com níveis elevados de triglicerídeos, pois aumentam a velocidade de oxidação deles. Isso, por sua vez, leva à redução dos níveis séricos de triacilglicerol. Os fibratos, pela estimulação de PPAR-α, também suprimem a síntese da apoproteína C_{III} e estimulam a atividade da LPL. A Apo-C_{III} normalmente inibe a atividade da LPL e, assim, pela redução global da síntese de C_{III}, a atividade da LPL fica aumentada. A Apo C_{III} também bloqueia a apoproteína E na partícula de IDL, causando seu acúmulo por não poder ser captada pelo receptor de Apo-E no fígado. A supressão dos níveis de Apo-C_{III} permite que mais IDL sofram endocitose e, por meio disso, também reduzam os níveis circulantes de triacilgliceróis.

A síndrome de Reye é caracterizada clinicamente por vômitos com sinais de deterioração progressiva do sistema nervoso central. Além disso, existem sinais de dano hepático e de hipoglicemia. Ocorre disfunção mitocondrial com a diminuição da atividade de enzimas mitocondriais hepáticas. O coma hepático pode ocorrer quando os níveis séricos de amônia aumentam. Existe uma associação epidemiológica entre essa síndrome e o consumo de ácido acetilsalicílico por crianças com doença viral, mas ela pode ocorrer na ausência de exposição a salicilatos. Nos Estados Unidos, sua incidência caiu drasticamente desde 1980, quando os pais foram informados dos perigos do uso de ácido acetilsalicílico para reduzir a febre em crianças. A síndrome de Reye não está necessariamente restrita a crianças. Na autópsia de pacientes que morreram dessa doença, o fígado se apresentava edemaciado, com mitocôndrias rompidas e extenso acúmulo de gotas de gordura com vacuolização graxa de células no fígado e nos túbulos renais.

mentos energéticos com os quais a glicose é produzida (levando à hipoglicemia), bem como à incapacidade de produzir corpos cetônicos. Em camundongos normais, em jejum ou alimentados com uma dieta rica em gordura, os ácidos graxos iriam, por fim, estimular a sua própria oxidação pela proliferação de peroxissomas e pela indução de outras enzimas necessárias para essa rota. Os camundongos *knockout* não podem fazer essas compensações.

4. XENOBIÓTICOS METABOLIZADOS COMO ÁCIDOS GRAXOS

O fígado usa as rotas do metabolismo de ácidos graxos para destoxificar xenobióticos muito hidrofóbicos e solúveis em lipídeos que, como os ácidos graxos, contenham um grupo ácido carboxílico ou possam ser metabolizados a substâncias que contenham ácido carboxílico. O benzoato e o salicilato são exemplos de substâncias que são metabolizadas dessa maneira. O benzoato está naturalmente presente em alimentos vegetais e é adicionado como conservante a alimentos como as sodas. Sua estrutura é similar ao ácido salicílico (que é derivado da degradação do ácido acetilsalicílico). O ácido salicílico e o benzoato são similares em tamanho aos ácidos graxos de cadeia média e são ativados a um derivado acil-CoA pela MCFAE (Figura 46.8). O grupo acila é, então, conjugado com glicina, o que destina a substância para a excreção urinária. Os derivados de glicina do salicilato e do benzoato são chamados de salicilurato e hipurato, respectivamente. O salicilurato é o principal metabólito urinário do ácido acetilsalicílico em seres humanos. O benzoato tem sido administrado para tratar a hiperamonemia associada a defeitos congênitos, pois a excreção urinária de hipurato tende a baixar o *pool* de amônia livre. O ácido acetilsalicílico não pode ser usado com esse propósito, pois é tóxico nas altas doses necessárias.

5. METABOLISMO DE LIPÍDEOS NA DOENÇA HEPÁTICA

A doença hepática parenquimal crônica está associada a alterações relativamente previsíveis nos níveis plasmáticos de lipídeos e lipoproteínas. Algumas dessas alterações são relacionadas a uma redução na atividade da lecitina-colesterol-aciltransferase (LCAT). Essa enzima plasmática é sintetizada e glicosilada no fígado; então, ela vai para o sangue, onde catalisa a transferência de um ácido graxo da posição 2 da lecitina ao grupo 3β-OH do colesterol livre para produzir colesterol-éster e lisolecitina. Como esperado, na doença hepática parenquimal grave, na qual a atividade da LCAT está diminuída, os níveis plasmáticos de colesterol-éster estão diminuídos, e os de colesterol livre estão normais ou aumentados.

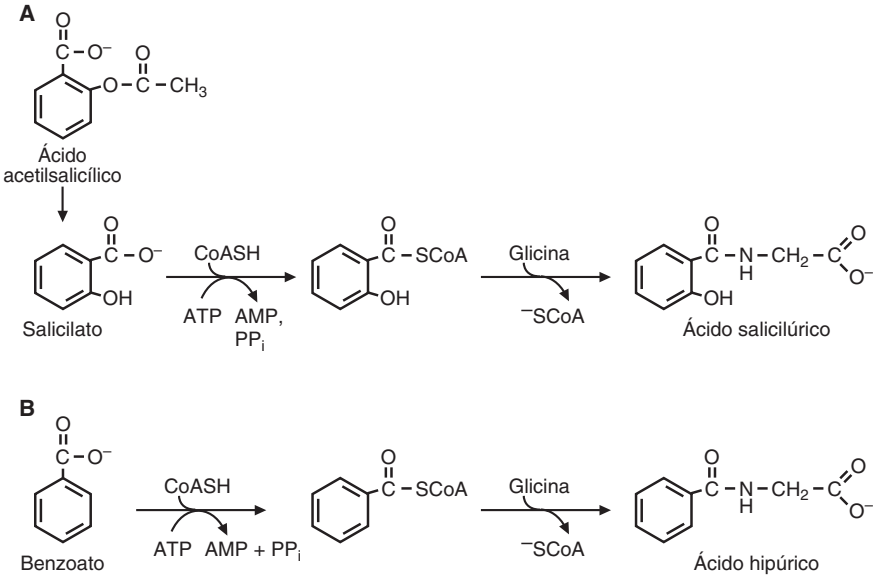


Figura 46.8 Metabolismo do benzoato e do salicilato.

Os triacilgliceróis do plasma normalmente são retirados pelas lipases periféricas (lipoproteína-lipase, ou LPL, e triglicerídeo-lipase hepática, ou HTGL, do inglês *hepatic triglyceride lipase*). Como as atividades da LPL e da HTGL estão reduzidas em pacientes com doença hepatocelular, os níveis relativamente altos de triacilgliceróis no plasma podem ser encontrados na hepatite aguda e crônica, e em pacientes com cirrose hepática e outros distúrbios hepatocelulares difusos.

Com a baixa atividade da LCAT e os níveis elevados de triacilglicerol, as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) apresentam uma composição anormal. Elas ficam relativamente ricas em triacilgliceróis e pobres em colesterol-éster.

O metabolismo das lipoproteínas de alta densidade (HDL) também pode estar anormal na doença hepática crônica. Por exemplo, como a conversão de HDL_3 (menos antiaterosclerótica) em HDL_2 (mais antiaterosclerótica) é catalisada pela LCAT, a atividade reduzida dessa enzima em pacientes com cirrose leva à diminuição da relação HDL_2:HDL_3. Ao contrário, a conversão de HDL_2 em HDL_3 requer as lipases hepáticas. Se a atividade dessa lipase está reduzida, seria de se esperar uma elevação da relação HDL_2:HDL_3. Como esse índice em geral está elevado na cirrose, a deficiência de lipase parece ser o mais dominante desses dois mecanismos. Essas alterações podem resultar em um aumento global dos níveis séricos totais de HDL. Não é completamente entendido como isso afeta a eficiência do mecanismo de transporte reverso de colesterol e a predisposição à aterosclerose.

Em relação aos níveis de triacilglicerol nos pacientes com doença hepática parenquimal grave, a produção hepática de partículas de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) ricas em triacilglicerol está prejudicada. Mais ainda, os níveis totais de triacilglicerol no plasma permanecem relativamente normais, pois as partículas de LDL em tais pacientes estão ricas em triacilglicerol por razões ainda não bem elucidadas.

Os níveis de ácidos graxos não-esterificados (NEFA, do inglês *non-esterified fatty acid*) são elevados em pacientes com cirrose. Essa alteração deve ser esperada, pois a produção basal de glicose pelo fígado é baixa nesses pacientes. Como resultado, mais NEFA são presumivelmente necessários (pela lipólise aumentada) para suprir as necessidades energéticas dos tecidos periféricos no jejum.

D. Metabolismo de Aminoácidos no Fígado

O fígado é o principal local do metabolismo de aminoácidos em seres humanos. Ele essencialmente equilibra o *pool* de aminoácidos livres no sangue pelo metabolismo dos aminoácidos fornecidos pela dieta após uma refeição que contenha proteína e pelo metabolismo dos aminoácidos provenientes principalmente dos músculos esqueléticos durante o jejum noturno. Em um adulto que não está mais crescendo de forma linear, a quantidade total de proteínas do corpo é relativamente constante, tendo como base um dia, de maneira que a taxa líquida de degradação de aminoácidos (para produzir outras substâncias ou energia) deve ser quase igual à quantidade consumida. Os pontos principais em relação ao metabolismo hepático de aminoácidos são os seguintes:

1. O fígado contém todas as rotas para o catabolismo de todos os aminoácidos e pode oxidar a maioria do esqueleto de carbono a dióxido de carbono. Uma pequena parte dos esqueletos de carbono é convertida em corpos cetônicos. O fígado também contém as rotas para converter os esqueletos de carbono de aminoácidos em glicose (gliconeogênese) que pode ser liberada para o sangue.
2. Como o fígado é o principal local do catabolismo dos aminoácidos, ele também contém o ciclo da uréia, a via que converte o íon amônio tóxico em uréia não-tóxica. A uréia é, então, excretada na urina.
3. Após uma dieta hiperprotéica ou mista, o intestino utiliza aspartato, glutamato e glutamina da dieta como substratos energéticos (durante o jejum, o intestino utiliza glutamina do sangue como principal substrato energético). Assim, os aminoácidos ácidos ingeridos não entram na circulação geral. O nitrogênio do metabolismo intestinal desses aminoácidos é passado para o fígado como citrulina ou íons amônio pela veia porta.
4. Os aminoácidos de cadeia ramificada (valina, leucina e isoleucina) podem ser utilizados pela maioria das células como substratos energéticos, incluindo as células do intestino e do músculo esquelético. Após uma refeição rica em pro-

teínas, a maior parte dos aminoácidos de cadeia ramificada não é oxidada pelo fígado (devido à atividade muito baixa da transaminase desses aminoácidos), e, por isso, eles passam para a circulação periférica para serem usados por outros tecidos como substratos energéticos ou para a síntese protéica (esses são aminoácidos essenciais). Entretanto, o fígado realmente capta qualquer aminoácido que precise para realizar a sua própria síntese protéica.

5. A maioria dos tecidos transfere o nitrogênio dos aminoácidos para o fígado para ser eliminado como uréia. Portanto, os tecidos produzem alanina (do ciclo piruvato-glicose-alanina no músculo esquelético, no rim e na mucosa intestinal), glutamina (no músculo esquelético, nos pulmões e nos tecidos neurais) ou serina (no rim), que são liberadas para o sangue e captadas pelo fígado.
6. O fígado utiliza aminoácidos para a síntese das proteínas de que ele necessita, bem como para a síntese de proteínas que serão usadas em outros locais. Por exemplo, o fígado utiliza o esqueleto de carbono e o nitrogênio dos aminoácidos para a síntese de compostos nitrogenados, como heme, purinas e pirimidinas. Os aminoácidos precursores dessas substâncias são, todos eles, não-essenciais, pois podem ser sintetizados no fígado.

E. Metabolismo de Aminoácidos na Doença Hepática

A concentração de aminoácidos no sangue de pacientes com doença hepática com freqüência é elevada. Essa alteração é, em parte, atribuída a um aumento significativo da taxa de *turnover* protéico (efeito catabólico comumente observado em pacientes gravemente doentes), bem como à captação deficiente de aminoácidos pelo fígado doente. É improvável que os níveis aumentados de aminoácidos sejam decorrentes da degradação de proteínas do fígado com a subseqüente liberação de aminoácidos pelos hepatócitos deficientes para o sangue. Isso é verdade, pois a quantidade total de proteínas no fígado é de apenas aproximadamente 300 g. Para ser responsável pelo aumento de aminoácidos no sangue, o conteúdo inteiro de proteínas do fígado deveria ser degradado em 6 a 8 horas para justificar as taxas elevadas de *turnover* protéico observadas. Como o músculo possui 18 a 20 vezes mais proteínas (maior massa), esse tecido provavelmente é a principal fonte para os níveis plasmáticos elevados de aminoácidos observados em estados catabólicos, como na cirrose hepática.

Em pacientes cirróticos, como **Jean Ann Tonich**, o nível de nitrogênio α-amino sangüíneo em jejum está elevado como resultado do *clearance* reduzido. A síntese de uréia também está reduzida.

O perfil de aminoácidos no plasma na cirrose mostra, de forma característica, uma elevação dos aminoácidos aromáticos, fenilalanina e tirosina, e de triptofano e metionina livres. Essas últimas alterações podem ser causadas pela utilização hepática deficiente desses aminoácidos, bem como pela derivação (*shunting*) porto-sistêmica. Embora o mecanismo não seja conhecido, uma redução dos níveis plasmáticos de jejum dos aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA, do inglês *branched-chain amino acids*) também é observada em pacientes cirróticos. Entretanto, esses achados devem ser interpretados com cautela, pois a maior parte do *pool* de aminoácidos livres em seres humanos é encontrada no espaço intracelular. Portanto, alterações observadas em suas concentrações plasmáticas não necessariamente refletem seus destinos metabólicos globais. Mais ainda, a elevação dos aminoácidos aromáticos e a diminuição dos níveis dos BCAAs no sangue de cirróticos têm sido envolvidas na patogênese da encefalopatia hepática.



Ao contrário de **Amy Biasis**, cuja amebíase hepática era mais localizada (abscessos), **Jean Ann Tonich** tinha uma doença hepática difusa conhecida como cirrose alcoólica (historicamente denominada "cirrose de Laennec"). Essa cirrose é caracterizada por cicatrização fina difusa, perda mais ou menos uniforme de células hepáticas e formação de pequenos nódulos regenerativos (eventualmente chamada de "cirrose micronodular"). Com a continuidade da ingestão de álcool, fibroblastos e células estreladas ativas depositam colágeno nos locais de dano persistente. Isso leva à formação de septos de tecido conjuntivo, semelhantes a uma rede, nas zonas periportais e pericentrais. Esse processo, finalmente, conecta as tríades portais e as veias centrais. Com a exposição persistente ao álcool, o fígado retrai e, então, torna-se nodular e firme com a evolução ao estágio final da cirrose. A menos que abandonem o álcool, esses pacientes acabam morrendo por insuficiência hepática. **Amy Biasis**, entretanto, pode provavelmente ter a expectativa de desfrutar de uma função hepática normal após o sucesso do tratamento com amebicida sem evidência de cicatriz hepática residual.

V. DOENÇAS DO FÍGADO

As doenças do fígado podem ser clínica e bioquimicamente devastadoras, pois nenhum outro órgão pode compensar a perda da multiplicidade de funções que o fígado normalmente realiza. A doença hepática induzida por álcool foi discutida no Capítulo 25. Várias doenças podem levar à fibrose hepática (ver Comentários Bioquímicos) e à cirrose. Quando isso ocorre em grande proporção, a função hepática se torna inadequada à vida. Os sinais e sintomas de doença hepática incluem níveis elevados

das enzimas alanina-aminotransferase (ALT) e aspartato-aminotransferase (AST) no plasma (devido ao dano ou à morte de hepatócitos com a conseqüente liberação dessas enzimas no sangue), icterícia (um acúmulo de bilirrubina no sangue causado pela glucuronação deficiente da bilirrubina pelo fígado; ver Capítulo 45), tempo de coagulação aumentado (o fígado tem dificuldade em produzir os fatores de coagulação para a secreção), edema (a síntese diminuída de albumina pelo fígado leva à redução da pressão osmótica no sangue) e encefalopatia hepática (diminuição da atividade do ciclo da uréia levando a níveis excessivos de amônia e outras substâncias tóxicas no sistema nervoso central).



A alanina-aminotransferase (ALT) e a aspartato-aminotransferase (AST) são as versões modernas de velhos nomes. A ALT antigamente era chamada de transaminase glutâmico-pirúvica (TGP), e a AST era conhecida por transaminase glutâmico-oxaloacética (TGO).

COMENTÁRIOS CLÍNICOS



Os pacientes com cirrose hepática que não têm propensão genética conhecida para intolerância à glicose, como **Jean Ann Tonich**, tendem a ter níveis de glicose sangüínea mais altos do que as pessoas normais nos estados de jejum e alimentado. Os mecanismos que podem elevar os níveis de glicose no estado de jejum incluem uma redução de 25 a 40% da taxa de *clearance* metabólico de glicose comparada com indivíduos normais. Essa redução no *clearance* de glicose resulta, em parte, da oxidação aumentada de ácidos graxos e corpos cetônicos e a conseqüente diminuição na oxidação de glicose por tecidos periféricos em pacientes com cirrose. Isso é sugerido pela descoberta de que níveis plasmáticos de ácidos graxos não-esterificados (NEFA) estão altos em muitos pacientes com disfunção hepatocelular, em parte devido ao *clearance* hepático diminuído de NEFA e em parte devido à lipólise aumentada no tecido adiposo. Outra explicação possível para a redução na utilização corporal total de glicose em pacientes com cirrose se relaciona ao achado de que a produção de corpos cetônicos está aumentada em alguns pacientes com cirrose. Isso poderia levar a uma utilização aumentada de corpos cetônicos como substratos energéticos pelo sistema nervoso central nesses pacientes, reduzindo, assim, a necessidade de oxidação de glicose pelo cérebro que possui um metabolismo altamente ativo.

Após ingestão de glicose (estado alimentado), muitos pacientes com doença hepática têm níveis de glicose sangüínea anormalmente elevados ("diabetes hepatogênico"). Utilizando o critério da Organização Mundial da Saúde (OMS), 60 a 80% dos pacientes cirróticos têm graus variáveis de intolerância à glicose, e diabetes melito estabelecido ocorre de 2 a 4 vezes com mais freqüência em cirróticos do que em pessoas sem doença hepática. Os mecanismos propostos incluem um grau de resistência à insulina nos tecidos periféricos; contudo, à medida que o processo cirrótico progride, eles também desenvolvem uma diminuição importante da secreção de insulina. Embora os mecanismos não sejam bem compreendidos, essa diminuição leva a um aumento da liberação hepática de glicose (levando à hiperglicemia de jejum) e à supressão reduzida dessa liberação após as refeições, levando também à hiperglicemia pós-prandial. Se o paciente tem uma predisposição genética para diabetes melito, a sobreposição dos mecanismos apresentados anteriormente levará a um desarranjo mais precoce e significativo da tolerância à glicose nesses pacientes.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



A fibrose extensa e progressiva do parênquima hepático leva à cirrose do fígado, um processo que possui muitas causas. O desenvolvimento da fibrose requer a atividade de células estrelares hepáticas, citocinas, proteases e inibidores de protease.

A principal alteração que ocorre no início da fibrose é que a membrana basal entre as células endoteliais e os hepatócitos, normalmente "dispersa" ou "vazada", é substituída por outra altamente densa contendo colágeno fibrilar. Isso ocorre devido tanto a um aumento da síntese de um colágeno diferente daquele que é produzido normalmente quanto a uma redução na taxa de *turnover* dos componentes da matriz extracelular existente.

Os tecidos de sustentação do fígado sadio contêm uma matriz extracelular que, dentre outras proteínas, inclui colágeno tipo IV (que não forma fibras), glicoproteínas e proteoglicanos. Após uma danificação constante do fígado, ocorre um aumento de 3 a 8 vezes nos componentes da matriz extracelular, alguns dos quais contêm colágeno que forma fibrilas (tipos I e III), glicoproteínas e proteoglicanos. O acúmulo desses compostos que formam fibrilas leva à perda das fenestrações das células endoteliais e, portanto, à perda da função normal de "peneira" exercida pelas membranas basais. Essas alterações interferem nas trocas metabólicas normais através das membranas entre o sangue e os hepatócitos.

As células estrelares hepáticas são a fonte de produção aumentada de colágeno anormal. Essas células são ativadas por fatores de crescimento cuja secreção é induzida pelo dano a hepatócitos ou a células endoteliais. Os fatores de crescimento envolvidos na ativação celular incluem o TGF-β1 (que é proveniente de células endoteliais, células de Kupffer e plaquetas), o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF, do inglês *platelet-derived growth factor*) e o fator de crescimento epidérmico (EGF, do inglês *epidermal growth factor*) das plaquetas. A liberação do PDGF estimula a proliferação de células estrelares e, nesse processo, aumenta a síntese e a liberação de materiais da matriz extracelular e de enzimas de remodelagem. Essas enzimas incluem as metaloproteinases da matriz (MMP, do inglês *matrix metalloproteinases*) e os inibidores teciduais de MMP, bem como as enzimas de conversão (ativação). Essa cascata leva à degradação da matriz extracelular normal e à sua substituição por material de matriz mais denso e rígido. Essas alterações são, em parte, o resultado do aumento de atividade dos inibidores teciduais de MMP sobre o novo colágeno em relação ao colágeno original da matriz extracelular.

Uma conseqüência do aumento da rigidez dos canais vasculares hepáticos pelos quais o sangue hepático deve fluir é a maior resistência ao fluxo sangüíneo livre através do fígado como um todo. A resistência ao fluxo sangüíneo intra-hepático também é aumentada pela perda da fenestração das células endoteliais vasculares, pela perda do espaço entre essas células e os hepatócitos (espaço de Disse) e mesmo pela perda de canais vasculares *per se*. Essa resistência vascular aumentada leva à elevação da pressão do fluido intra-sinusoidal. Quando essa pressão (portal) intra-hepática alcança um limite crítico, o desvio do sangue portal evitando o fígado (*shunting* portossistêmico) contribui ainda mais para a disfunção hepática. Se a hipertensão portal não puder ser reduzida, o sangue portal continuará a ser desviado do fígado e retornará ao coração através das veias esofágicas, de pressão normalmente baixa. Quando essa pressão venosa intra-esofágica aumentada se torna grave o bastante, as paredes dessas veias se afinam muito e se expandem para formar varizes. Essas podem romper subitamente, causando a gravíssima hemorragia varicosa esofágica, que é uma complicação potencialmente fatal da cirrose hepática.

Leituras Sugeridas

Berger J, Moller DE. The mechanism of action of PPARs. Annu Rev Med 2002;53:409-435.

Gibson DM, Harris RA. Liver metabolism, in Metabolic Regulation in Mammals. New York: Francis, Inc, 2002:177-210.

Sherlock S, Dooley J. Hepatic cirrhosis, in Diseases of the Liver and Biliary System, Chapter 21. Malden, MA: Blackwell Science, 2002:365-380.

Meijer DKF, Jansen PLM, Groothuis GMM. Hepatobiliary disposition and targeting of drugs and genes, in Oxford Textbook of Clinical Hepatology, vol 1, 2nd Ed. New York: Oxford Medical Publications, 1999.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 46

1. Beber suco de toranja (*grapefruit*) durante tratamento com estatinas pode levar a efeitos colaterais potencialmente devastadores. Isso é devido a uma substância do suco de toranja que causa qual das seguintes alternativas?

   (A) Interfere na captação hepática de estatinas.
   (B) Acelera a conversão da estatina em uma forma mais tóxica.
   (C) Inibe a inativação das estatinas.
   (D) Provoca *upregulation* da HMG-CoA-redutase.
   (E) Provoca *downregulation* da HMG-CoA-redutase.

2. Qual das seguintes características das enzimas citocromo P450 é correta?

   (A) Todas são encontradas no aparelho de Golgi e são referidas como enzimas microssomais.
   (B) Todas contêm uma unidade de redutase contendo flavina, que utiliza NADH, e não NADPH, como fonte de elétrons.
   (C) Todas são induzíveis por oxigênio, que se liga ao ferro no citocromo.
   (D) Todas oxidam o substrato no qual agem.
   (E) Todas geram uma substância radical livre como produto final da reação.

3. Alterações justificadamente previsíveis ocorrem em várias rotas do metabolismo de lipídeos em pacientes com doença hepatocelular moderadamente avançada. Qual das seguintes alterações seria esperada nessas condições?

   (A) A atividade da lecitina-colesterol-aciltransferase (LCAT) no plasma está aumentada.
   (B) O colesterol-éster sérico está aumentado.
   (C) A atividade da triglicerídeo-lipase hepática (HTGL) está aumentada.
   (D) Os níveis de triacilglicerol sérico estão elevados.
   (E) Os níveis de ácidos graxos não-esterificados estão diminuídos.

4. Após uma bebedeira alcoólica de duas semanas, **Jean Ann Tonich** tomou alguns comprimidos de paracetamol para sua dor de cabeça muito forte. Ela tomou três vezes a dose sugerida devido à gravidade da dor. Entretanto, em 24 horas, Jean Ann ficou muito letárgica, vomitou com freqüência e teve dor abdominal grave. Os sintomas que Jean Ann está tendo podem ser atribuídos a uma reação ao paracetamol devido a qual das seguintes alternativas?

   (A) A hipoglicemia que a paciente teve.
   (B) A inibição do metabolismo do paracetamol por etanol.
   (C) A hiperglicemia que a paciente teve.
   (D) A aceleração do metabolismo do paracetamol por etanol.
   (E) A inibição da secreção hepática de VLDL por acetaminofen.

5. Um indivíduo apresenta tolerância diminuída à glicose; os níveis de glicemia após uma refeição permanecem elevados por um tempo maior do que o normal, embora acabem voltando aos níveis de jejum. O paciente tem uma liberação de insulina normal pelo pâncreas em resposta à elevação da glicemia. Fibroblastos obtidos do paciente apresentam níveis normais de ligação da insulina ao seu receptor e ativação normal da atividade intrínseca de tirosina-quinase associada ao receptor de insulina. A análise da formação de glicose-6-fosfato nos fibroblastos, entretanto, indicou uma velocidade muito mais baixa de formação dessa substância do que em fibroblastos de controles normais. Qual das seguintes possíveis mutações poderia levar a esses resultados?

   (A) Uma diminuição no K_m da glicoquinase.
   (B) Um aumento na $V_{máx}$ da glicoquinase.
   (C) Uma deficiência da proteína reguladora da glicoquinase.
   (D) Um aumento na atividade da hexoquinase.
   (E) Uma diminuição na atividade da hexoquinase.

47 Metabolismo do Músculo em Repouso e Durante Exercício

*Existem três tipos de células musculares: **lisa**, **esquelética** e **cardíaca**. Em todos os tipos de músculo, a contração ocorre pelo sistema de filamentos de actina/miosina deslizantes, que é regulado pelas oscilações nos **níveis intracelulares de cálcio**.*

*As células musculares utilizam o glicogênio armazenado e glicose, ácidos graxos e aminoácidos circulantes como fontes de energia. A glicólise muscular é regulada diferentemente da glicólise hepática, sendo que a principal diferença é a regulação da **fosfofrutoquinase-2** (**PFK-2,** do inglês* phosphofructokinase-2*). A PFK-2 muscular não é inibida por fosforilação; a PFK-2 cardíaca é, na verdade, ativada por uma proteína-quinase estimulada por insulina. Assim, sob condições nas quais a PFK-2 hepática está inativada e a glicólise está acontecendo lentamente, a glicólise muscular está inalterada ou mesmo estimulada, dependendo da isoforma da PFK-2 que está sendo expressa.*

*Embora as células musculares não sintetizem ácidos graxos, elas possuem uma isoenzima da **acetil-CoA-carboxilase** (a **ACC-2**) para regular a **velocidade de oxidação de ácidos graxos**. A ACC-2 produz malonil-CoA, que inibe a palmitoil-carnitina-transferase I, bloqueando, assim, a entrada de ácidos graxos para o interior da mitocôndria. O músculo também contém **malonil-CoA-descarboxilase**, que catalisa a conversão de malonil-CoA em acetil-CoA e dióxido de carbono. Assim, tanto a síntese quanto a degradação de malonil-CoA são cuidadosamente reguladas nas células musculares para equilibrar a oxidação de glicose e ácidos graxos. Mecanismos de regulação alostéricos e covalentes são empregados. O citrato ativa a ACC-2 e a fosforilação da ACC-2 pela proteína-quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMP-ativada) inibe a atividade da ACC-2. A fosforilação da malonil-CoA-descarboxilase pela proteína-quinase AMP-ativada ativa a enzima, aumentando ainda mais a oxidação de ácidos graxos quando os níveis energéticos estão baixos.*

*O músculo utiliza **fosfato de creatina** para armazenar ligações de alta energia. A creatina é derivada de arginina e glicina no rim, e o guanidinoacetato formado é metilado (usando S-adenosilmetionina) no fígado para formar creatina. A enzima **creatina-fosfoquinase** (**CPK**, do inglês* creatine phosphokinase*) catalisa, então, a transferência reversível de um fosfato de alta energia de adenosina-trifosfato (ATP) para a creatina, formando creatina-fosfato e difosfato de adenosina (ADP). O fosfato de creatina é instável e cicliza espontaneamente para formar **creatinina**, que é excretada na urina. A produção espontânea de creatinina ocorre a uma taxa constante e é proporcional à massa muscular corporal. Assim, a quantidade de creatinina excretada por dia (a taxa de depuração de creatinina) é constante e pode ser usada como um indicador de normalidade da função excretória dos rins.*

*As células musculares esqueléticas podem ser divididas em **fibras do tipo I** e do **tipo II**. As do tipo I são fibras de **contração lenta** que utilizam principalmente o **metabolismo oxidativo** para obter energia, enquanto as fibras do tipo II (de **contração rápida**) usam a **glicólise** como a principal rota geradora de energia.*

*O **transporte de glicose** para o interior das células musculares pode ser estimulado durante o exercício devido à atividade da **proteína-quinase AMP-ativada**. A captação de ácidos graxos pelo músculo em exercício é dependente dos níveis circulantes de ácidos graxos, os quais são aumentados pela liberação de **adrenalina**.*

SALA DE ESPERA

Rena Felya, uma menina de 9 anos, queixou-se de dor forte na garganta e dificuldade para engolir. Ela tinha calafrios, sudorese, dor de cabeça e febre de 39,1ºC. Quando os sintomas persistiram por vários dias, a mãe a levou ao pediatra, que encontrou eritema (vermelhidão) difuso na faringe posterior (garganta) com exsudatos amarelos (placas) nas amígdalas. Estavam presentes linfonodos grandes e elásticos na região submandibular em ambos os lados do pescoço. Foi coletada uma cultura da garganta, e foi iniciada terapia de penicilina.

Embora a dor de garganta e a febre melhorassem, oito dias após o início da infecção original, os olhos e as pernas de Rena ficaram edemaciados, e a urina ficou repentinamente com cor de "Coca-Cola". A pressão sangüínea estava elevada. Proteínas e células sangüíneas vermelhas foram encontradas na urina. O nível de creatinina sérica estava elevado para 1,8 mg/dL (valores de referência = 0,3 a 0,7 para crianças). Como cresceu estreptococo β hemolítico do grupo A na cultura da garganta, o médico solicitou um teste de estreptozima. Esse teste foi positivo para anticorpo contra estreptolisina O e vários outros antígenos estreptocócicos. Como resultado, foi feito um diagnóstico de glomerulonefrite pós-estreptocócica aguda. Uma terapia de apoio, incluindo repouso no leito e tratamento para hipertensão, foi iniciada.

I. TIPOS DE CÉLULAS MUSCULARES

Existem três tipos de músculos: o esquelético, o liso e o cardíaco (Figura 47.1). O metabolismo de cada um desses tipos é semelhante, mas as funções dos músculos são muito diferentes.

A. Músculo Esquelético

Os músculos esqueléticos são aqueles que estão ligados aos ossos e facilitam a movimentação do esqueleto. Esses músculos são encontrados aos pares, que são responsáveis pelas direções opostas e coordenadas do movimento do esqueleto. Eles parecem estriados ao microscópio e são controlados voluntariamente (você pensa em movimentar um grupo específico de músculos, e, então, acontece).

As células musculares esqueléticas são fibras alongadas e cilíndricas que se estendem pelo comprimento do músculo. As fibras são multinucleadas devido à fusão celular que ocorre durante a embriogênese. A membrana celular que envolve as fibras é chamada de sarcolema, e o sarcoplasma é o meio intracelular, que contém proteínas, organelas e o aparato contrátil da célula. O retículo sarcoplasmático é análogo ao retículo endoplasmático das outras células e é um sistema de membranas internas que corre por todo o comprimento da fibra muscular. Uma outra estrutura membranosa, os túbulos transversos ou túbulos T, é constituída por milhares de invaginações do sarcolema que formam túneis da superfície em direção ao centro da fibra muscular para fazer contato com as cisternas terminais do retículo sarcoplasmático. Como os túbulos T são abertos para o exterior da fibra muscular e, portanto, preenchidos por fluido extracelular, o potencial de ação muscular que se propaga ao longo da superfície do sarcolema da fibra muscular vai pelo interior dos túbulos T para o retículo sarcoplasmático.

As estriações do músculo esquelético são atribuídas à presença e à organização das miofibrilas na célula. As miofibrilas são estruturas semelhantes a fios consistindo em filamentos finos e grossos. As proteínas contráteis, actina e miosina, fazem parte desses filamentos; a miosina está nos filamentos grossos, e a actina, nos finos. O deslizamento desses filamentos, um em relação ao outro, usando a hidrólise do ATP catalisada pela miosina como fonte de energia, permite ao músculo se contrair e relaxar. (ver Figura 19.4).

As fibras musculares podem ser classificadas como fibras de contração rápida ou de contração lenta. As fibras de contração lenta, ou fibras do tipo I (também chamadas

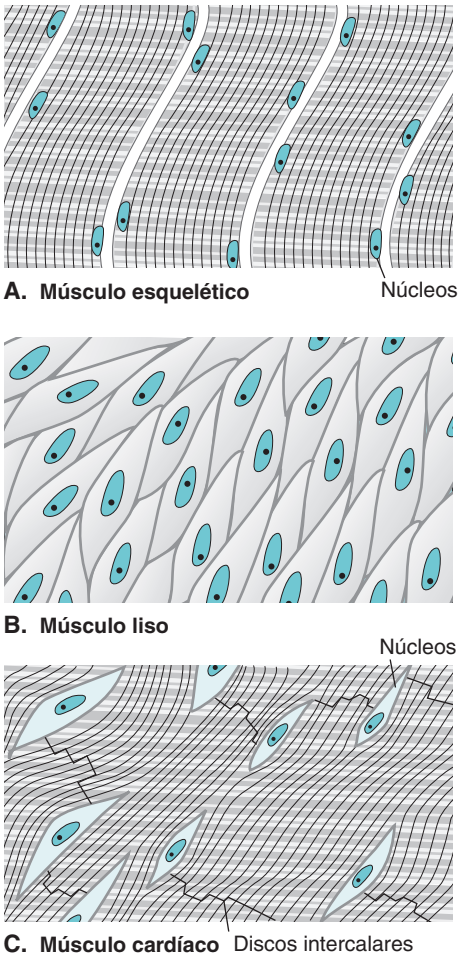


Figura 47.1 Estruturas dos três diferentes tipos de músculo. Adaptada de Basic Histology, Text and Atlas, Junqueira and Carneiro, 10th Ed. Lange, McGraw-Hill, 2002.

A distrofia muscular de Duchenne é causada pela ausência da proteína distrofina, uma proteína estrutural localizada no sarcolema. A distrofina é necessária para manter a integridade do sarcolema e, quando ausente, leva à perda de função muscular causada pela degradação do sarcolema. Seu gene é ligado ao X, e mutações que levam à distrofia muscular de Duchenne em geral resultam de grandes deleções do gene, de tal forma que a distrofina está ausente da membrana. A distrofia muscular de Becker, uma forma mais leve da doença, é causada por mutações pontuais do gene da distrofina. Na distrofia muscular de Becker, a distrofina está presente no sarcolema, mas em uma forma mutante.

de oxidativas lentas), contêm uma grande quantidade de mitocôndrias e mioglobina (dando a elas a cor avermelhada), utilizam a respiração celular e a fosforilação oxidativa para produzir energia e são relativamente resistentes à fadiga. Comparadas com as fibras de contração rápida, seu conteúdo de glicogênio é pequeno. As fibras de contração lenta desenvolvem a força lentamente, mas mantêm contrações mais prolongadas do que as fibras de contração rápida.

As fibras de contração rápida, ou do tipo II, podem ser subdivididas em tipos IIa ou IIb. As fibras do tipo IIb (também chamadas de glicolíticas rápidas) têm poucas mitocôndrias e níveis baixos de mioglobina (assim, elas têm a aparência branca). Elas são ricas em glicogênio e usam a glicogenólise e a glicólise como fonte principal de energia. Esses músculos são suscetíveis à fadiga, pois a dependência contínua da glicólise para produzir ATP leva a níveis elevados de ácido láctico, o que causa a queda do pH intracelular. Conforme o pH diminui, a habilidade do músculo em produzir ATP também diminui. Entretanto, os músculos de contração rápida podem desenvolver forças maiores do que os músculos de contração lenta, de modo que as contrações ocorrem de forma mais rápida. As fibras do tipo IIa (também chamadas de glicolíticas-oxidativas rápidas) possuem propriedades semelhantes tanto às do tipo I quantos às do tipo IIb e, assim, apresentam características funcionais de ambos os tipos de fibras. As propriedades das fibras tipo I, IIa e IIb estão resumidas na Tabela 47.1.

Os músculos são uma mistura dos diferentes tipos de fibras, mas, dependendo da sua função, um músculo pode ter uma preponderância de um tipo de fibra sobre outro. As fibras do tipo I são encontradas nos músculos posturais, como o psoas da musculatura das costas e o soleus da perna. A porcentagem do tipo I para o tipo II irá variar de acordo com o músculo em questão. O tríceps, que funciona de forma fásica, tem 32,6% de fibras do tipo I, enquanto o soleus, que funciona de forma tônica, tem 87,7% desse tipo de fibra. As fibras do tipo II são mais prevalentes nos músculos grandes dos membros que são responsáveis pelos movimentos repentinos e de força. Os músculos extra-oculares também teriam mais desse tipo do que do tipo I.

B. Células Musculares Lisas

As células musculares lisas são encontradas no sistema digestivo, nos vasos sangüíneos, na bexiga, nas vias aéreas e no útero. Essas células são fusiformes com um núcleo central (ver Figura 47.1B). A designação "lisa" refere-se ao fato de que essas células, que contêm um núcleo único, não apresentam estrias ao microscópio. A contração do músculo liso é controlada involuntariamente (as células se contraem e se relaxam sem

Tabela 47.1 Propriedades dos Tipos de Fibras Musculares

Fibras do Tipo I	Fibras do Tipo II	
	Tipo IIa	**Tipo IIb**
• Contração lenta (velocidade de contração lenta)	• Contração intermediária (velocidade de contração rápida)	• Contração rápida (velocidade de contração rápida)
• Oxidativa lenta (quantidade pequena de glicogênio)	• Glicolítica-oxidativa rápida (quantidade intermediária de glicogênio)	• Glicolítica rápida (quantidade grande de glicogênio)
• Grande quantidade de mioglobina (aparência vermelha)	• Diâmetro intermediário de fibra	• Pequena quantidade de mioglobina (aparência branca)
• Diâmetro pequeno de fibra	• Grande quantidade de mioglobina (aparência vermelha)	• Pequena quantidade de mitocôndrias
• Concentração aumentada de capilares envolvendo o músculo (maior aporte de oxigênio)	• Aumento da capacidade oxidativa com o treinamento	• Metabolismo aeróbico limitado
• Alta capacidade de metabolismo aeróbico	• Resistência intermediária à fadiga	• Diâmetro grande de fibra
• Alta resistência à fadiga		• Mais sensível à fadiga quando comparado com os outros tipos de fibra
• Usado para exercícios aeróbicos prolongados		• Utilização menos eficiente da energia, principalmente glicolítica
		• Usado para atividades de curta distância (*sprinting*) e tarefas de resistência

qualquer tentativa consciente para que elas assim o façam; exemplos de atividade de músculos lisos incluem a movimentação de alimento ao longo do trato digestivo, a alteração de diâmetro dos vasos sangüíneos e a expulsão de urina pela bexiga). Ao contrário dos músculos esqueléticos, essas células têm a habilidade de manter a tensão por longos períodos e o fazem de forma muito eficiente, com pequena utilização de energia.

C. Células Musculares Cardíacas

As células cardíacas são similares ao músculo esquelético na medida em que são estriadas (contêm fibras), mas assim como as células musculares lisas, elas são controladas involuntariamente (não é preciso pensar para fazer o coração bater). Essas células têm formato quadrangular (ver Figura 47.1C) e formam uma rede com muitas outras células através de junções de adesão (*tight junctions*) e junções comunicantes (*gap junctions*) de membrana. Os contatos multicelulares permitem às células agir como uma unidade e se contrair e relaxar de forma sincrônica. As células musculares cardíacas são planejadas para a resistência e coerência. Elas dependem do metabolismo aeróbico para suas necessidades energéticas, pois contêm muitas mitocôndrias e pouco glicogênio. Essas células, então, produzem apenas uma pequena quantidade de energia pela glicólise usando glicose derivada de glicogênio.

A redução do fluxo de sangue rico em oxigênio para o músculo cardíaco pode levar ao infarto do miocárdio (ataque do coração). A quantidade de ATP que pode ser gerada apenas pela glicólise não é suficiente para satisfazer as necessidades energéticas do coração em contração.

II. SINAIS NEURONAIS PARA O MÚSCULO

Para uma revisão mais aprofundada de como o músculo se contrai ou uma visão detalhada da sinalização que permite a contração muscular, consulte um livro de fisiologia médica. Apenas uma visão geral breve será apresentada aqui.

A junção nervo-célula muscular é chamada de junção neuromuscular (Figura 47.2). Quando estimulada de forma apropriada, a célula nervosa libera acetilcolina nessa junção, que se liga aos receptores de acetilcolina na membrana muscular. Essa ligação estimula a abertura de canais de sódio do sarcolema. O influxo maciço de íons sódio resulta na geração do potencial de ação no sarcolema nas proximidades da placa motora na junção neuromuscular. O potencial de ação se espalha através da superfície da fibra muscular e, pelos túbulos transversos, atinge o retículo sarcoplasmático, onde inicia a liberação de cálcio do seu lúmen via receptor de rianodina (Figura 47.3). Os íons cálcio se ligam à troponina, provocando uma mudança conformacional nos complexos troponina-tropomiosina de tal forma que eles se afastam dos sítios de ligação de miosina na actina. Quando esses sítios de ligação ficam disponíveis, a cabeça da miosina se liga ao sítio de ligação de miosina na actina. A ligação é seguida por uma mudança conformacional ("giro") na cabeça da miosina, o que encurta o sarcômero. Após o giro, o ATP se liga à cabeça da miosina, que se solta da actina e fica disponível

Os receptores de rianodina são canais de liberação de cálcio encontrados no retículo endoplasmático e no retículo sarcoplasmático de células musculares. Um tipo desses receptores pode ser ativado por um sinal de despolarização (liberação de cálcio induzida por despolarização). Um outro tipo de receptor é ativado por íon cálcio (liberação de cálcio induzida por cálcio). As proteínas receberam esse nome porque elas ligam rianodina, uma toxina obtida de tronco e raízes da planta *Ryania speciosa*. A rianodina inibe a liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático e age como um agente paralisante. Ela foi usada comercialmente pela primeira vez em inseticidas.

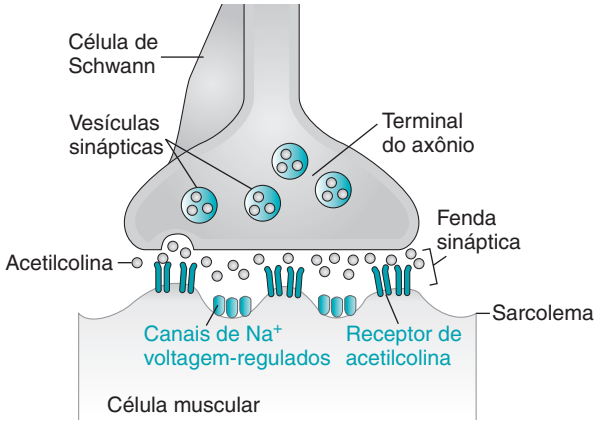


Figura 47.2 Junção neuromuscular. Quando estimuladas apropriadamente, as vesículas sinápticas, contendo acetilcolina, fundem-se com a membrana axonal e liberam acetilcolina para a fenda sináptica. A acetilcolina se liga aos seus receptores nas células musculares, o que vai iniciar a sinalização para a contração muscular.

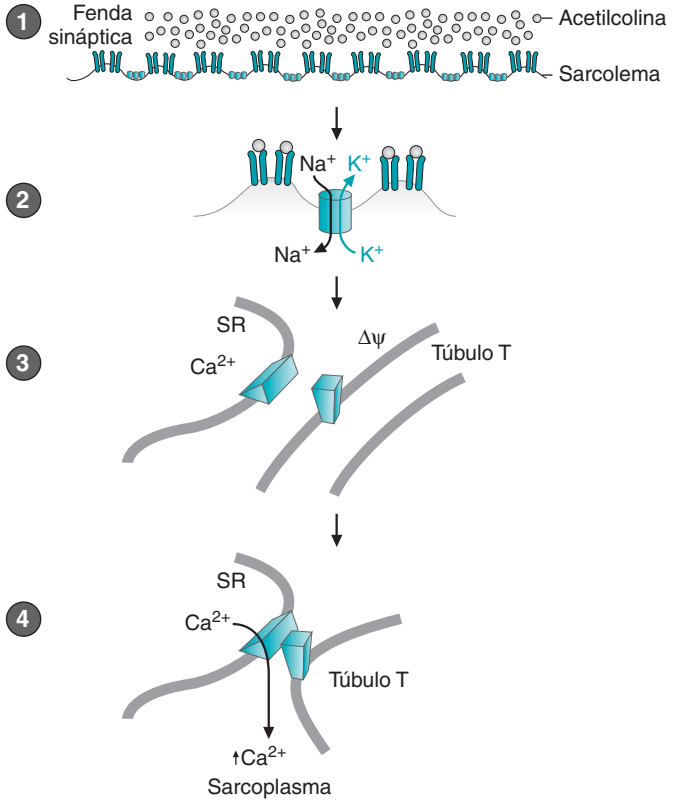


Figura 47.3 Eventos que levam à liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático no músculo esquelético. 1. A acetilcolina, liberada na fenda sináptica, liga-se aos seus receptores no sarcolema, levando à mudança de conformação desses receptores de forma que agora eles agem como um poro iônico. Isso permite que o sódio entre na célula e o potássio saia. 2. A polarização da membrana que resulta desses movimentos de íons é transmitida por toda a fibra muscular pelo sistema de túbulos T. 3. Um receptor nos túbulos T (o receptor de diidropiridina, DHPR, do inglês *dihydropyridine receptor*) é ativado pela polarização da membrana (uma ativação regulada por voltagem), de forma que o DHPR ativado se liga fisicamente ao receptor de rianodina no retículo sarcoplasmático e ativa-o (liberação de cálcio induzida por despolarização). 4. A ativação do receptor de rianodina, que é um canal de cálcio, leva à liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático (SR, do inglês *sarcoplasmic reticulum*) para o sarcoplasma. No músculo cardíaco, a ativação do DHPR leva à liberação de cálcio a partir dos túbulos T, e essa pequena liberação é responsável pela ativação do receptor de rianodina cardíaco (liberação de cálcio induzida por cálcio) para liberar grandes quantidades de cálcio para o sarcoplasma.



Os níveis de acetilcolina na junção neuromuscular são rapidamente reduzidos pela enzima acetilcolinesterase. Um grande número de gases venenosos que afetam os nervos age por inibir a acetilcolinesterase (como o sarin e o VX), de tal forma que os músculos são continuamente estimulados a se contraírem. Isso leva a visão borrada, broncoconstrição, convulsões, parada respiratória e morte. Os venenos são modificadores covalentes da acetilcolinesterase; portanto, a recuperação à exposição a tais venenos requer a síntese de nova enzima. Uma nova geração de inibidores da acetilcolinesterase, que agem reversivelmente (ou seja, não formam ligações covalentes com a enzima), está atualmente sendo utilizada no tratamento da demência, em particular a demência causada pela doença de Alzheimer.

para se ligar a um outro sítio de ligação de miosina na actina. Enquanto íons cálcio e ATP estiverem disponíveis, a cabeça da miosina irá repetir esse ciclo de ligação, giro e desligamento (Figura 47.4). Esse movimento requer ATPs e, quando os níveis de ATP estão baixos (como ocorre durante a isquemia), a habilidade do músculo para se relaxar ou se contrair fica comprometida. Quando os canais de liberação de cálcio se fecham, o cálcio é bombeado de volta para o retículo sarcoplasmático contra seu gradiente de concentração, usando a proteína SERCA (Ca^{2+}-ATPase do retículo sarcoplasmático, do inglês *sarcoplasmic reticulum* Ca^{2+}*-ATPase*), e a contração cessa. Esse processo básico ocorre em todos os tipos de células musculares, com algumas pequenas variações.

III. A GLICÓLISE E O METABOLISMO DE ÁCIDOS GRAXOS NAS CÉLULAS MUSCULARES

As rotas da glicólise e da oxidação de ácidos graxos no músculo são as mesmas descritas anteriormente (ver Capítulos 22 e 23). A diferença entre o músculo e os outros tecidos é como essas rotas são reguladas.

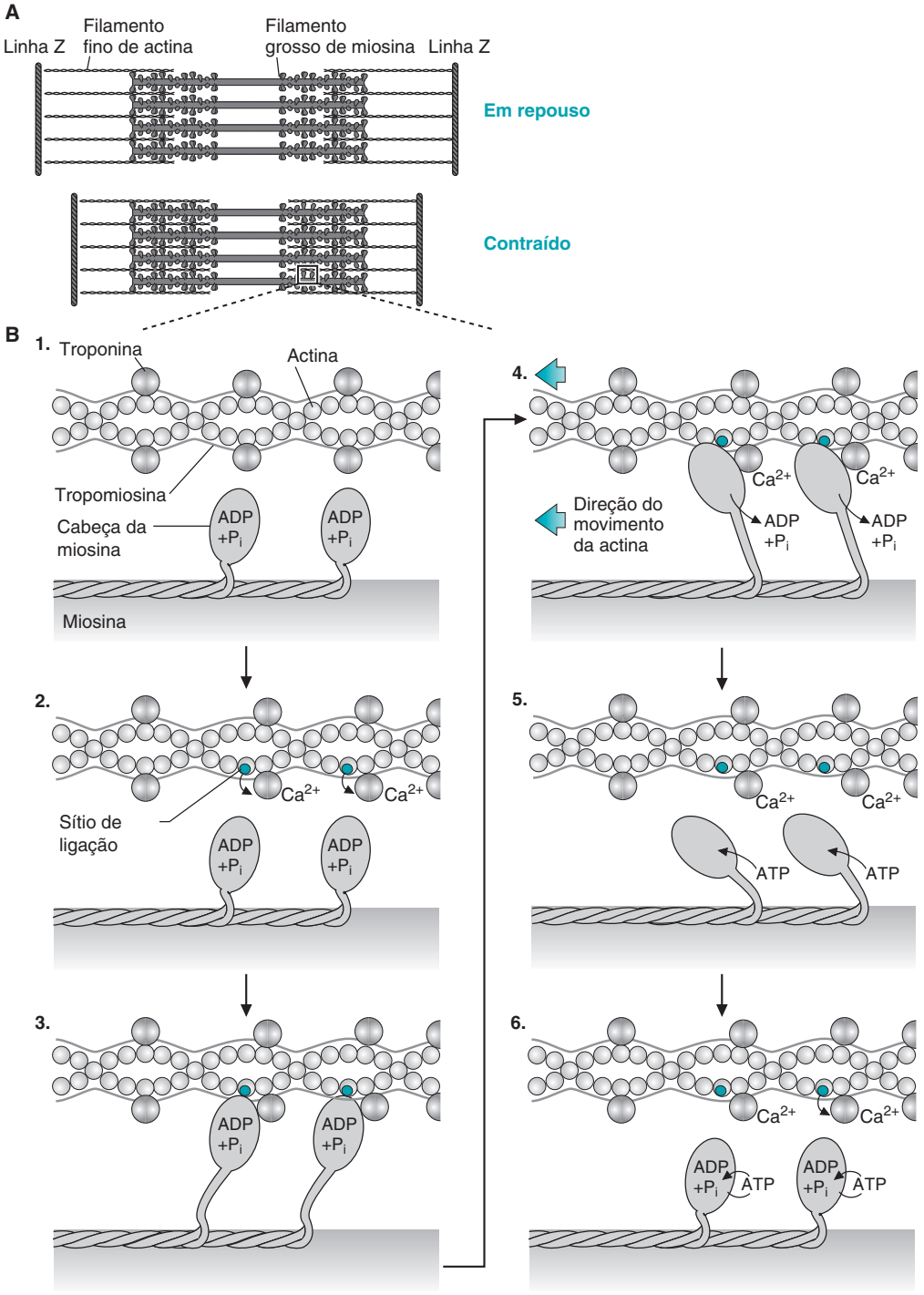


Figura 47.4 Resumo da contração muscular. **A**. Contração do músculo. Durante a contração do músculo, a cabeça da miosina se liga aos filamentos finos de actina. O giro da cabeça da miosina em direção ao centro do sarcômero puxa as linhas Z para mais perto umas das outras, com o subseqüente encurtamento do sarcômero. **B**. Visão detalhada das interações miosina-actina. 1. Sarcômero em repouso. O complexo troponina-tropomiosina está bloqueando os sítios de ligação de miosina na actina. A cabeça da miosina já está energizada para impulsionar uma contração. 2. Exposição do sítio ativo. Após a ligação do cálcio à troponina, uma mudança conformacional na molécula de troponina puxa essa para longe do sítio de ligação. 3. Ligação de ponte-cruzada. Uma vez que os sítios de ligação de actina estão expostos, a cabeça da miosina se liga a eles. 4. Giro da cabeça da miosina. Após a ligação de ponte-cruzada, a energia armazenada na cabeça da miosina é liberada, e a cabeça gira em direção ao centro do sarcômero (golpe de força). Agora, o ADP e o fosfato ligados à cabeça da miosina são liberados. 5. Desligamento da ligação de ponte-cruzada. Agora, uma molécula de ATP se liga à cabeça da miosina com o simultâneo desligamento da cabeça de seu sítio de ligação na molécula de actina. 6. Reativação da cabeça da miosina. A atividade de ATPase da cabeça hidrolisa ATP a ADP e fosfato. A energia liberada dessa ligação de alta energia é utilizada para reenergizar a cabeça da miosina, e todo o ciclo pode ser repetido enquanto cálcio estiver presente e houver reservas suficientes de ATP.

A fosfofrutoquinase-2 (PFK-2) é regulada negativamente por fosforilação no fígado (a enzima que catalisa a fosforilação é a proteína-quinase dependente de monofosfato de adenosina cíclico [AMPc]). Entretanto, no músculo esquelético, a PFK-2 não é regulada por fosforilação. Isso ocorre porque a isoenzima da PFK-2 do músculo esquelético não possui o resíduo de serina regulatório que é fosforilado no fígado. Entretanto, a isoenzima cardíaca da PFK-2 é fosforilada e ativada por uma cascata de quinases iniciada por insulina. Isso permite ao coração ativar a glicólise e utilizar a glicose sangüínea quando os níveis de glicose estão elevados.

A captação de ácidos graxos pelo músculo requer a participação de proteínas ligadoras de ácidos graxos e das enzimas usuais da oxidação dos ácidos graxos. A captação de acil-CoA pela mitocôndria é controlada pela malonil-CoA, que é produzida por uma isoenzima da acetil-CoA-carboxilase (ACC-2; a isoenzima ACC-1 é encontrada no fígado e no tecido adiposo e é usada para a biossíntese de ácidos graxos). A ACC-2 é inibida por fosforilação pela proteína-quinase AMP-ativada (AMP-PK, do inglês *AMP-activated protein kinase*) de tal forma que, quando os níveis energéticos estão baixos, os níveis de malonil-CoA diminuirão, permitindo a oxidação de ácidos graxos pela mitocôndria. Além disso, as células musculares também contêm a enzima malonil-CoA-descarboxilase, que é ativada por fosforilação pela AMP-PK. A malonil-CoA-descarboxilase converte malonil-CoA em acetil-CoA, aliviando, assim, a inibição da carnitina-palmitoiltransferase I (CPT-I) e estimulando a oxidação de ácidos graxos (Figura 47.5). As células musculares não sintetizam ácidos graxos; a presença de acetil-CoA-carboxilase no músculo é exclusivamente por motivos regulatórios.

A ACC-1 é uma isoenzima da acetil-CoA-carboxilase, que é usada para sintetizar malonil-CoA para a síntese de ácidos graxos. As células musculares não realizam essa síntese; entretanto, regulam cuidadosamente a oxidação de ácidos graxos pela síntese e degradação de malonil-CoA. A ACC-1 é uma proteína citosólica, enquanto a ACC-2 é mitocondrial, intimamente ligada à CPT-I na membrana mitocondrial externa. Camundongos que foram cruzados para não possuir ACC-2 têm 50% de redução dos estoques de gordura quando comparados a camundongos "normais". Isso foi atribuído a um aumento de 30% na oxidação de ácidos graxos no músculo esquelético devido à desregulação da CPT-I, pois a malonil-CoA não podia ser produzida para regular a velocidade na qual a oxidação de ácidos graxos ocorria.

IV. UTILIZAÇÃO DE SUBSTRATOS ENERGÉTICOS NO MÚSCULO CARDÍACO

A. Condições Normais

O coração utiliza principalmente ácidos graxos (60 a 80%), lactato e glicose (20 a 40%) como fontes de energia. Noventa e oito por cento do ATP cardíaco são gerados de maneira oxidativa; 2% são derivados da glicólise. O lactato utilizado pelo coração é captado por um transportador de monocarboxilatos na membrana celular que também é utilizado para o transporte de corpos cetônicos. Entretanto, os corpos cetônicos não são substratos energéticos preferenciais para o coração, pois esse prefere utilizar ácidos graxos.

O lactato é gerado pelas células vermelhas do sangue e pelo músculo esquelético em funcionamento. Quando o lactato é utilizado pelo coração, é oxidado a dióxido de

Sob condições nas quais os corpos cetônicos são produzidos, os níveis de ácidos graxos no plasma também estão elevados. Como o coração queima preferencialmente ácidos graxos como substrato energético em vez de corpos cetônicos produzidos pelo fígado, esses são poupados para a utilização pelo sistema nervoso.

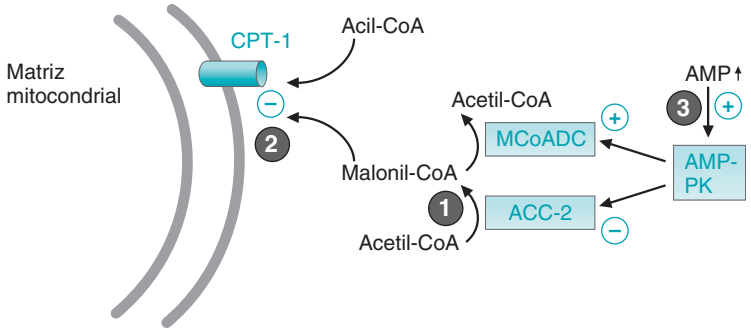


Figura 47.5 Regulação da entrada de acil-CoA na mitocôndria do músculo. 1. A acetil-CoA-carboxilase 2 (ACC-2) converte acetil-CoA em malonil-CoA, que inibe a carnitina-palmitoiltransferase I (CPT-I), bloqueando, assim, a entrada de acil-CoA para a mitocôndria. 2. Entretanto, conforme os níveis de energia diminuem, os níveis de AMP aumentam devido à atividade da reação da adenilato-quinase. 3. O aumento dos níveis de AMP ativa a proteína-quinase AMP-ativada (AMP-PK), que fosforila e inativa a ACC-2, e também fosforila e ativa a malonil-CoA-descarboxilase (MCoADC). Essa descarboxilase converte malonil-CoA em acetil-CoA, liberando, assim, a inibição da CPT-I e permitindo a entrada de acil-CoA para a mitocôndria. Isso permite ao músculo gerar ATP pela oxidação de ácidos graxos.

carbono e água, seguindo a rota de lactato a piruvato, de piruvato a acetil-CoA, oxidação de acetil-CoA no ciclo do TCA e síntese de ATP pela fosforilação oxidativa. Um destino alternativo do lactato é sua utilização nas reações do ciclo de Cori no fígado.

O transporte de glicose para o interior do cardiomiócito ocorre pelos transportadores GLUT1 e GLUT4, embora cerca de 90% dos transportadores sejam GLUT4. A insulina estimula o aumento do número de transportadores GLUT4 na membrana da célula cardíaca, da mesma forma que a isquemia miocárdica. Esse aumento no número de transportadores GLUT4 induzido pela isquemia é aditivo ao efeito da insulina sobre a translocação de transportadores GLUT4 para a membrana plasmática.

A captação de ácidos graxos para o interior do músculo cardíaco é semelhante àquela de outros tipos de células musculares e requer proteínas ligadoras de ácidos graxos e carnitina-palmitoiltransferase I para a transferência para dentro da mitocôndria. A oxidação de ácidos graxos nas células musculares cardíacas é regulada pela alteração das atividades da ACC-2 e da malonil-CoA-descarboxilase.

B. Condições Isquêmicas

Quando o fluxo de sangue para o coração é interrompido, o coração altera o metabolismo para o anaeróbico. A velocidade da glicólise aumenta, mas o acúmulo de prótons (pela formação de lactato) é prejudicial para o coração. A isquemia também aumenta os níveis de ácidos graxos livres no sangue, e, de forma surpreendente, quando o oxigênio é reintroduzido no coração, a alta velocidade de oxidação de ácidos graxos é prejudicial à recuperação das células cardíacas danificadas. A oxidação de ácidos graxos ocorre de forma tão rápida que o NADH acumula na mitocôndria, levando à redução da atividade da lançadeira de NADH, ao aumento dos níveis de NADH citoplasmático e à formação de lactato, o que gera mais prótons. Além disso, a oxidação de ácidos graxos aumenta os níveis de acetil-CoA mitocondriais, os quais inibem a piruvato-desidrogenase, levando ao acúmulo de piruvato citoplasmático e à produção de lactato. Conforme a produção de lactato aumenta, o pH intracelular do coração diminui, e é mais difícil manter os gradientes iônicos através do sarcolema. A hidrólise do ATP é necessária para reparar esses gradientes, os quais são essenciais para a função cardíaca. Entretanto, a utilização de ATP para reparar esses gradientes reduz a quantidade de ATP disponível para o coração utilizar na contração, o que, por sua vez, compromete a habilidade do coração de se recuperar do evento isquêmico.



Uma nova classe de fármacos, conhecidos como inibidores parciais da oxidação de ácidos graxos (pFOX, do inglês *partial fatty acid oxidation*), está sendo desenvolvida para reduzir a extensão da oxidação de ácidos graxos pelo coração após um episódio isquêmico (o fármaco protótipo é a ranolazina). A redução na oxidação de ácidos graxos induzida pelo fármaco permite que ocorra a oxidação de glicose e reduz o acúmulo de lactato no músculo cardíaco lesado. Outros possíveis alvos para esses fármacos, que ainda estão por ser desenvolvidos, incluem a ACC-2, a malonil-CoA-descarboxilase e a carnitina-palmitoiltransferase I.

V. UTILIZAÇÃO DE SUBSTRATO ENERGÉTICO NO MÚSCULO ESQUELÉTICO

Os músculos esqueléticos utilizam muitos substratos energéticos para gerar ATP. A fonte imediata mais abundante de ATP é o fosfato de creatina. O ATP também pode ser gerado a partir dos estoques de glicogênio tanto anaeróbica (gerando lactato) quanto aerobicamente, e, nesse caso, o piruvato é convertido em acetil-CoA para a oxidação pelo ciclo do TCA. Todos os músculos esqueléticos de seres humanos possuem mitocôndrias e, portanto, são capazes de oxidar ácidos graxos e corpos cetônicos. Os músculos esqueléticos também são capazes de oxidar completamente os esqueletos de carbono de alanina, aspartato, glutamato, valina, leucina e isoleucina, mas não de outros aminoácidos. Cada uma dessas rotas de oxidação de substratos energéticos exerce um papel de certa forma único no metabolismo do músculo esquelético.

A. ATP e Creatina-Fosfato

O ATP não é uma boa escolha de molécula para armazenar em quantidades como reserva de energia. Muitas reações são ativadas ou inibidas de forma alostérica pelos níveis de ATP, especialmente aquelas que geram energia. As células musculares resolvem esse problema armazenando ligações fosfato de alta energia na forma de fosfato de creatina. Quando há necessidade de energia, o fosfato de creatina irá doar um fosfato para o ADP para regenerar ATP para a contração muscular (Figura 47.6).

A síntese de creatina começa no rim e é completada no fígado. No rim, glicina se combina com arginina para formar guanidinoacetato. Nessa reação, o grupo guani-

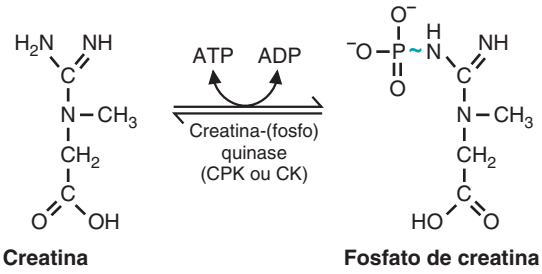


Figura 47.6 Reação da creatina-fosfoquinase. A ligação de alta energia é uma ligação nitrogênio-fosfato incomum, como indicada pelo til azul.

dino da arginina (o grupo que também forma a uréia) é transferido para a glicina, e o restante da molécula de arginina é liberado como ornitina. O guanidinoacetato, então, vai para o fígado, onde é metilado pela S-adenosilmetionina para formar creatina (Figura 47.7).

A creatina formada é liberada pelo fígado e vai pela corrente sangüínea para os outros tecidos, particularmente o músculo esquelético, o coração e o cérebro, onde ela reage com o ATP para formar o composto de alta energia fosfato de creatina (ver Figura 47.6). Essa reação, catalisada pela creatina-fosfoquinase (CK, também abreviada como CPK, do inglês *creatine phosphokinase*), é reversível. Portanto, as células podem utilizar fosfato de creatina para regenerar ATP.

O fosfato de creatina serve como um pequeno reservatório de fosfato de alta energia que pode prontamente regenerar ATP a partir de ADP. Como resultado, ele exerce um papel particularmente importante no músculo durante o exercício. Ele também car-

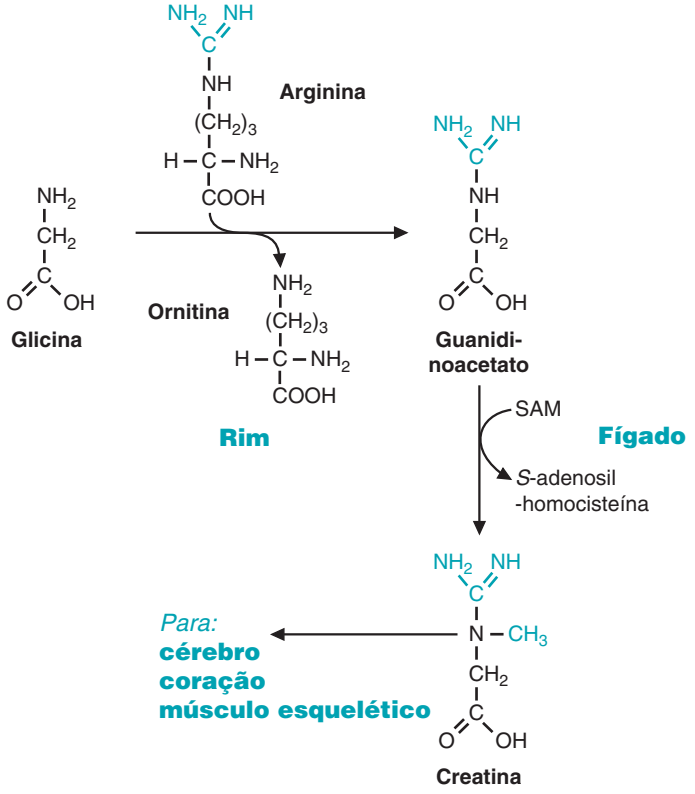


Figura 47.7 Síntese de creatina a partir de arginina, glicina e S-adenosilmetionina. A síntese começa no rim e é completada no fígado.

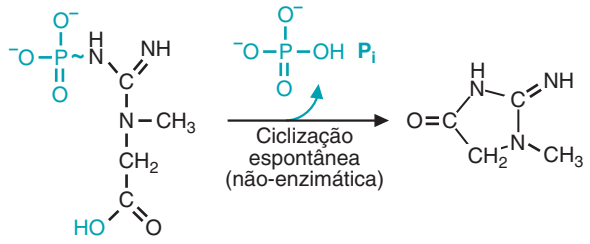


Figura 47.8 Produção espontânea de creatinina a partir de fosfato de creatina.

rega fosfato de alta energia da mitocôndria, onde o ATP é sintetizado, para os filamentos de miosina, onde o ATP é utilizado para a contração muscular.

O fosfato de creatina é um composto instável. Ele cicliza espontaneamente, formando creatinina (Figura 47.8). A creatinina não pode ser metabolizada e é excretada na urina. A quantidade de creatinina excretada por dia é constante e depende da massa muscular corporal. Portanto, ela pode ser usada como um padrão para determinar a quantidade de outros compostos excretados na urina, bem como um indicador da função excretória renal. O volume diário de urina é determinado por fatores, como o volume de sangue que chega no glomérulo renal e a quantidade de fluido tubular renal reabsorvido da urina tubular de volta para o espaço intersticial dos rins por unidade de tempo. A um dado momento, a concentração de um composto em uma amostra isolada de urina não fornece uma boa indicação da quantidade total diária que está sendo excretada. Entretanto, se a concentração do composto for dividida pela concentração de creatinina, o resultado fornece uma indicação melhor da taxa real excretada.

B. Utilização de Substrato Energético no Repouso

A utilização de substrato energético pelo músculo em repouso depende dos níveis séricos de glicose, aminoácidos e ácidos graxos. Se a glicose e os aminoácidos sangüíneos estão elevados, a glicose será convertida em glicogênio, e o metabolismo dos aminoácidos de cadeia ramificada estará alto. Os ácidos graxos serão utilizados para a produção de acetil-CoA e irão satisfazer as necessidades energéticas do músculo sob essas condições.

Existe um balanço entre a oxidação de glicose e a de ácidos graxos que é regulado por citrato. Quando a célula muscular tem quantidades adequadas de energia, o citrato deixa a mitocôndria e ativa a ACC-2, que produz malonil-CoA. A malonil-CoA inibe a carnitina-palmitoiltransferase I, reduzindo, assim, a oxidação de ácidos graxos pelo músculo. A malonil-CoA-descarboxilase também está inativa, pois a AMP-PK não é ativa no estado alimentado. Assim, o músculo regula a oxidação de glicose e de ácidos graxos, em parte, pelo monitoramento dos níveis de citrato citoplasmático.

C. Utilização de Substrato Energético Durante o Jejum

Com a queda dos níveis de glicose sangüínea, os níveis de insulina diminuem. Isso reduz os níveis de transportadores GLUT4 na membrana do músculo, e a utilização de glicose pelo músculo diminui de forma significativa. Isso poupa glicose para ser utilizada pelo sistema nervoso e pelas células vermelhas do sangue. No músculo cardíaco, a PFK-2 é fosforilada e ativada pela insulina. Da mesma forma, a falta de insulina resulta em utilização reduzida de glicose por essas células. A piruvato-desidrogenase é inibida por altos níveis de acetil-CoA e NADH produzidos pela oxidação de ácidos graxos.

Os ácidos graxos se tornam o substrato energético preferencial do músculo sob condições de jejum. A AMP-PK está ativa devido ao fato de os níveis de ATP estarem abaixo do normal, a ACC-2 estar inibida e a malonil-CoA-descarboxilase estar ativada,

Cada rim normalmente contém aproximadamente um milhão de unidades glomerulares. Cada unidade é suprida por sangue arterial pelas artérias renais e age como um "filtro". Metabólitos como a creatinina deixam o sangue passando através de poros ou canais nos capilares glomerulares e passam para o fluido no interior do túbulo proximal renal para a excreção final na urina. Quando funcionalmente intactos, os tecidos glomerulares são impermeáveis a todas as proteínas, exceto as menores. Quando bastante inflamados, entretanto, essa barreira é perdida, e a albumina e outras proteínas podem aparecer na urina.

As graves mudanças inflamatórias nos capilares glomerulares que acompanham a glomerulonefrite pós-estreptocócica reduzem de forma significativa o fluxo de sangue para as superfícies filtrantes desses vasos. Como resultado, creatinina, uréia e outros metabólitos circulantes que são filtrados para a urina a velocidades normais (a taxa de filtração glomerular ou TFG) na ausência de doença renal agora não conseguem alcançar esses filtros e, portanto, acumulam-se no plasma.

Essas mudanças explicam o perfil laboratorial de **Rena Felya** durante sua doença glomerular inflamatória aguda.

As células do músculo e do cérebro contêm grandes quantidades de creatina-fosfoquinase (CK, do inglês *creatine phosphokinase*), e danos a essas células causam a perda dessa enzima para o sangue. A CK sérica é medida para diagnosticar e avaliar pacientes que tiveram derrames ou ataques do coração. A presença de 5% ou mais de CK no sangue como isoforma muscular é indicativo de ataque do coração (ver Capítulos 8 e 9).



Deve-se lembrar que, na inanição prolongada, a proteólise muscular está induzida para fornecer substratos para a gliconeogênese no fígado. Entretanto, isso não altera a utilização de ácidos graxos pelo músculo para suas próprias necessidades energéticas sob essas condições.

sustentando, assim, a atividade plena da CPT-I. A falta de glicose reduz a velocidade glicolítica, e a síntese de glicogênio não ocorre devido à inativação da glicogênio-sintase pela fosforilação estimulada por adrenalina.

D. Utilização de Substrato Energético Durante o Exercício

A velocidade de utilização de ATP no músculo esquelético durante o exercício pode ser até 100 vezes maior do que aquela em repouso. Assim, as rotas de oxidação de substratos energéticos devem ser rapidamente ativadas durante o exercício para responder a uma demanda muito maior de ATP. O ATP e o fosfato de creatina podem ser esgotados rapidamente se não forem continuamente regenerados. A síntese de ATP ocorre pela glicólise (aeróbica ou anaeróbica) e pela fosforilação oxidativa (que requer o suprimento constante de oxigênio).

A glicólise anaeróbica é especialmente importante como fonte de ATP em três condições. A primeira é durante o período inicial do exercício, antes do aumento do fluxo sangüíneo estimulado pelo exercício e do começo da oferta de substratos e oxigênio, permitindo que o processo aeróbico ocorra. A segunda condição na qual a glicólise anaeróbica é importante é no exercício realizado por músculos contendo predominantemente fibras musculares glicolíticas de contração rápida, pois essas fibras possuem baixa capacidade oxidativa e geram a maioria do seu ATP pela glicólise. A terceira condição é durante a atividade extenuante, quando a necessidade de ATP excede a capacidade oxidativa do tecido e a demanda aumentada de ATP é satisfeita pela glicólise anaeróbica.

1. GLICÓLISE ANAERÓBICA NO INÍCIO DO EXERCÍCIO

Durante o repouso, a maioria do ATP requerido por todos os tipos de fibras musculares é obtida do metabolismo aeróbico. Entretanto, assim que o exercício começa, a demanda de ATP aumenta. Se não fosse regenerada, a quantidade de ATP presente no músculo esquelético poderia sustentar o exercício por apenas 1,2 segundo, e a de fosfocreatina, por apenas 9 segundos. O suprimento de sangue para o músculo em exercício demora mais de 1 minuto para aumentar de forma significativa devido à vasodilatação, e, portanto, o metabolismo oxidativo da glicose e de ácidos graxos vindos do sangue não pode aumentar rapidamente no início do exercício. Assim, nos primeiros minutos do exercício, a conversão de glicogênio em lactato fornece uma porção considerável do requerimento de ATP.

2. GLICÓLISE ANAERÓBICA NA FIBRA GLICOLÍTICA DE CONTRAÇÃO RÁPIDA TIPO IIB

Embora os seres humanos não possuam nenhum músculo que contenha apenas esse tipo de fibra muscular, muitos animais o possuem. Exemplos disso são os músculos abdominais do peixe e o músculo peitoral de aves de caça (carne branca de peru). Esses músculos se contraem de forma vigorosa e rápida (a contração rápida se refere ao tempo de pico de tensão), mas apenas por períodos curtos. Assim, eles são usados em atividades como o vôo nos pássaros e o *sprinting* e levantamento de peso em seres humanos.

Em tais músculos, a capacidade glicolítica é alta, pois as enzimas da glicólise estão presentes em grandes quantidades (assim, a $V_{máx}$ [velocidade máxima] global é grande). Os níveis de hexoquinase, entretanto, são baixos, e, assim, pouca glicose circulante é utilizada. Os níveis baixos de hexoquinase nas fibras glicolíticas de contração rápida previnem que o músculo drene a glicose sangüínea para satisfazer sua alta demanda por ATP, evitando, assim, a hipoglicemia. A glicose-6-fosfato, formada a partir da glicogenólise, inibe ainda mais a hexoquinase. Os tecidos contam com os estoques de substratos energéticos endógenos (glicogênio e fosfato de creatina) para gerar ATP, seguindo a rota da degradação do glicogênio a glicose-1-fosfato, a conversão da glicose-1-fosfato em glicose-6-fosfato e o metabolismo da glicose-6-fosfato a lactato. Assim, a glicólise anaeróbica é a principal fonte de ATP durante o exercício nessas fibras musculares.

3. GLICÓLISE ANAERÓBICA A PARTIR DE GLICOGÊNIO

A glicogenólise e a glicólise durante o exercício são ativadas conjuntamente, pois tanto a PFK-1 (a enzima limitante da glicólise) quanto a glicogênio-fosforilase b (a forma inibida da glicogênio-fosforilase) são alostericamente ativadas por AMP.

O AMP é um ativador ideal, pois sua concentração normalmente é mantida baixa pelo equilíbrio da adenilato-quinase [2 ADP ↔ AMP + ATP] (também chamada de mioquinase no músculo). Assim, sempre que os níveis de ATP diminuem levemente, a concentração de AMP aumenta muitas vezes (Figura 47.9).

Começando com uma molécula de glicose-6-fosfato derivada da glicogenólise, três moléculas de ATP são produzidas na glicólise anaeróbica comparadas com 32 a 34 na glicólise aeróbica. Para compensar a baixa produção de ATP da glicólise anaeróbica, as fibras glicolíticas, de contração rápida possuem um conteúdo muito maior de enzimas glicolíticas e a velocidade de utilização da glicose-6-fosfato é mais de 12 vezes mais rápida do que nas fibras de contração lenta.

A fadiga muscular durante o exercício em geral resulta da diminuição do pH do tecido para cerca de 6,4. O metabolismo aeróbico, assim como o anaeróbico, diminui o pH, e tanto a diminuição do pH quanto a produção de lactato podem causar dor.

A fadiga metabólica também pode ocorrer quando o glicogênio muscular for esgotado. Os estoques de glicogênio muscular são consumidos em menos de 2 minutos de exercício anaeróbico. Na realização de flexões, isso pode ser provado. Os músculos utilizados em flexões, um exercício de alta força, são principalmente as fibras glicolíticas de contração rápida. Contando o tempo desde o início das flexões, não importa quão bem treinado o indivíduo esteja, o indivíduo provavelmente não conseguirá fazer flexões por mais de 2 minutos. Além disso, sentirá dor assim que o pH do músculo diminuir conforme a produção de lactato continua.

A regulação do metabolismo do glicogênio muscular é complexa. Deve-se lembrar que a degradação de glicogênio no músculo não é sensível ao glucagon (os músculos não possuem receptores de glucagon), e, assim, há mudanças muito pequenas nos estoques de glicogênio muscular durante o jejum noturno ou de longa duração se o indivíduo permanecer em repouso. A glicogênio-sintase é inibida durante o exercício, mas pode ser ativada no músculo em repouso pela liberação de insulina após uma refeição rica em carboidratos. Ao contrário da forma hepática da glicogênio-fosforilase, a isoenzima muscular contém um sítio alostérico para ligação de AMP. Quando o AMP se liga na glicogênio-fosforilase b muscular, a enzima é ativada mesmo que não esteja fosforilada. Então, assim que o músculo começa a trabalhar e a miosina-ATPase hidrolisa os estoques existentes de ATP a ADP, o AMP começará a se acumular (devido à reação da mioquinase), e a degradação do glicogênio será aumentada. A ativação da glicogênio-fosforilase b muscular é ainda mais aumentada pela liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático, que ocorre quando os músculos são estimulados a se contraírem. O aumento do Ca^{2+} sarcoplasmático também leva à ativação alostérica da glicogênio-fosforilase-quinase (pela ligação à subunidade calmodulina da enzima), que fosforila a glicogênio-fosforilase b muscular, ativando-a plenamente. Finalmente, durante o exercício intenso, a liberação de adrenalina estimula a ativação da adenilato-ciclase nas células musculares, ativando, assim, a proteína-quinase AMPc-dependente (ver Figura

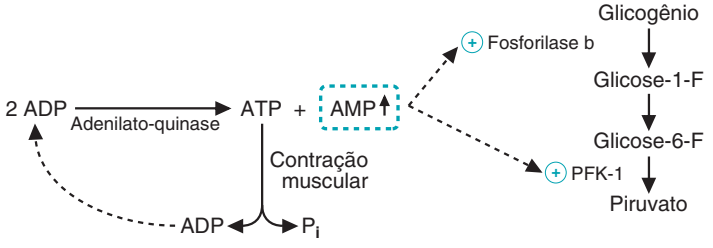


Figura 47.9 Ativação da glicogenólise e da glicólise musculares pelo AMP. Conforme o músculo se contrai, ATP é convertido em ADP e P_i. Na reação da adenilato-quinase, dois ADP reagem para formar ATP e AMP. O ATP é utilizado para a contração. Conforme o AMP se acumula, ele ativa a glicogenólise e a glicólise.

28.10). A proteína-quinase A fosforila e ativa plenamente a glicogênio fosforilase-quinase de tal forma que pode ocorrer uma ativação persistente da glicogênio-fosforilase muscular. O sinal hormonal é mais lento do que os eventos de ativação iniciais desencadeados por AMP e cálcio (Figura 47.10)

4. GLICÓLISE ANAERÓBICA DURANTE O EXERCÍCIO DE ALTA INTENSIDADE

Assim que o exercício começa, a cadeia transportadora de elétrons, o ciclo do TCA e a oxidação de ácidos graxos são ativados pelo aumento de ADP e pela diminuição de ATP. A piruvato-desidrogenase permanece em seu estado não-fosforilado ativo enquanto o NADH puder ser reoxidado na cadeia transportadora de elétrons e a acetil-CoA puder entrar no ciclo do TCA. Entretanto, mesmo que o metabolismo mitocondrial esteja trabalhando em sua capacidade máxima, é necessário ATP adicional para o exercício muito vigoroso de alta intensidade. Quando isso ocorre, o ATP não é produzido de forma suficientemente rápida para satisfazer as necessidades do músculo, e o AMP começa a se acumular. O aumento dos níveis de AMP ativa a PFK-1 e a glicogenólise, fornecendo, assim, o ATP adicional a partir da glicólise anaeróbica (o piruvato adicio-

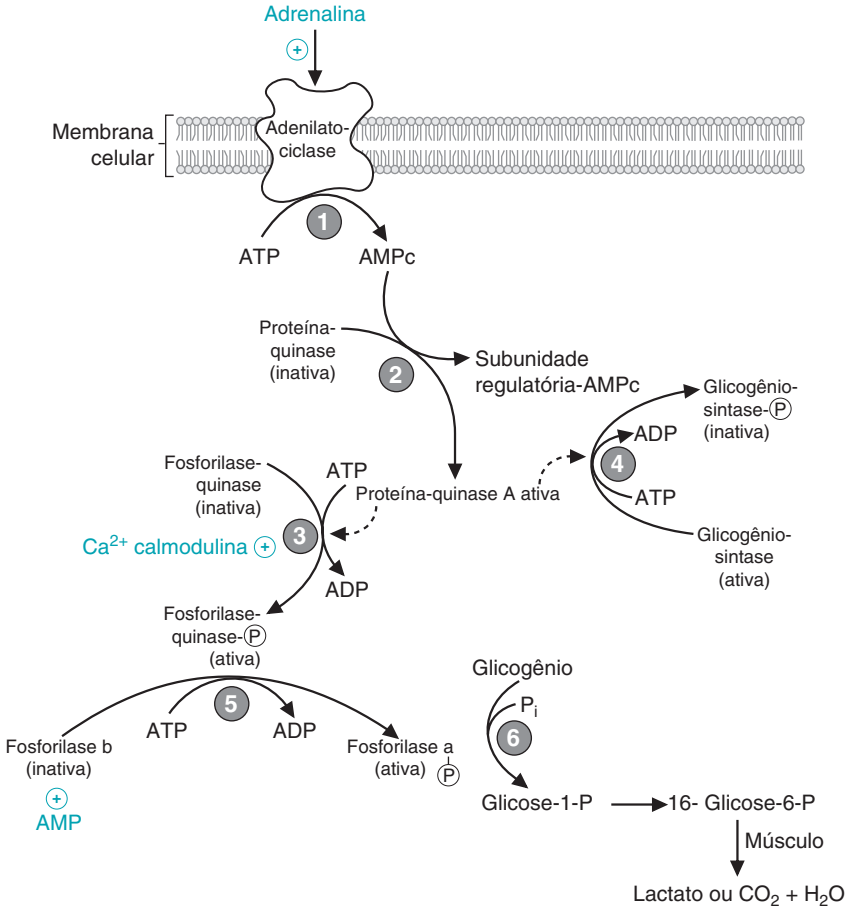


Figura 47.10 Estimulação da glicogenólise no músculo pela adrenalina. 1. A adrenalina se liga ao seu receptor, levando à ativação da adenilato-ciclase, que aumenta os níveis de AMPc. 2. O AMPc se liga às subunidades regulatórias da proteína-quinase A, ativando, assim, as subunidades catalíticas. 3. A proteína-quinase A, agora ativa, fosforila e ativa a fosforilase-quinase. Essa enzima também pode ser parcialmente ativada pelo complexo Ca^{2+}-calmodulina, quando os níveis de Ca^{2+} aumentam durante a contração muscular. 4. A proteína-quinase A fosforila e inativa a glicogênio-sintase. 5. A fosforilase-quinase ativa converte a glicogênio-fosforilase b em glicogênio-fosforilase a. 6. A degradação de glicogênio gera glicose-1-P, que é convertida em glicose-6-P e entra na rota glicolítica para a produção de energia.

nal produzido, em vez de entrar na mitocôndria, é convertido em lactato, de modo que a glicólise possa continuar). Assim, sob essas condições, a maioria do piruvato formado pela glicólise entra no ciclo do TCA, enquanto o restante é reduzido a lactato para regenerar NAD^+ para a sua utilização contínua na glicólise.

5. DESTINO DO LACTATO LIBERADO DURANTE O EXERCÍCIO

O lactato que é liberado pelo músculo esquelético durante o exercício pode ser utilizado pelos músculos esqueléticos em repouso ou pelo coração, um músculo com uma grande quantidade de mitocôndrias e uma capacidade oxidativa muito alta. Em tais músculos, a razão $NADH/NAD^+$ será menor do que a dos músculos esqueléticos em exercício, e a reação da lactato-desidrogenase acontecerá na direção da formação do piruvato. O piruvato gerado é, então, convertido em acetil-CoA e oxidado no ciclo do TCA, produzindo energia pela fosforilação oxidativa.

O segundo destino potencial do lactato é o seu retorno ao fígado, pelo ciclo de Cori, onde será convertido em glicose (ver Figura 22.10)

VI. EXERCÍCIOS DE LONGA DURAÇÃO DE INTENSIDADES LEVE E MODERADA

A. A Liberação de Lactato Diminui com a Duração do Exercício

Exercícios de intensidade leve a moderada podem ser realizados por períodos mais longos do que exercícios de alta intensidade. Isso porque a oxidação aeróbica de glicose e de ácidos graxos gera mais energia por molécula de substrato energético do que o metabolismo anaeróbico e também produz ácido a uma velocidade mais lenta do que esse metabolismo. Assim, durante exercícios de intensidades leve e moderada, a liberação de lactato diminui ao mesmo tempo em que o metabolismo aeróbico de glicose e ácidos graxos se torna predominante.

A. Glicose Sangüínea como Substrato Energético

A qualquer momento durante o jejum, o sangue contém apenas aproximadamente 5 g de glicose, o suficiente para sustentar uma pessoa correndo a passo moderado por poucos minutos. Portanto, o suprimento de glicose sangüínea deve ser constantemente reposto. O fígado executa essa função por processos similares àqueles usados durante o jejum. Ele produz glicose pela degradação de seus próprios estoques de glicogênio e pela gliconeogênese. A principal fonte de carbono para a gliconeogênese durante o exercício é, obviamente, o lactato produzido pelo músculo em exercício, mas aminoácidos e glicerol também são utilizados (Figura 47.11). A adrenalina liberada durante o exercício estimula a glicogenólise hepática e a gliconeogênese pelo aumento dos níveis de AMPc.

Durante períodos longos de exercício, os níveis de glicose sangüínea são mantidos pelo fígado pela glicogenólise hepática e pela gliconeogênese. A quantidade de glicose que o fígado deve exportar é máxima nas mais altas cargas de trabalho, situação na qual o músculo está utilizando uma maior proporção de glicose para o metabolismo anaeróbico. Com o aumento da duração do exercício, uma proporção cada vez maior de glicose sangüínea é fornecida pela gliconeogênese. Entretanto, por até 40 minutos de exercício leve, a glicogenólise é a principal responsável pela saída de glicose do fígado. Por outro lado, de 40 a 240 minutos de exercício, a saída total de glicose do fígado diminui. Isso é causado pelo aumento da utilização de ácidos graxos, os quais estão sendo liberados a partir dos triacilgliceróis do tecido adiposo (processo estimulado pela liberação de adrenalina). A captação de glicose pelo músculo é estimulada pelo aumento dos níveis de AMP e pela ativação da proteína-quinase AMP-ativada, que estimula a translocação de transportadores GLUT4 para a membrana do músculo.

As mudanças hormonais que comandam o aumento da glicogenólise e da gliconeogênese hepáticas e o tecido adiposo incluem a diminuição de insulina e o aumento de glucagon, adrenalina e noradrenalina. Os níveis plasmáticos de hormônio do crescimento, cortisol e hormônio estimulante da tireóide (TSH, do inglês *thyroid-stimulating hor-*

Q: Se **Otto Shape** correr em um ritmo no qual seus músculos requeiram aproximadamente 500 Calorias por hora, por quanto tempo ele poderia correr com a quantidade de glicose presente no sangue circulante? Assuma que o volume sangüíneo é de 5 L.

R: No Capítulo 1 foi mostrado que a Caloria de alimentos é equivalente a 1 kcal de energia. Um grama de glicose pode fornecer 4 kcal de energia, e, assim, a uma taxa de consumo de 500 Calorias por hora, tem-se o seguinte:

(500 Calorias/hora) X (1 g de glicose/4 Calorias de energia) X (1 hora/60 minutos) = 2 g de glicose/minuto.

Assim, Otto deve utilizar 2 g de glicose para correr no ritmo atual. No estado de jejum, os níveis de glicose sangüínea são de aproximadamente 90 mg/dL, ou 900 mg/L. Como o volume sangüíneo está estimado em 5 L, Otto tem 4,5 g de glicose disponíveis. Se não for reposta, esta quantidade de glicose poderia suportar apenas 2,5 minutos de corrida a 2 g de glicose por minuto.

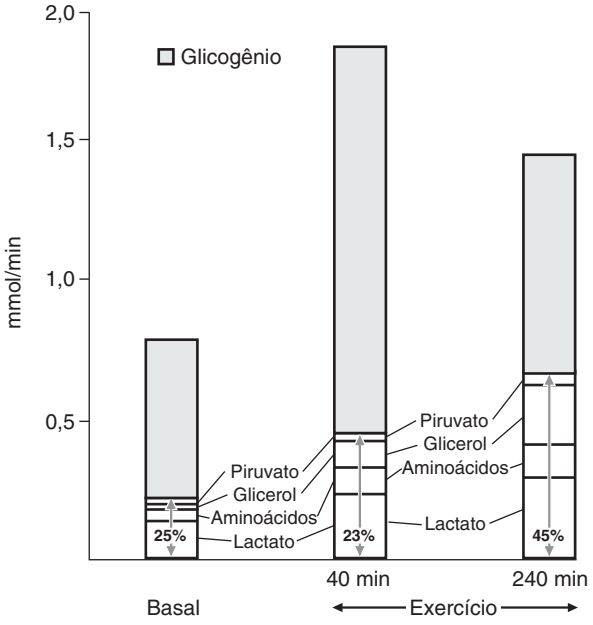


Figura 47.11 Produção de glicose sangüínea pelo fígado a partir de vários precursores durante o repouso e o exercício prolongado. A área sombreada representa a contribuição do glicogênio hepático para a glicose sangüínea, e a área branca representa a contribuição da gliconeogênese. De Wahren J, et al. Em: Howald H, Poortmans JR, eds. Metabolic adaptation to prolonged physical exercise. Cambridge, MA: Birkhauser, 1973:148.

mone) também aumentam e, da mesma forma, podem contribuir para a mobilização de substratos energéticos (ver Capítulo 43). A ativação da glicogenólise hepática ocorre pela liberação de glucagon e adrenalina. A gliconeogênese hepática é ativada pelo aumento de suprimento de precursores (lactato, glicerol, aminoácidos e piruvato), pela indução das enzimas gliconeogenéticas por glucagon e cortisol (isso ocorre apenas no exercício prolongado) e pelo suprimento aumentado de ácidos graxos para fornecer ATP e NADH necessários para a gliconeogênese e a regulação das enzimas gliconeogenéticas.

C. Ácidos Graxos Livres como Fonte de ATP

Quanto maior a duração do exercício, maior é a dependência do músculo por ácidos graxos para a geração de ATP (Figura 47.12). Como a geração de ATP a partir de

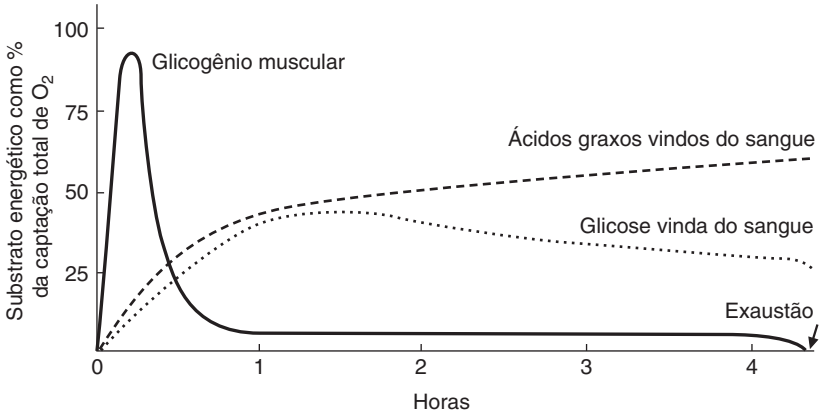


Figura 47.12 Substratos energéticos utilizados durante o exercício. O padrão dessa utilização muda com a duração do exercício. De Felig P, et al. Endocrinology & Metabolism. New York: McGraw-Hill, 1981:796.

ácidos graxos livres depende da mitocôndria e da fosforilação oxidativa, corrida de longas distâncias usam músculos que são principalmente fibras oxidativas de contração lenta, como o gastrocnêmio. Também é importante dar-se conta de que o músculo esquelético em repouso utiliza ácidos graxos livres como substrato energético principal. Praticamente a qualquer momento, exceto o estado pós-prandial (imediatamente após a alimentação), os ácidos graxos livres são o substrato energético preferido pelo músculo esquelético.

A utilização preferencial de ácidos graxos sobre glicose como substrato energético no músculo esquelético depende dos seguintes fatores:

1. Disponibilidade de ácidos graxos livres no sangue, que depende da sua liberação a partir dos triacilgliceróis do tecido adiposo pela lipase hormônio-sensível. Durante o exercício prolongado, a pequena diminuição de insulina e o aumento de glucagon, adrenalina e noradrenalina, cortisol e, possivelmente, hormônio do crescimento conjuntamente ativam a lipólise do tecido adiposo.
2. Inibição da glicólise por produtos da oxidação de ácidos graxos. A atividade da piruvato-desidrogenase é inibida por acetil-CoA, NADH e ATP, os quais estão elevados quando ocorre oxidação de ácidos graxos. Com a queda dos níveis de AMP e a elevação dos níveis de ATP, a atividade da PFK-1 fica diminuída (ver Capítulo 22).
3. O transporte de glicose pode ser reduzido durante o exercício de longa duração. O transporte de glicose para os músculos esqueléticos via transportadores GLUT4 é muito ativado tanto por insulina quanto por exercício. Durante o exercício de longa duração, o efeito da queda dos níveis de insulina ou do aumento dos níveis de ácidos graxos pode contrabalançar a estimulação do transporte de glicose pelo próprio exercício.
4. A oxidação de corpos cetônicos aumenta durante o exercício. A sua utilização como substrato energético é dependente da sua velocidade de produção pelo fígado. Entretanto, os corpos cetônicos nunca são o principal substrato energético para o músculo esquelético (os músculos preferem ácidos graxos livres).
5. A acetil-CoA-carboxilase (isoenzima ACC-2) deve ser inativada para o músculo utilizar ácidos graxos. Isso ocorre quando a AMP-PK é ativada e fosforila a ACC-2, tornando-a inativa.

D. Aminoácidos de Cadeia Ramificada

Foi estimado que a oxidação de aminoácidos de cadeia ramificada fornece no máximo 20% do suprimento de ATP do músculo em repouso. A oxidação de aminoácidos de cadeia ramificada no músculo serve a duas funções. A primeira é a geração de ATP e a segunda é a síntese de glutamina, que eflui do músculo. As mais altas taxas de oxidação de aminoácidos de cadeia ramificada ocorrem sob condições de acidose, nas quais há uma maior demanda por glutamina para transferir amônia para o rim e para tamponar a urina como íon amônio durante a excreção de prótons. Deve-se lembrar que a síntese de glutamina ocorre a partir do esqueleto de carbono da oxidação de aminoácidos de cadeia ramificada (valina e isoleucina) após os cinco primeiros passos iniciais da rota oxidativa.

E. O Ciclo de Nucleotídeos da Purina

O exercício aumenta a atividade do ciclo dos nucleotídeos da purina, que converte aspartato em fumarato e amônia (ver Figura 41.13). A amônia é usada para tamponar a produção de prótons e de lactato pela glicólise, e o fumarato é reciclado, podendo formar glutamina.

F. Acetato

O acetato é um excelente substrato energético para o músculo esquelético. Ele é tratado pelo músculo como um ácido graxo de cadeia muito curta. Ele é ativado a acetil-CoA no citosol e, então, transferido para a mitocôndria pela acetil-carnitina-transferase, uma

isoenzima da carnitina-palmitoiltransferase. As fontes de acetato incluem a dieta (o vinagre é ácido acético) e o acetato produzido pelo fígado a partir do metabolismo do etanol. Certas barras energéticas comerciais para atletas contêm acetato.

VII. EFEITOS METABÓLICOS DO TREINAMENTO SOBRE O METABOLISMO MUSCULAR

O efeito depende, em certo grau, do tipo de treinamento. Em geral, o treinamento aumenta os estoques de glicogênio muscular, aumentando também o número e o tamanho das mitocôndrias. Assim, as fibras aumentam sua capacidade de gerar ATP pelo metabolismo oxidativo e sua habilidade de utilizar ácidos graxos como substrato energético. Os vencedores de maratona parecem utilizar o glicogênio muscular de forma mais eficiente do que os outros.

O treinamento para melhorar a força, o poder e a resistência do desempenho muscular é chamado de treinamento de resistência. Seu objetivo é aumentar o tamanho das fibras musculares (hipertrofia muscular). Elas podem desenvolver uma força máxima de 3 a 4 kg/cm^2 de área muscular. Assim, se o tamanho do músculo for aumentado de 80 para 120 cm^2, a resistência máxima que seria alcançada aumenta de 240 para 360 kg. A hipertrofia ocorre por aumento da síntese protéica no músculo e por redução do *turnover* das proteínas existentes.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS



Glomerulonefrite pós-estreptocócica (PSGN, do inglês *poststreptococcal glomerulonephritis*) pode suceder à infecção faringiana ou cutânea por um número limitado de cepas "nefritogênicas" de estreptococo β-hemolítico do grupo A. A patogênese da PSGN envolve uma resposta imune do hospedeiro (anticorpo) a uma ou mais enzimas secretadas pelas células bacterianas. Os complexos de antígeno-anticorpo são depositados nos tecidos das unidades glomerulares, causando uma resposta inflamatória local aguda. Pode ocorrer hipertensão como conseqüência da retenção de sódio e água causada pela inabilidade das unidades glomerulares inflamadas em filtrar sódio e água para a urina. A proteinúria em geral é leve se a resposta imune for autolimitada.

De modo geral, um dos indicadores clínicos mais úteis da taxa de filtração glomerular tanto na saúde quanto na doença é a concentração sérica de creatinina. A produção endógena de creatinina, a qual é em média 15 mg/kg de peso corporal por dia, está correlacionada com a massa muscular e, portanto, tende a ser constante para um dado indivíduo se a função renal está normal. Qualquer aumento na creatinina sérica em pacientes como **Rena Felya**, portanto, pode ser assumido como resultante da excreção diminuída desse metabólito na urina. A extensão da elevação no sangue é diretamente relacionada com a gravidade do processo patológico envolvendo as unidades glomerulares dentro do rim.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



A bomba SERCA (Ca^{2+}-ATPase do retículo sarcoplasmático) é uma proteína transmembrana de 110 kDa presente em várias isoformas diferentes em todo o corpo. Três genes codificam as proteínas SERCA, denominados SERCA1, SERCA2 e SERCA3. O gene SERCA1 produz dois transcritos por *splicing* alternativo, SERCA1a e SERCA1b. A SERCA1b é expressa no músculo esquelético de contração rápida fetal e neonatal e é substituída pela SERCA1a no músculo de contração rápida adulto. O produto do gene SERCA2 também sofre *splicing* alternativo, produzindo as isoformas SERCA2a e SERCA2b. A isoforma SERCA2b é expressa em todos os tipos

de células e está associada aos estoques de cálcio regulados por trisfosfato de inositol (IP_3, do inglês *inositol trisphosphate*). A SERCA2a é a isoforma principal expressada no tecido cardíaco. O gene SERCA3 produz pelo menos cinco isoformas por *splicing* alternativo, que são expressas especificamente em diferentes tecidos.

A SERCA2a participa de um papel importante na contração e no relaxamento cardíacos. A contração é iniciada pela liberação de cálcio dos estoques intracelulares, enquanto o relaxamento ocorre conforme o cálcio é resseqüestrado no retículo sarcoplasmático, em parte mediado pela proteína SERCA2a. A bomba SERCA2a é regulada, em parte, pela associação à proteína fosfolamban (PLN, do inglês *phospholamban*). A PLN é uma molécula pentamérica consistindo em cinco subunidades idênticas de peso molecular de 22.000 dáltons. A PLN se associa à SERCA2a no retículo sarcoplasmático e reduz sua atividade de bombeamento. Como novas contrações não podem ocorrer até que o cálcio citosólico tenha sido resseqüestrado para dentro do retículo sarcoplasmático, a redução na atividade da SERCA2a aumenta o tempo de relaxamento. Entretanto, quando requisitado, o coração pode aumentar a sua velocidade de contração pela inibição da atividade da PLN. Isso é feito pela fosforilação da PLN pela proteína-quinase A (PKA). A liberação de adrenalina estimula o coração a bater mais rápido. Isso ocorre pela ligação da adrenalina ao seu receptor, ativando a proteína G, que leva à ativação da adenilil-ciclase, à elevação dos níveis de AMPc e à ativação da PKA. Essa quinase fosforila a PLN, com isso reduzindo sua associação à SERCA2a e liberando a inibição da atividade de bombeamento. Isso resulta na redução do tempo de relaxamento e em contrações mais freqüentes.

Mutações na PLN levam a cardiomiopatias, principalmente uma forma autossômica dominante de cardiomiopatia dilatada. Essa mutação faz com que uma arginina fique no lugar de uma cisteína na posição 9 da PLN, o que forma um complexo inativo com a PKA e bloqueia a fosforilação da PLN pela PKA. Indivíduos com essa forma de PLN desenvolvem cardiomiopatia na segunda década de vida. Nessa condição, o músculo cardíaco não bombeia de forma adequada (devido à inibição constante da SERCA2a) e se torna aumentado (dilatado). Devido à precária ação de bombeamento pelo coração, líquido pode se acumular nos pulmões. A congestão pulmonar resulta em uma sensação de falta de ar (insuficiência cardíaca esquerda). Finalmente, a insuficiência cardíaca esquerda progressiva leva ao acúmulo de fluidos em outros tecidos e órgãos do organismo, como as pernas e os tornozelos (insuficiência cardíaca direita).

Leituras Sugeridas

Dyck JRB, Lopaschuk GD. Malonyl CoA control of fatty acid oxidation in the ischemic heart. J Mol Cell Cardiol 2002:34:1099-1109.

Gibson DM, Harris RA. Muscle Metabolism in Metabolic Regulation in Mammals. New York: Taylor and Francis, 2002: 123-154.

MacLennan DH, Kranias EG. Phospholamban: a crucial regulator of cardiac contractility. Nature Review. Molecular Cell Biology 2003:4:566-577.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 47

1. O processo de alongamento antes do exercício tem qual dos seguintes benefícios bioquímicos?

   (A) Estimula a liberação de adrenalina
   (B) Ativa a glicólise no fígado
   (C) Aumenta o fluxo sangüíneo para os músculos
   (D) Ativa a glicólise nos músculos
   (E) Estimula a glicogenólise no fígado

2. Qual o principal substrato energético que participa no exercício aeróbico prolongado?

   (A) Glicogênio hepático
   (B) Glicogênio muscular
   (C) Glicogênio cerebral
   (D) Triacilglicerol do tecido adiposo
   (E) Lactato produzido pelas células vermelhas do sangue

3. Um indivíduo apresentou níveis de excreção de creatinina em urina de 24 horas muito abaixo do normal. Qual das seguintes alternativas pode ser uma causa de excreção diminuída de creatinina?

   (A) Uma ingestão diminuída de creatina na dieta
   (B) Uma massa muscular maior do que o normal, causada pelo aumento de peso
   (C) Um defeito genético na enzima que converte fosfato de creatina em creatinina
   (D) Insuficiência renal
   (E) Uma dieta vegetariana

4. Na rota biossintética de heme, creatina e guanina, qual dos seguintes aminoácidos fornece diretamente átomos de carbono que aparecem no produto final?

   (A) Serina
   (B) Aspartato
   (C) Cisteína
   (D) Glutamato
   (E) Glicina

5. No músculo esquelético, a hidrólise aumentada de ATP durante a contração muscular leva a qual das seguintes alternativas?

   (A) Uma diminuição na velocidade de oxidação de palmitato a acetil-CoA
   (B) Uma diminuição na velocidade de oxidação de NADH pela cadeia de transporte de elétrons
   (C) Ativação da PFK-1
   (D) Um aumento do gradiente de prótons através da membrana mitocondrial interna
   (E) Ativação da glicogênio-sintase

48 Metabolismo do Sistema Nervoso

O sistema nervoso consiste em vários tipos celulares. A ***glia*** *é a célula mais abundante e é composta de* ***astrócitos*** *e* ***oligodendrócitos*** *no* ***sistema nervoso central*** *e de* ***células de Schwann*** *no* ***sistema nervoso periférico****. Essas células fornecem sustentação para os neurônios e sintetizam a* ***bainha de mielina*** *protetora que envolve os axônios originados dos neurônios. As* ***células microgliais*** *no sistema nervoso agem como as células imunológicas, destruindo e ingerindo corpos estranhos que entram no sistema nervoso. A interface entre o parênquima cerebral e o compartimento do fluido cerebrospinal é formada pelas células* ***ependimárias*** *que revestem as cavidades do cérebro e da medula espinal. Essas células usam seus cílios para permitir a circulação do fluido cerebrospinal (CSF), que banha as células do sistema nervoso central.*

As células do cérebro são separadas do contato livre com o restante do corpo pela ***barreira hematencefálica*** *(sangue-cérebro). Os capilares do cérebro apresentam características, como as junções de oclusão das células endoteliais, que limitam a sua permeabilidade aos metabólitos do sangue. Isso protege o cérebro de compostos que poderiam ser tóxicos ou, por outro lado, interferir na transmissão do impulso nervoso. Isso também afeta a entrada de precursores das vias metabólicas cerebrais, como o metabolismo energético e a síntese de neurotransmissores.*

Os neurotransmissores podem ser estruturalmente divididos em duas categorias: os ***neurotransmissores pequenos contendo nitrogênio*** *e os* ***neuropeptídeos****. Os neurotransmissores pequenos contendo nitrogênio em geral são sintetizados no* ***terminal pré-sináptico*** *a partir de aminoácidos e intermediários da glicólise e do ciclo do TCA. Eles são armazenados em vesículas até o neurônio ser despolarizado. Os neurotransmissores* ***catecolaminérgicos*** *(****dopamina****,* ***noradrenalina*** *e* ***adrenalina****) são derivados da tirosina. A* ***serotonina*** *é sintetizada a partir do* ***triptofano****. A* ***acetilcolina*** *é sintetizada a partir da* ***colina****, que pode ser fornecida pela dieta ou sintetizada e armazenada como parte da* ***fosfatidilcolina****. O* ***glutamato*** *e seu neurotransmissor derivado, ácido* ***γ-aminobutírico*** *(****GABA****), são derivados do* ***α-cetoglutarato*** *no ciclo do TCA. A* ***glicina*** *é sintetizada no cérebro a partir da* ***serina****. A síntese dos neurotransmissores é regulada para corresponder à velocidade de despolarização de neurônios individuais. Um grande número de co-fatores é requerido para a síntese de neurotransmissores, e as deficiências de* ***piridoxal-fosfato****,* ***tiamina-pirofosfato*** *e* ***vitamina B12*** *causam uma variedade de disfunções neurológicas.*

O metabolismo cerebral tem alta ***necessidade de glicose e de oxigênio****.* ***Deficiências de ambos*** *(****hipoglicemia*** *e* ***hipoxia****) afetam a função cerebral já que eles influenciam a produção de ATP e o fornecimento de precursores para a síntese de neurotransmissores. A* ***isquemia*** *provoca uma condição na qual* ***níveis aumentados de cálcio****,* ***edema****,* ***excitotoxicidade glutamatérgica*** *e* ***formação de óxido nítrico*** *afetam a função cerebral e podem provocar um acidente vascular cerebral. A formação de* ***radicais livres*** *e as anormalidades na produção de óxido nítrico são elementos importantes na patogênese de muitas doenças* ***neurodegenerativas****.*

Devido às restrições impostas pela barreira hematencefálica à entrada de diversas substâncias no sistema nervoso central, o cérebro em geral sintetiza e degrada seus próprios lipídeos. Os ácidos graxos essenciais podem entrar no cérebro, mas os mais comuns não o fazem. O turnover *de lipídeos na membrana sináptica é muito rápido, e os neurônios devem repor a perda desses lipídeos que ocorre durante a exocitose. As células gliais produzem a bainha de* ***mielina****, que é composta principal-*

mente por lipídeos. Esses lipídeos são de composição diferente daqueles das células neuronais. Como a síntese e o turnover *de lipídeos no cérebro são muito rápidos, esse órgão é sensível aos* ***distúrbios da função peroxissomal*** *(doença de Refsum; interferência na oxidação de ácidos graxos de cadeia muita longa e na α-oxidação) e* ***doenças lisossomais*** *(mucopolissacaridoses; incapacidade para degradar lipídeos complexos e glicolipídeos).*



SALA DE ESPERA



Katie Colamin, uma estilista de 34 anos, sentiu palpitações cardíacas alarmantes enquanto se abaixava para pegar seu gato. Ela também sentiu uma dor de cabeça pulsante e sudorese profusa. Após 5 a 10 minutos, esses sintomas desapareceram. Uma semana mais tarde, sua instrutora de exercício aeróbico, uma enfermeira, observou que Katie ficou muito pálida e trêmula durante o exercício. A instrutora mediu a pressão sangüínea de Katie, sendo a pressão sistólica 220 mmHg (normal até 120 em repouso) e a diastólica, 132 mmHg (normal até 80 em repouso). Dentro de 15 minutos, Katie se recuperou, e sua pressão sangüínea retornou ao normal. A instrutora disse a Katie para procurar seu médico no dia seguinte.

O médico de Katie disse que seu sintoma complexo acoplado com hipertensão grave sugeria a presença de um tumor na medula de uma de suas glândulas adrenais (um feocromocitoma) que estava episodicamente secretando grandes quantidades de catecolaminas, como noradrenalina (norepinefrina) e adrenalina (epinefrina). A pressão sangüínea estava normal até que uma compressão moderada à esquerda de sua cicatriz umbilical fez com que Katie subitamente tivesse um ataque típico, e a pressão sangüínea subiu rapidamente. Um exame de ressonância magnética (RM) das glândulas adrenais foi agendado imediatamente. A RM mostrou uma massa de 3,5 X 2,8 X 2,6 cm na glândula adrenal esquerda, com imagem característica de feocromocitoma.



O irmão de **Ivan Applebod**, **Evan Applebod**, tinha 1,82 m de altura e pesava 192,8 kg. Ele teve sucesso em perder peso apenas uma vez na vida, em 1977. O peso de Evan em geral não era uma preocupação para ele; contudo, em 1997, ele ficou apreensivo quando percebeu que havia se tornado difícil caminhar ou ir pescar devido a dores articulares nos joelhos. Ele também estava sofrendo de sintomas sugestivos de neuropatia periférica manifestada principalmente por formigamento nas pernas. Ele tinha falhado em todas as tentativas prévias de fazer dieta e agora estava desesperado para perder peso. O médico prescreveu um fármaco novo, Redux, o qual tinha sido aprovado recentemente para uso como agente para perda de peso, e uma dieta levemente restrita com poucas gorduras e poucas calorias. Em quatro meses, o peso de Evan passou de 192,8 kg para 151,9 kg, o colesterol total diminuiu de 250 para 185, e os triglicerídeos séricos diminuíram de 375 para 130. Contudo, o Redux foi retirado do mercado no final de 1997 devido a sua toxicidade. Evan passou a receber Prozac, um fármaco utilizado principalmente como antidepressivo e, com menos freqüência, como um supressor de apetite.

I. TIPOS CELULARES DO SISTEMA NERVOSO

O sistema nervoso consiste em neurônios, as células que transmitem sinais, e de células de sustentação, a neuroglia. A neuroglia consiste em oligodendrócitos e astrócitos (coletivamente conhecidos como células gliais), células microgliais, células ependimárias e células de Schwann**.** A neuroglia dá suporte e sustentação aos neurônios, envolvendo-

os e segurando-os na posição correta, fornecendo nutrientes e oxigênio, isolando-os e possibilitando que os sinais elétricos sejam propagados mais rapidamente, e removendo qualquer detrito que entre no sistema nervoso. O sistema nervoso central (SNC) é constituído pelo cérebro e a medula espinal. Esse sistema integra todos os sinais originados do sistema nervoso periférico (SNP). O SNP é constituído de todos os neurônios situados fora do SNC.

A. Neurônios

Os neurônios são constituídos de um corpo celular (soma), de onde emerge extensões longas (axônios) e curtas (dendritos). Os dendritos recebem informação de axônios de outros neurônios, enquanto os axônios transmitem informação para outros neurônios. A conexão axônio-dendrito é conhecida como sinapse (Figura 48.1). A maioria dos neurônios contém múltiplos dendritos, sendo que cada um deles pode receber sinais de múltiplos axônios. Isso permite que um único neurônio integre as informações originadas de múltiplas fontes. Embora o neurônio contenha somente um axônio, a maioria dos axônios ramifica-se extensivamente e distribui a informação para múltiplos alvos (divergência). Os neurônios transmitem sinais pelas mudanças no potencial elétrico através de suas membranas. A sinalização por uma sinapse requer a liberação de neurotransmissores que, quando ligados a seu receptor específico, iniciam um sinal elétrico na célula-alvo ou receptora. Os neurônios são células muito diferenciadas e, por esse motivo, têm pouca capacidade para divisão. Dessa forma, os neurônios lesados têm uma capacidade limitada de reparo e com freqüência sofrem apoptose (morte celular programada) quando danificados.

B. Células Neurogliais

1. ASTRÓCITOS

Os astrócitos são encontrados no SNC e são células em formato de estrela que fornecem o suporte físico e nutricional para os neurônios. Durante o desenvolvimento do SNC, os astrócitos guiam a migração neuronal para a sua posição adulta final e formam uma matriz que mantém os neurônios no lugar adequado. Essas células têm diversas funções, incluindo a capacidade de fagocitar detritos deixados para trás pelas células, fornecer lactato (a partir do metabolismo da glicose) como fonte de carbono para os

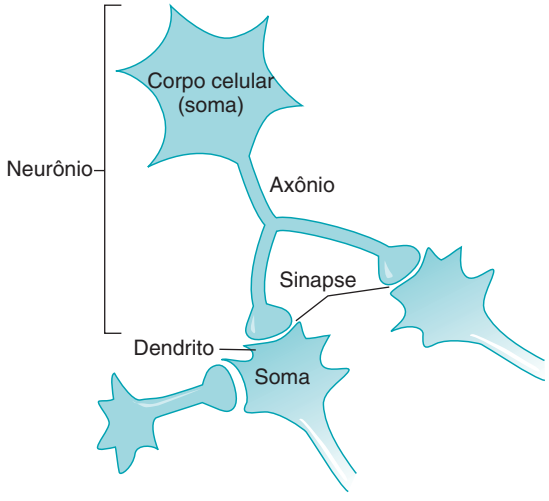


Figura 48.1 Um neurônio é constituído de um corpo celular (soma) com prolongamentos curtos (dendritos) e um prolongamento longo (axônio). A interface de axônio-dendrito é a sinapse. Um soma pode receber informação de múltiplos axônios.

neurônios e controlar o meio iônico extracelular cerebral. Os astrócitos auxiliam na regulação do conteúdo do fluido extracelular (ECF, do inglês *extracellular fluid*) por captação, processamento e metabolização de nutrientes e produtos de eliminação.

2. OLIGODENDRÓCITOS

Os oligodendrócitos elaboram a bainha de mielina que recobre o axônio, agindo como um "isolante" para muitos neurônios no SNC. A bainha de mielina constitui a capa de lipídeo-proteína dos axônios (ver Seção V.B. para uma descrição da composição e síntese da bainha de mielina). Os oligodendrócitos podem formar a bainha de mielina ao redor de múltiplos neurônios no SNC enviando processos que ligam os axônios sobre os neurônios-alvo. A velocidade com que o neurônio conduz seu sinal elétrico (potencial de ação) é diretamente proporcional ao grau de mielinização. Os oligodendrócitos, juntamente com os astrócitos, formam uma matriz de sustentação para os neurônios. Os oligodendrócitos têm uma capacidade limitada para a mitose e, quando danificados, não se replicam. Se isso ocorrer, a desmielinização do axônio pode acontecer, resultando em anormalidades na condução de sinais ao longo desse axônio (ver Comentários Bioquímicos).

3. CÉLULAS DE SCHWANN



Os axônios periféricos podem se regenerar se as células de Schwann estiverem disponíveis para guiar o crescimento do axônio. Existe uma interação sinérgica entre o axônio, as células de Schwann e os fatores de crescimento secretados, o que permite ao axônio reconectar-se ao seu alvo apropriado.

As células de Schwann fornecem sustentação para as células do SNP. De maneira semelhante aos oligodendrócitos, as células de Schwann formam a bainha de mielina ao redor do axônio, mas, diferentemente dos oligodendrócitos, elas mielinizam somente um axônio. As células de Schwann também removem os detritos celulares no SNP.

4. CÉLULAS MICROGLIAIS

Essas células são os menores tipos de células gliais no sistema nervoso. Elas servem como células imunologicamente responsivas com ação similar aos macrófagos na circulação. As células microgliais destroem microrganismos invasores e fagocitam detritos celulares.

5. CÉLULAS EPENDIMÁRIAS



Por muitos anos acreditou-se que os neurônios do SNC não poderiam se regenerar; por essa razão, pensou-se que não havia célula-tronco pluripotente no SNC (célula que pode se diferenciar em vários tipos celulares no SNC). Entretanto, dados recentes sugerem que as células encontradas dentro da camada ependimária podem atuar como células-tronco neurais, as quais, sob condições apropriadas de estimulação, podem regenerar neurônios. Tais achados abrem muitas possibilidades de tratamento em potencial para doenças que alteram a função da célula neuronal.

As células ependimárias são células ciliadas que revestem as cavidades (ventrículos) do SNC e da medula espinal. Em algumas áreas do cérebro, as células ependimárias são funcionalmente especializadas em elaborar e secretar o fluido cerebrospinal (CSF, do inglês *cerebrospinal fluid*) para dentro do sistema ventricular. O movimento dos cílios nas células ependimárias permite uma circulação eficiente do CSF por todo o SNC. O CSF age como um amortecedor de choque que protege o SNC de traumas mecânicos e como um sistema para a remoção de resíduos metabólicos. O CSF pode ser aspirado pelo canal espinal e analisado para determinar, por meio das mudanças características do CSF, se desordens de função do SNC estão presentes.

II. BARREIRA HEMATENCEFÁLICA

A. Estrutura dos Capilares

Nos leitos capilares de muitos órgãos ocorre uma rápida passagem de moléculas pela parede endotelial dos capilares do sangue para dentro do fluido intersticial. Portanto, a composição do fluido intersticial é similar àquela encontrada no sangue, e receptores ou transportadores específicos da membrana plasmática das células banhadas pelo fluido intersticial podem interagir diretamente com aminoácidos, hormônios ou outros compostos do sangue. No cérebro, o movimento transcapilar dos substratos na circulação periférica para dentro do cérebro é altamente restrito pela barreira hematencefálica. Essa barreira limita a acessibilidade de toxinas provenientes do sangue e outros compostos potencialmente prejudiciais aos neurônios do SNC.

A barreira hematencefálica começa com as células endoteliais que formam a superfície interna dos vasos que levam o sangue para o SNC (Figura 48.2). Diferentemente das células endoteliais de outros órgãos, essas células são unidas por junções de oclusão que não permitem o movimento de moléculas polares do sangue para dentro do fluido intersticial que banha os neurônios. Elas também não possuem os mecanismos de transporte transendotelial que estão presentes em outros capilares do corpo, como fenestração ("janelas" ou poros que se estendem sobre a camada endotelial e permitem o movimento rápido de moléculas através das membranas) ou transpinocitose (transporte vesicular de um lado para o outro da célula endotelial).

As células endoteliais servem para proteger o cérebro tanto de forma ativa como passiva. Devido ao fato de essas células possuírem uma variedade de sistemas enzimáticos capazes de metabolizar fármacos, similares àqueles encontrados no fígado, elas podem metabolizar neurotransmissores e compostos tóxicos e, portanto, formar uma barreira enzimática que impede a entrada dessas substâncias potencialmente tóxicas para dentro do cérebro. Elas bombeiam ativamente moléculas hidrofóbicas que se difundem para dentro das células endoteliais de volta para o sangue (especialmente xenobióticos) com P-glicoproteínas, que agem como bombas de efluxo transmembrânicas dependentes de ATP. Embora substâncias lipofílicas, água, oxigênio e dióxido de carbono possam atravessar prontamente a barreira hematencefálica por difusão passiva, outras moléculas dependem de sistemas de transporte específico. Diferentes transportadores das membranas endoteliais luminal e abluminal podem transportar compostos para dentro ou para fora do cérebro.

Além disso, a proteção contra a entrada livre de compostos vindos do sangue para o SNC é fornecida por uma membrana basal contínua contendo colágeno que circunda completamente os capilares. A membrana basal parece estar envolvida pelos prolongamentos dos astrócitos. Portanto, os compostos devem atravessar as membranas endoteliais, a barreira enzimática das células endoteliais, a membrana basal e, possivelmente, as barreiras celulares adicionais formadas pelos astrócitos para alcançarem os neurônios no cérebro.

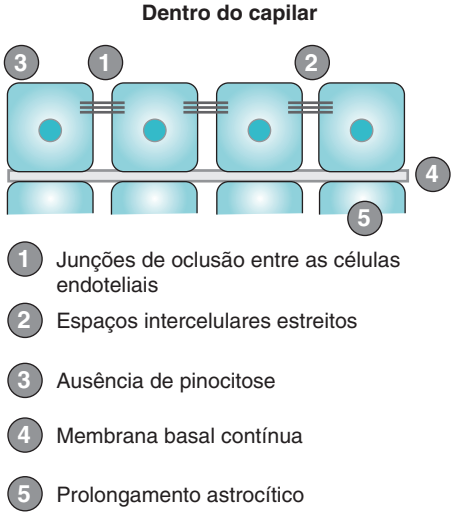


Figura 48.2 Barreira hematencefálica. Os compostos no sangue não podem passar livremente para dentro do cérebro. Para ter acesso ao cérebro, esses compostos devem atravessar as células endoteliais, as membranas e os astrócitos por meio de carreadores específicos. As moléculas muito lipofílicas podem atravessar todas essas membranas na ausência de um carreador.

B. Transporte através da Barreira Hematencefálica

Muitas substâncias não-polares, como fármacos e gases inertes, difundem-se através das membranas das células endoteliais. Um grande número de compostos é transportado através dos capilares endoteliais por transporte facilitado, enquanto outros não podem atravessar a barreira hematencefálica, como os ácidos graxos não-essenciais. No entanto, os ácidos graxos essenciais são transportados pela barreira hematencefálica.

1. SUBSTRATOS ENERGÉTICOS

A glicose, o principal substrato energético do cérebro, é transportada através de ambas as membranas endoteliais por difusão facilitada via transportador GLUT 1 (ver Figura 27.4). O transportador GLUT 3, presente nos neurônios, permite o transporte de glicose do neurônio para o ECF. As células gliais expressam os transportadores GLUT 1. Embora a velocidade de transporte de glicose para o ECF normalmente exceda a velocidade requerida para o metabolismo energético cerebral, o transporte de glicose pode tornar-se limitante, quando os níveis de glicose sangüínea caem abaixo do limite normal. Portanto, os indivíduos iniciam a experiência dos sintomas hipoglicêmicos quando os níveis de glicose sangüínea atingem cerca de 60 mg/dL, quando os níveis de glicose são reduzidos para valores de K_m, ou abaixo desse, do transportador GLUT 1 nas células endoteliais da barreira.

Os ácidos monocarboxílicos (lactato, acetato, piruvato e os corpos cetônicos acetoacetato e β-hidroxibutirato) são transportados por um sistema estereoespecífico distinto que é mais lento do que o sistema de transporte de glicose. Durante o jejum prolongado, quando os níveis de corpos cetônicos estão elevados, esse transportador sofre *upregulation*. Os corpos cetônicos são substratos energéticos importantes durante o jejum prolongado (maior do que 48 horas) tanto para cérebro de adultos quanto para o de recém-nascidos.



Um grande número de distúrbios no transporte de glicose através da barreira hematencefálica é conhecido. O distúrbio mais comum é a síndrome da deficiência da proteína de transporte facilitado de glicose tipo 1 (GLUT 1). Nesse distúrbio, os transportadores GLUT 1 estão deficientes, resultando em concentrações baixas de glicose no CSF (uma condição conhecida como hipoglicorraquia). A indicação diagnóstica desse distúrbio é a relação entre os níveis de glicose no líquor e os níveis de glicose no sangue ser menor do que 0,4. As características clínicas são variáveis, mas incluem convulsões, retardo no desenvolvimento e alteração motora complexa. Esses sintomas resultam dos níveis inadequados de glicose no cérebro. A doença pode ser tratada com uma dieta cetogênica (rica em lipídeos e pobre em carboidratos). Isso fará com que o paciente produza corpos cetônicos que são facilmente transportados para o SNC e podem poupar o cérebro do requerimento de glicose como fonte de energia.

Os achados mostrando que existe um transportador comum para o transporte de aminoácidos neutros de cadeia longa (LNAA) na barreira hematencefálica sugerem que, se houver um aminoácido em excesso, ele pode, por inibição competitiva, levar à diminuição do transporte de outros aminoácidos. Isso sugere que o retardo mental característico de pacientes com PKU (fenilcetonúria) e doença do xarope de bordo, não-tratados (ver Capítulo 39), pode ser atribuído aos níveis plasmáticos elevados de fenilalanina ou de aminoácidos de cadeia ramificada. A concentração elevada desses aminoácidos satura o transportador LNAA de tal forma que níveis excessivos prejudiciais do aminoácido entram no SNC. O tratamento de pacientes com PKU com altas doses de LNAA sem fenilalanina, resultando na diminuição dos níveis de fenilalanina no CSF e no cérebro, com uma melhora da função cognitiva desses pacientes, confirma essa teoria.

2. AMINOÁCIDOS E VITAMINAS

Os aminoácidos neutros de cadeia longa (LNAA, do inglês *large neural amino acids*, como fenilalanina, leucina, tirosina, isoleucina, valina, triptofano, metionina e histidina) entram rapidamente no CSF por um transportador de aminoácidos único (sistema L [leucina-preferencial] de transporte de aminoácidos). Muitos desses aminoácidos são essenciais na dieta e devem ser captados para a síntese protéica ou como precursores de neurotransmissores. Como o sistema de transporte é único, os aminoácidos competem entre si pela entrada no cérebro.

A entrada de aminoácidos neutros de cadeia pequena, como alanina, glicina, prolina e γ-aminobutirato (GABA), é marcadamente restrita, pois seu influxo poderia mudar dramaticamente o conteúdo de neurotransmissores (ver Seção III). Eles são sintetizados no cérebro, e alguns são transportados do SNC para o sangue pelo sistema transportador-A (alanina-preferencial). Assim como na maioria dos tecidos, as vitaminas têm transportadores específicos na barreira hematencefálica.

3. TRANSCITOSE MEDIADA POR RECEPTOR

Certas proteínas, como insulina, transferrina e fatores de crescimento tipo-insulina 1, atravessam a barreira hematencefálica por transcitose mediada por receptor. Após a proteína ligar-se ao seu receptor de membrana, a membrana contendo o complexo proteína-receptor sofre endocitose para dentro da célula endotelial e forma uma vesícula, a qual é liberada do outro lado da célula endotelial. Também pode ocorrer a transcitose mediada por absorção. Ela difere da transcitose mediada por receptor, pois nesse caso a proteína liga-se de forma não-específica à membrana e não ao receptor.

III. SÍNTESE DE NEUROTRANSMISSORES PEQUENOS NITROGENADOS

As moléculas neurotransmissoras são divididas em duas categorias básicas estruturais: (1) moléculas pequenas contendo nitrogênio e (2) neuropeptídeos. As principais moléculas neurotransmissoras pequenas contendo nitrogênio incluem glutamato, ácido γ-aminobutírico (GABA), glicina, acetilcolina, dopamina, noradrenalina, serotonina e histamina. Adicionalmente, adrenalina, aspartato e NO também podem ser incluídos nessa categoria. Em geral, cada neurônio sintetiza somente os neurotransmissores que serão usados para a transmissão através de uma sinapse ou para outra célula. Os tratos neuronais com freqüência são identificados por seus neurotransmissores; por exemplo, um trato dopaminérgico sintetiza e libera o neurotransmissor dopamina.

Neuropeptídeos são em geral pequenos peptídeos sintetizados e processados no SNC. Alguns desses peptídeos têm alvos no SNC (como as endorfinas, que se ligam a receptores opióides e bloqueiam a sinalização da dor), enquanto outros são liberados na circulação para ligarem-se aos receptores em outros órgãos (como hormônio do crescimento e hormônio estimulante da tireóide). Muitos neuropeptídeos são sintetizados como um precursor maior que, então, é clivado para produzir o peptídeo ativo. Até recentemente, havia uma hipótese de que um neurônio apenas sintetizava e liberava um único neurotransmissor. Evidências mais atuais sugerem que um neurônio pode conter (1) mais de uma molécula neurotransmissora pequena, (2) mais de um neurotransmissor neuropeptídeo ou (3) os dois tipos de neurotransmissores. A liberação diferenciada dos vários neurotransmissores resulta de o neurônio alterar sua freqüência e seu padrão de disparo.

A. Características Gerais da Síntese de Neurotransmissores

Várias características são comuns à síntese, à secreção e ao metabolismo de neurotransmissores pequenos contendo nitrogênio (Tabela 48.1). A maioria desses neurotransmissores é sintetizada a partir de aminoácidos, intermediários da glicólise e do ciclo do TCA, e O_2 no citoplasma do terminal pré-sináptico. A velocidade de síntese em geral é regulada para corresponder à velocidade de disparo do neurônio. Depois

Tabela 48.1 Características Comuns dos Neurotransmissores[a]

- A síntese a partir de aminoácidos e precursores metabólicos comuns em geral ocorre no citoplasma do terminal nervoso pré-sináptico. As enzimas de síntese são transportadas do corpo celular, onde são sintetizadas, para o terminal pré-sináptico pelo transporte axonal rápido.
- A síntese do neurotransmissor é regulada para corresponder à velocidade de disparo do neurônio, tanto de forma acentuada quanto pelo aumento de longo prazo da transmissão sináptica.
- O neurotransmissor é ativamente captado pelas vesículas de armazenamento no terminal pré-sináptico.
- O neurotransmissor age no receptor localizado na membrana pós-sináptica.
- A ação do neurotransmissor é finalizada pela recaptação para o terminal pré-sináptico, a difusão para fora da sinapse ou a inativação enzimática. A inativação enzimática pode ocorrer nos terminais pós ou pré-sináptico, ou em astrócitos adjacentes ou em células microgliais.
- A barreira hematencefálica afeta o suprimento de precursores para a síntese de neurotransmissores.

[a] Nem todos os neurotransmissores exibem todas essas características. O óxido nítrico é uma exceção para a maioria dessas generalizações. Alguns neurotransmissores (adrenalina, serotonina e histamina) também são secretados por outras células além dos neurônios. A síntese e a secreção desses neurotransmissores por células não-neuronais seguem outros princípios.

de sintetizados, os neurotransmissores são transportados para dentro das vesículas de armazenamento por uma bomba dependente de ATP ligada ao gradiente de próton. A liberação da vesícula é provocada pelo impulso nervoso que despolariza a membrana pós-sináptica e causa o influxo de Ca^{2+} através dos canais de cálcio dependentes de voltagem. O influxo de cálcio promove a fusão das vesículas com a membrana plasmática e libera o neurotransmissor dentro da fenda sináptica. A transmissão através da sinapse é finalizada pela ligação do neurotransmissor ao receptor na membrana pós-sináptica (Figura 48.3).

A ação do neurotransmissor é finalizada mediante a recaptação pelo terminal pré-sináptico, captação pela glia, difusão para fora da sinapse ou inativação enzimática. A inativação enzimática pode ocorrer nos terminais pós-sináptico ou pré-sináptico, ou próxima à célula microglial astrocítica, ou em células endoteliais nos capilares cerebrais.

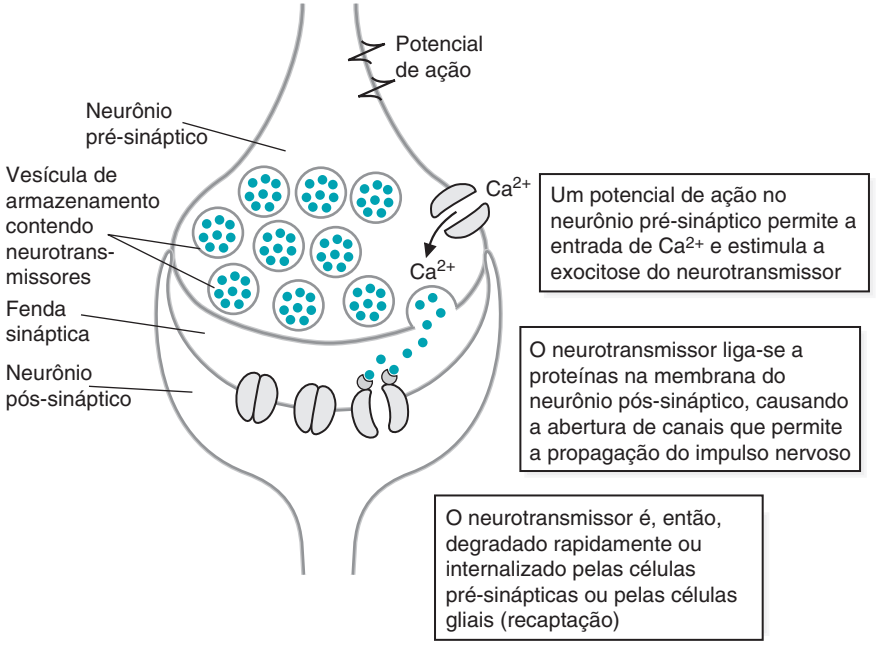


Figura 48.3 Ação de neurotransmissores.

Foram desenvolvidos fármacos que bloqueiam a captação de neurotransmissores para dentro das vesículas de armazenamento. A reserpina que bloqueia a captação de catecolaminas para dentro das vesículas tem sido usada como fármaco anti-hipertensivo e antiepilético, mas observou-se que alguns poucos pacientes que usaram esse fármaco tornaram-se depressivos e mesmo suicidas. Os animais tratados com reserpina mostraram sinais de letargia e falta de apetite, similar à depressão em humanos. Assim, encontrou-se uma ligação entre a liberação de monoamina e a depressão em seres humanos.

Nem todos os neurotransmissores apresentam todas essas características. O óxido nítrico, por ser um gás, é uma exceção à maioria dessas generalidades. Alguns neurotransmissores são sintetizados e secretados tanto por neurônios quanto por outras células (p. ex., adrenalina, serotonina e histamina).

B. Dopamina, Noradrenalina e Adrenalina

1. SÍNTESE DOS NEUROTRANSMISSORES CATECOLAMINÉRGICOS

Esses três neurotransmissores são sintetizados por uma via comum a partir do aminoácido L-tirosina. A tirosina é suprida pela dieta ou sintetizada no fígado a partir do aminoácido essencial fenilalanina pela fenilalanina-hidroxilase (ver Capítulo 39). A via de biossíntese de catecolamina é mostrada na Figura 48.4.

O primeiro passo e etapa limitante da velocidade da síntese desses neurotransmissores a partir da tirosina é a hidroxilação do anel da tirosina pela tirosina-hidroxilase, uma enzima que requer tetraidrobiopterina (BH_4). O produto formado é a diidroxifenilalanina ou DOPA. O anel fenil com dois grupos OH é um catecol, e por isso dopamina, noradrenalina e adrenalina são chamadas de catecolaminas.

O segundo passo na síntese de catecolamina é a descarboxilação da DOPA para formar dopamina. Essa reação requer piridoxal-fosfato, assim como muitas reações de descarboxilação dos aminoácidos. Os neurônios dopaminérgicos (neurônios que usam dopamina como neurotransmissor) finalizam a síntese nesse ponto, já que esses neurônios não sintetizam as enzimas necessárias para os passos seguintes.

Os neurônios que secretam noradrenalina a sintetizam a partir da dopamina por uma reação de hidroxilação catalisada pela dopamina-β-hidroxilase (DBH). Essa enzima está presente somente dentro das vesículas de armazenamento dessas células. Assim como a tirosina-hidroxilase, ela é uma oxidase de função mista que requer um doador de elétron. O ácido ascórbico (vitamina C) serve como o doador de elétron e é oxidado na reação. O cobre (Cu^{2+}) é requerido como co-fator ligado para a transferência de elétron.

Embora a medula adrenal seja o principal local de síntese de adrenalina, essa catecolamina também é sintetizada nos poucos neurônios que usam a adrenalina como neurotransmissor. Esses neurônios contêm a via anterior para a síntese de noradrenalina e, além disso, contêm a enzima que transfere um grupo metila do SAM para a noradrenalina para formar a adrenalina. Portanto, a síntese de adrenalina é dependente da presença de níveis adequados de B12 e folato (ver Capítulo 40).

2. ARMAZENAMENTO E LIBERAÇÃO DE CATECOLAMINAS

Normalmente, somente baixas concentrações de catecolaminas estão livres no citosol, enquanto altas concentrações são encontradas dentro das vesículas de armazenamento. A conversão de tirosina em L-DOPA e dessa em dopamina ocorre no citosol. A dopamina é, então, levada para dentro das vesículas de armazenamento. Em neurônios contendo noradrenalina, a reação final de β-hidroxilação ocorre dentro das vesículas.

As catecolaminas são transportadas para dentro das vesículas pela proteína VMAT2 (transportador de membrana vesicular 2, do inglês *vesicular monoamine transporter 2*) (Figura 48.5). Os transportadores vesiculares contêm 12 domínios transmembrana e são homólogos a uma família de transportadores bacterianos de resistência a fármacos, incluindo a P-glicoproteína. O mecanismo que concentra as catecolaminas nas vesículas de armazenamento é um processo dependente de ATP ligado a uma bomba de próton (transporte ativo secundário). Os prótons são bombeados para dentro da vesícula por uma ATPase vesicular (v-ATPase). Os prótons são, então, trocados pela catecolamina carregada positivamente pelo transportador VMAT2. O influxo de catecolaminas é, então, dirigido por um gradiente de H^+ através da membrana. A concentração intravesicular de catecolaminas é de aproximadamente 0,5 M, cerca de 100 vezes a concentração citosólica. Nas vesículas, as catecolaminas existem em um complexo com ATP e proteínas com caráter ácido conhecidas como cromograninas.



As cromograninas são requeridas para a biogênese da vesícula secretora. Quando liberadas da vesícula, as cromograninas podem ser proteoliticamente clivadas para formar peptídeos bioativos. Níveis elevados de cromogranina na circulação podem ser encontrados em pacientes portadores de tumores neuroendócrinos, como feocromocitoma.

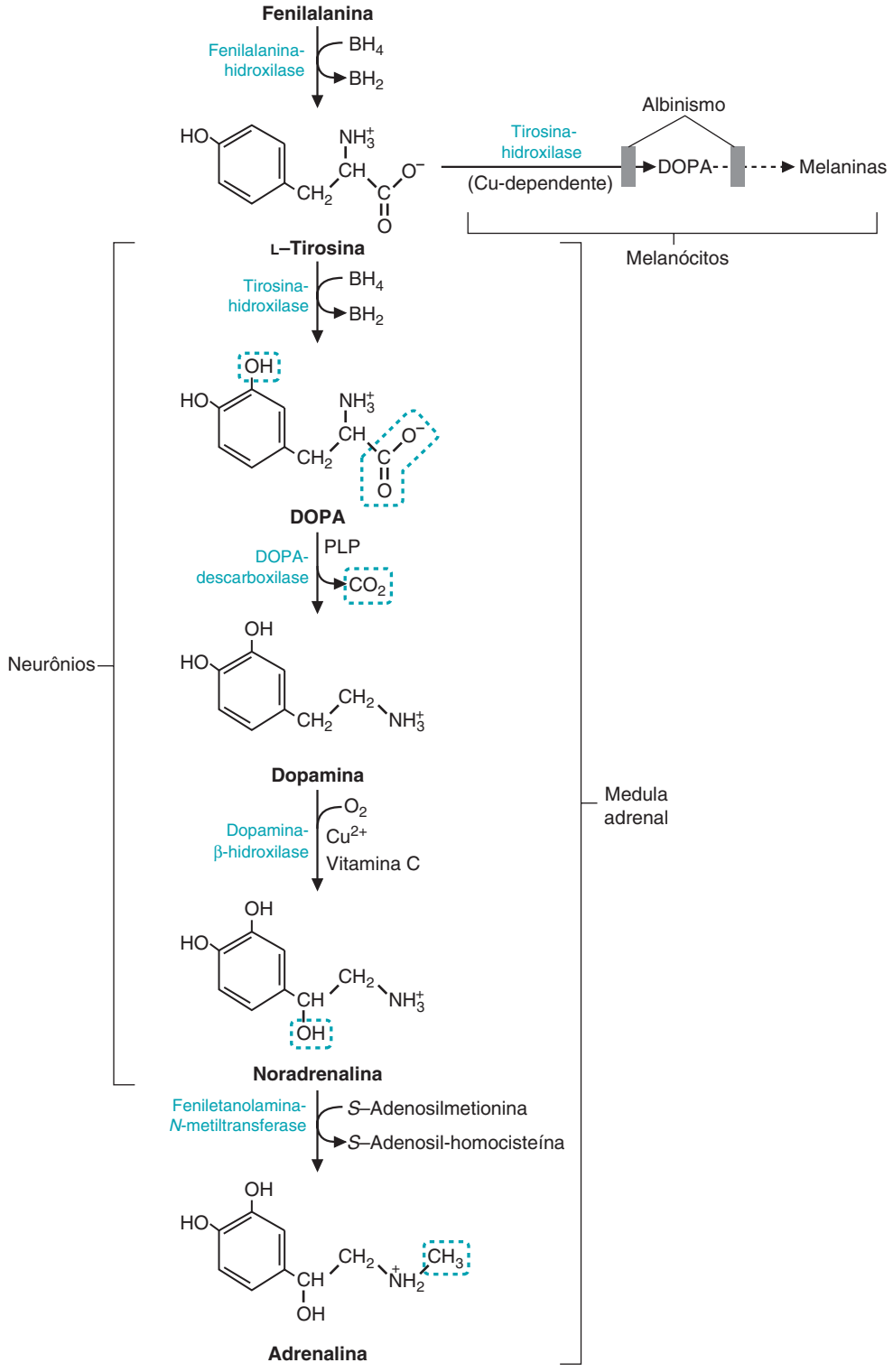


Figura 48.4 Vias de biossíntese de catecolaminas e melatonina. PLP = piridoxal-fosfato. BH_4 = tetraidrobiopterina. As caixas sombreadas indicam as enzimas que, quando deficientes, causam o albinismo.

No albinismo, tanto a tirosina-hidroxilase dependente de cobre dos melanócitos (a qual é distinta da tirosina-hidroxilase encontrada na medula adrenal) quanto outras enzimas que convertem a tirosina em melanina podem estar defeituosas. Os indivíduos com albinismo não apresentam pigmento na pele, no cabelo e nos olhos e são sensíveis à luz solar.

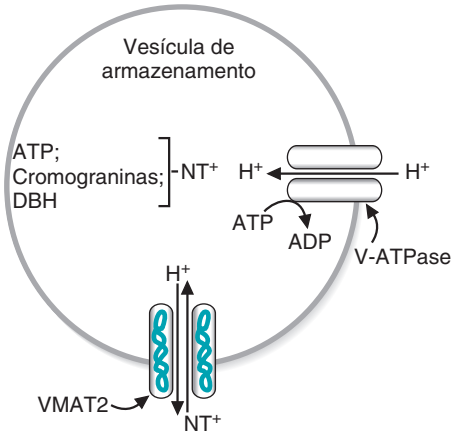
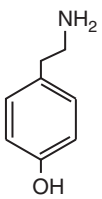


Figura 48.5 Transporte de catecolaminas para dentro das vesículas de armazenamento. Esse é um tipo de transporte ativo secundário com base na geração de um gradiente de prótons através da membrana vesicular. NT^+ = neurotransmissor carregado positivamente (catecolamina); DBH = dopamina-β-hidroxilase; VMAT2 = transportador de membrana vesicular 2; V-ATPase = ATPase vesicular.

A tiramina é um produto da degradação da tirosina. Altas concentrações de tiramina podem provocar dores de cabeça, palpitações, náusea e vômito e elevação da pressão arterial. A tiramina mimetiza a noradrenalina e liga-se aos receptores de noradrenalina, estimulando-os. A tiramina é inativada pela MAO-A; contudo, se uma pessoa está sendo medicada com um inibidor da MAO, ela deve evitar alimentos contendo tiramina.



Tiramina

As vesículas têm um papel duplo; elas mantêm um pronto suprimento de catecolaminas nos terminais nervosos que está disponível para a liberação imediata. Quando um potencial de ação alcança o terminal nervoso, os canais de Ca^{2+} abrem-se, permitindo o influxo de Ca^{2+}, que promove a fusão das vesículas com a membrana neuronal. As vesículas, então, descarregam seus conteúdos solúveis, incluindo neurotransmissores, ATP, cromograninas e DBH dentro do espaço extraneuronal por um processo de exocitose. Em alguns casos, as catecolaminas afetam outros neurônios. Algumas vezes, elas circulam no sangue e iniciam respostas nos tecidos periféricos.

3. INATIVAÇÃO E DEGRADAÇÃO DE NEUROTRANSMISSORES CATECOLAMINÉRGICOS

A ação de catecolaminas é finalizada pela sua recaptação pelos terminais pré-sinápticos e difusão para fora das sinapses. As enzimas degradativas estão presentes no terminal pré-sináptico e em células adjacentes, incluindo as células gliais e as células endoteliais.

Duas das principais reações no processo de inativação e degradação das catecolaminas são catalisadas pela monoamina-oxidase (MAO) e a catecol-O-metiltransferase (COMT). A MAO está presente na membrana mitocondrial externa de muitas células e oxida o carbono que contém o grupo amino a um aldeído, liberando o íon amônio (Figura 48.6). No terminal pré-sináptico, a MAO inativa as catecolaminas que não estão protegidas nas vesículas sinápticas. (Portanto, fármacos que esvaziam as vesículas de armazenamento indiretamente aumentam a degradação de catecolaminas.) Existem duas isoformas da MAO com diferentes especificidades de ação: a MAO-A desamina preferencialmente a noradrenalina e a serotonina, enquanto a MAO-B age em um amplo espectro de feniletilaminas (o feniletil refere-se a um grupo $–CH_2-$ ligado ao anel fenil). No fígado e em outros sítios, a MAO protege contra a ingestão das aminas biogênicas da dieta, como a tiramina encontrada em muitos queijos.

A COMT também é encontrada em muitas células, incluindo o eritrócito. Ela atua sobre um amplo espectro de catecóis extraneuronais, bem como sobre os que foram difundidos para fora das sinapses. A COMT transfere um grupo metila da SAM para um grupo hidroxila na catecolamina ou em seus produtos de degradação (ver Figura 48.6). Devido ao fato de a reação de inativação requerer SAM, ela é indiretamente dependente das vitaminas B12 e folato. A ação da MAO e da COMT pode ocorrer em qualquer seqüência, resultando em um grande número de intermediários e produtos de degradação, muitos dos quais aparecem na urina. A presença do ácido homovanilmandélico (HVA) no fluido cerebrospinal é um indicador da degradação da dopamina, sendo que sua concentração nesse fluido está diminuída no cérebro de pacientes com a doença de Parkinson.

O médico de **Katie Colamin** solicitou a medida de níveis plasmáticos de catecolaminas (adrenalina, noradrenalina e dopamina). A urina de Katie também foi coletada por 24 horas para a determinação das catecolaminas e de seus produtos de degradação. Todos esses exames mostraram elevações inequívocas desses compostos no sangue e na urina de Katie. Katie foi medicada com fenoxibenzamina, um antagonista do receptor α_1 e α_2 adrenérgico que bloqueia o efeito farmacológico de catecolaminas elevadas nesses receptores. Após descartar evidências que sugerem doença metastática no fígado ou em outros órgãos (nesse caso, o tumor de Katie era maligno), o médico encaminhou Katie para um cirurgião com vasta experiência em cirurgia de adrenal.

As catecolaminas exercem seus efeitos fisiológicos e farmacológicos circulando na corrente sangüínea até as células-alvo cujas membranas plasmáticas contêm receptores para as catecolaminas. Essa interação inicia uma cascata bioquímica que provoca respostas específicas para diferentes tipos de células. Os pacientes como **Katie Colamin** sentem palpitações, sudorese excessiva, dor de cabeça hipertensiva e uma série de outros sintomas quando o tumor de medula adrenal produtor de catecolaminas rapidamente secreta quantidades suprafisiológicas de adrenalina ou noradrenalina para o sangue venoso que drena o neoplasma.

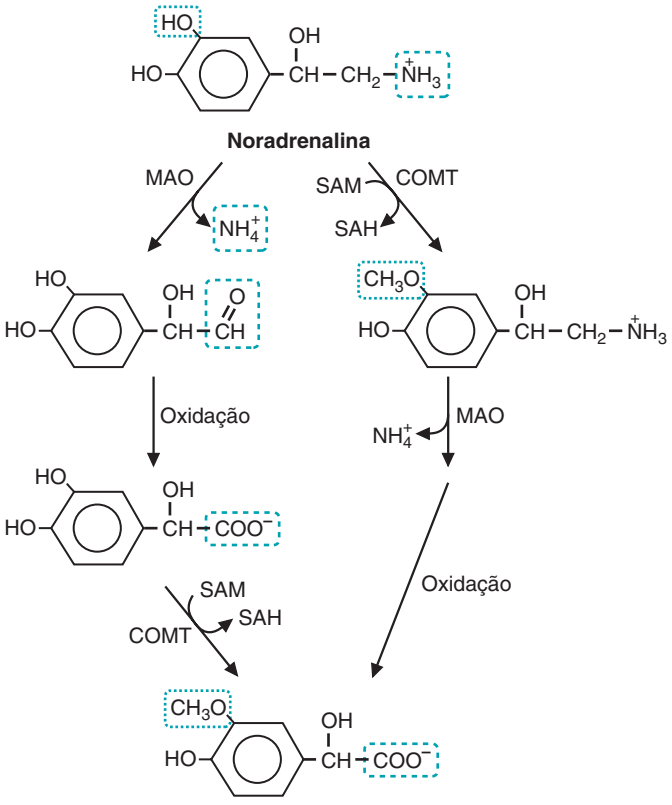


Figura 48.6 Inativação de catecolaminas. A metilação e a oxidação podem ocorrer em qualquer seqüência. Derivados metilados e oxidados de noradrenalina e adrenalina são produzidos, e o ácido 3-metóxi-4-hidroximandélico é o produto final. Esses compostos são excretados na urina. MAO = monoamina-oxidase; COMT = catecol-O-metiltransferase; SAM = S-adenosilmetionina; SAH = S-adenosil-homocisteína.

4. REGULAÇÃO DA TIROSINA-HIDROXILASE

Mecanismos regulatórios eficientes coordenam a síntese de neurotransmissores catecolaminérgicos com a velocidade do disparo. A tirosina-hidroxilase, o primeiro passo e a enzima limitante da velocidade da via, é regulada por meio de inibição por *feedback,* que é coordenada com a despolarização do terminal nervoso. A tirosina-hidroxilase é inibida pelas catecolaminas citosólicas livres que competem no sítio de ligação da enzima pelo co-fator pterina (tetraidrobiopterina, BH_4; ver Capítulo 39).

A despolarização do terminal nervoso ativa a tirosina-hidroxilase. A despolarização também ativa várias proteína-quinases (incluindo a proteína-quinase C, a proteína-quinase A [proteína-quinase dependente de AMPc] e as CAM-quinases [quinases dependentes de Ca^{2+}-calmodulina]) que fosforilam a tirosina-hidroxilase. Esse passo de ativação resulta em uma ligação mais forte entre a enzima e o BH_4, e isso torna a enzima menos sensível à inibição pelo produto final.

Além desses processos regulatórios de curta duração, há um processo de longa duração envolvendo alterações nas quantidades de tirosina-hidroxilase e de dopamina-β-hidroxilase presentes nos terminais nervosos. Quando a atividade neuronal simpática é aumentada por um longo período, as quantidades de mRNA que codificam a tirosina-hidroxilase e a dopamina-β-hidroxilase aumentam na pericária neuronal (o corpo celular do neurônio). O aumento na transcrição gênica pode ser o resultado da fosforilação da CREB (proteína do elemento de ligação responsivo a AMPc, do inglês *cAMP response element binding protein*; ver Capítulo 26) pela proteína-quinase A ou

Além das catecolaminas, a serotonina também é inativada pela monoamina-oxidase. A ação de um número de fármacos antipsicóticos está fundamentada na inibição da MAO. A primeira geração de fármacos foi de inibidores irreversíveis das formas A e B da MAO (exemplificada pela iproniazida, a qual foi originalmente desenvolvida como um fármaco antituberculose e induziu alterações de humor em pacientes). Embora levando a uma redução na gravidade da depressão (pela manutenção de altos níveis de serotonina), esses fármacos estão sujeitos ao efeito "queijo". Queijo e outros alimentos que são processados por longos períodos (como o vinho tinto) contêm tiramina. Em geral a tiramina é inativada pela MAO-A; mas, se um indivíduo está tomando um inibidor da MAO, os níveis de tiramina aumentarão. A tiramina induz a liberação de noradrenalina da vesícula de armazenamento, o que leva a episódios hipertensivos potencialmente fatais. Quando foi constatado que a MAO existe em duas formas, desenvolveram-se inibidores irreversíveis seletivos como, por exemplo, a clorgilina para a MAO-A e o deprenil para a MAO-B. O deprenil foi usado para o tratamento da doença de Parkinson (a qual é causada por uma falta de dopamina que também é inativada pela MAO). O deprenil, entretanto, não é um antidepressivo. A clorgilina é um antidepressivo, mas está sujeita ao efeito "queijo". Isso levou ao desenvolvimento da terceira geração de inibidores da MAO, os quais são inibidores reversíveis da enzima, como exemplificado pela moclobemida. A moclobemida é um inibidor reversível específico da MAO-A e é efetiva como antidepressivo. De forma mais importante, devido à natureza reversível do fármaco, o efeito "queijo" não é observado, pois conforme os níveis de tiramina aumentam, eles deslocam o fármaco da MAO, e a tiramina é inativada com segurança.

por outras proteína-quinases. A CREB, então, liga-se ao CRE (elemento responsivo a AMPc, do inglês *cAMP response element*) na região promotora do gene (de forma similar ao mecanismo para a indução das enzimas gliconeogenéticas no fígado). As moléculas das enzimas recém-sintetizadas são, então, transportadas pelo axônio para os terminais nervosos. A concentração de dopamina-descarboxilase no terminal parece não mudar em resposta à atividade neuronal.

C. Metabolismo da Serotonina

A via para a síntese de serotonina a partir do triptofano é muito similar à via para a síntese de noradrenalina a partir da tirosina (Figura 48.7). A triptofano-hidroxilase, a primeira enzima da via, usa um mecanismo enzimático similar àquele da tirosina e fenilalanina-hidroxilase e requer BH_4 para hidroxilar a estrutura de anel do triptofano. O segundo passo da via é uma reação de descarboxilação catalisada pela mesma enzima

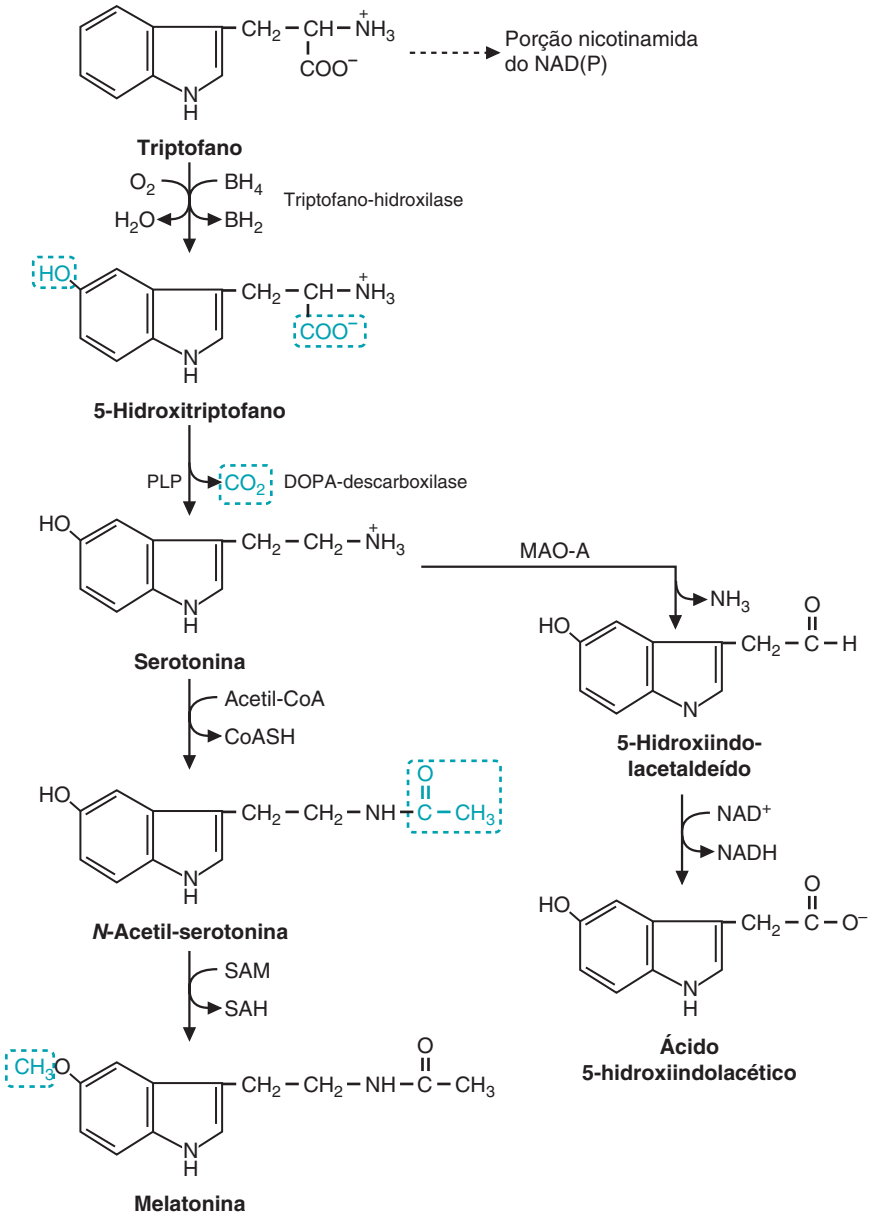


Figura 48.7 Síntese e inativação de serotonina.

que descarboxila a DOPA. Da mesma forma que os neurotransmissores catecolaminérgicos, a serotonina pode ser inativada pela MAO.

O neurotransmissor melatonina também é sintetizado a partir do triptofano (ver Figura 48.7). A melatonina é produzida pela glândula pineal em resposta ao ciclo claro-escuro, e seus níveis aumentam no sangue em um ambiente escuro. A glândula pineal provavelmente transmite a informação sobre os ciclos claro-escuro para o corpo através da melatonina, organizando o ritmo sazonal e o circadiano. A melatonina também pode estar envolvida na regulação das funções reprodutivas.

D. O metabolismo da Histamina

Dentro do cérebro, a histamina é produzida tanto pelos mastócitos quanto por algumas fibras neuronais. Os mastócitos são uma família de células secretoras derivadas da medula óssea que armazenam e liberam altas concentrações de histamina. Elas são prevalentes no tálamo, no hipotálamo, na *dura mater*, nas leptomeninges e no plexo coróide. Em seres humanos, os corpos celulares dos neurônios histaminérgicos são encontrados no núcleo tuberomamilar do hipotálamo basal posterior. As fibras projetam-se para dentro de quase todas as áreas do SNC, incluindo o córtex cerebral, o tronco cerebral e a medula espinal.

A histamina é sintetizada a partir da histidina em um passo enzimático único. A enzima histidina-descarboxilase requer piridoxal-fosfato, e seu mecanismo é muito similar àquele da DOPA-descarboxilase (Figura 48.8).

Da mesma forma que outros neurotransmissores, a histidina neuronal recém-sintetizada é armazenada dentro da vesícula do terminal nervoso. A despolarização dos terminais nervosos ativa a liberação exocítica de histamina por mecanismo voltagem-dependente, bem como cálcio-dependente.

Uma vez liberada dos neurônios, acredita-se que a histamina ative receptores pré-sinápticos e pós-sinápticos. Diferentemente de outros neurotransmissores, a histamina parece não ser reciclada dentro do terminal pré-sináptico em quantidade significativa. Entretanto, os astrócitos têm um sistema de captação específico de alta afinidade para histamina e podem ser o principal local de inativação e de degradação dessa monoamina.

O primeiro passo na inativação da histamina no cérebro é a metilação (ver Figura 48.8). A enzima histamina-metiltransferase transfere um grupo metila da SAM a um nitrogênio do anel da histamina para formar metil-histamina. O segundo passo é a oxidação pela MAO-B, seguido por um passo adicional de oxidação. Nos tecidos periféricos, a histamina sofre desaminação pela diamina-oxidase, seguida pela oxidação a um ácido carboxílico (ver Figura 48.8).

E. Acetilcolina

1. SÍNTESE

A síntese de acetilcolina a partir da acetil-CoA e colina é catalisada pela enzima acetilcolinesterase (ChAT, do inglês *choline acetyltransferase*) (Figura 48.9). Esse passo sintético ocorre no terminal pré-sináptico. O composto é armazenado na vesícula e mais tarde liberado por exocitose mediada por cálcio. A colina é captada pelo terminal pré-sináptico a partir do sangue via um sistema de transporte de baixa afinidade (alto K_m) e da fenda sináptica via um mecanismo de transporte de alta afinidade (baixo K_m). Ela também é derivada da hidrólise da fosfatidilcolina (e possivelmente esfingomielina) nos lipídeos de membrana. Portanto, os lipídeos de membrana podem formar um local de armazenamento para a colina, e sua hidrólise, com a subseqüente liberação de colina, é altamente regulada.



Acredita-se que o requerimento de vitamina B12 para a síntese de colina contribua para os sintomas neurológicos da deficiência de vitamina B12. Os grupos metila para a síntese de colina são doados pela SAM, a qual é convertida em S-adenosil-homocisteína na reação. Lembre-se que a formação de SAM pela reciclagem de homocisteína requer folato e vitamina B12 (a menos que uma grande quantidade de metionina esteja disponível para desviar do passo da metionina-sintase dependente de B12).



Evan Applebod foi medicado com Redux, que aumentou a secreção de serotonina. A serotonina está implicada em muitos processos, incluindo o controle do humor e a regulação do apetite. Quando os níveis de serotonina estão baixos, pode ocorrer aumento do apetite, depressão ou ambos. Portanto, fármacos que aumentam os níveis de serotonina podem controlar o apetite e a depressão. O Redux foi a segunda geração de fármacos desenvolvidos a partir da fenfluramina, um conhecido supressor do apetite. Quando foi usada pela primeira vez, a fenfluramina não pôde ser separada entre seus dois isômeros óticos distintos (D *versus* L). O isômero L induziu sonolência; assim, para contrabalançar esse efeito, a fenfluramina foi freqüentemente associada à fentermina, a qual eleva os níveis de adrenalina para contrabalançar a sonolência (a combinação dos fármacos foi conhecida como fen/fen). Uma vez que os dois isômeros da fenfluramina puderam ser separados, o Redux, dexfenfluramina, foi desenvolvido. Devido ao fato de os níveis de serotonina terem sido associados ao humor, muitos fármacos antidepressivos que afetam os níveis de serotonina foram desenvolvidos. Os primeiros desses antidepressivos foram os inibidores da MAO; a segunda classe é constituída pelos tricíclicos, e a terceira classe pelos SSRI (inibidores seletivos da recaptação de serotonina, do inglês *selective serotonin reuptake inhibitors*). O SSRI bloqueia a recaptação de serotonina da sinapse, levando ao aumento da resposta da serotonina. O Redux age como um SSRI, mas também aumenta a secreção de serotonina, elevando os níveis desse composto na sinapse. Nenhum dos outros fármacos que afetam os níveis de serotonina tem esse efeito.



A histamina induz vários efeitos em diferentes tecidos. Ela é o principal mediador da resposta alérgica e quando liberada dos mastócitos (um tipo de célula branca do sangue encontrada nos tecidos) provoca vasodilatação e um aumento na permeabilidade das paredes dos vasos sangüíneos. Isso provoca os sintomas alérgicos, como coriza e lacrimejamento. Quando a histamina é liberada no pulmão, ocorre a constrição do ar na tentativa de reduzir a entrada do material alérgico. O resultado final disso, entretanto, é o broncoespasmo, o qual pode levar à dificuldade respiratória. No cérebro, a histamina é um neurotransmissor excitatório. Os anti-histamínicos bloqueiam a ligação da histamina a seus receptores. Nos tecidos, isso irá contrabalançar o efeito da histamina sobre a vasodilatação e a permeabilidade da parede dos vasos sangüíneos; contudo, no cérebro, o efeito é causar sonolência. A nova geração de anti-histamínicos "não-sonolentos" foi modificada de maneira que eles não possam atravessar a barreira hematencefálica. Portanto, os efeitos sobre os tecidos periféricos são mantidos sem resultado na resposta da histamina no SNC.

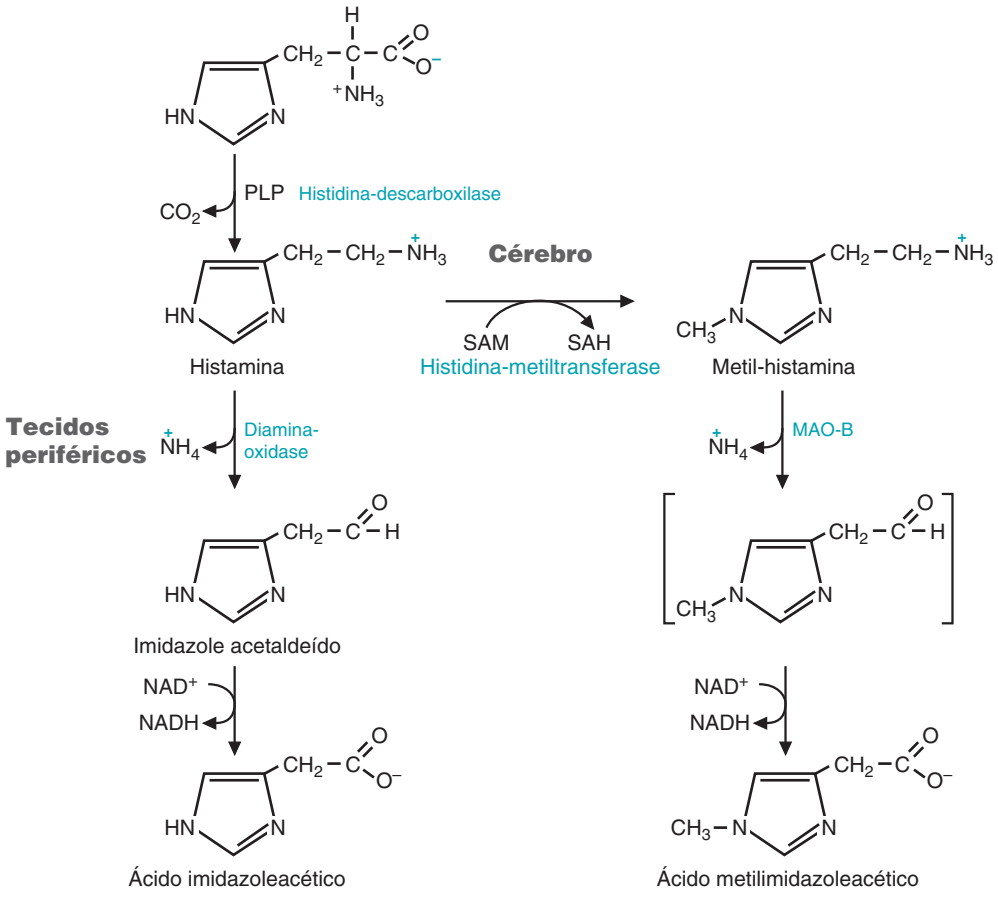


Figura 48.8 Síntese e inativação de histamina; observe as diferentes vias para o cérebro e os tecidos periféricos. SAM = S-adenosilmetionina; SAH = S-adenosil-homocisteína.

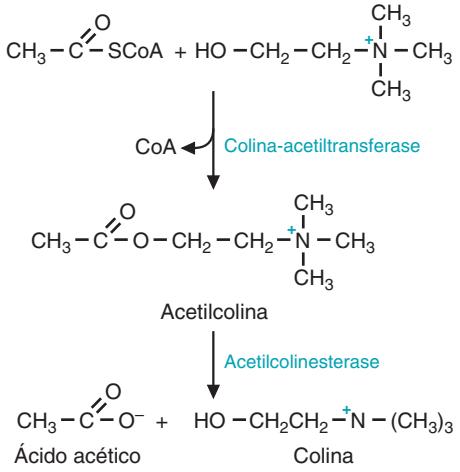


Figura 48.9 Síntese e degradação de acetilcolina.

A colina é um componente comum da dieta, mas, em seres humanos, ela pode ser sintetizada como parte da via para a síntese de fosfolipídeos (ver Capítulo 33). A única rota para a síntese de colina é por adição seqüencial de três grupos metila provenientes da SAM à porção da etanolamina da fosfatidiletanolamina para formar a fosfatidilcolina. Essa é, subseqüentemente, hidrolisada liberando colina ou fosfocolina. A conversão da fosfatidiletanolamina em fosfatidilcolina ocorre em muitos tecidos, incluindo o fígado e o cérebro. Essa conversão é dependente de B6 e B12.

O grupo acetila usado na síntese da acetilcolina é derivado principalmente da oxidação da glicose a piruvato e a subseqüente descarboxilação do piruvato para for-

O suprimento de colina no cérebro pode tornar limitante a velocidade para a síntese de acetilcolina, e a suplementação da dieta com lecitina (fosfatidilcolina) tem sido usada para aumentar a acetilcolina cerebral em pacientes que sofrem de discinesia tardia (movimentos involuntários persistentes freqüentes dos músculos faciais e da língua). O recém-nascido tem uma alta necessidade de colina para a síntese de lipídeos cerebrais (fosfatidilcolina e esfingomielina) e para a biossíntese de acetilcolina. Altos níveis de fosfatidilcolina no leite materno e uma alta atividade de um sistema de transporte de alta afinidade através da barreira hematencefálica para a colina no recém-nascido auxiliam a manter as concentrações cerebrais de colina. O feto também tem uma alta necessidade de colina, e há um sistema de transporte de alta afinidade para a colina através da placenta. A colina é derivada dos estoques maternos, da dieta materna e da síntese principalmente no fígado materno. Devido ao fato de a síntese da colina ser dependente de folato e de vitamina B12, a alta demanda fetal pode contribuir para o requerimento materno aumentado dessas vitaminas durante a gravidez.

mar acetil-CoA pela reação da piruvato-desidrogenase. Isso ocorre porque os tecidos neuronais têm uma capacidade limitada para oxidar ácidos graxos a acetil-CoA, de maneira que a oxidação da glicose é a principal fonte de grupos acetila. A piruvato-desidrogenase encontra-se somente na mitocôndria. O grupo acetila é provavelmente transportado para o citoplasma como parte do citrato, o qual é, então, clivado no citosol para formar acetil-CoA e oxaloacetato.

A deficiência da piruvato-desidrogenase, a deficiência de tiamina ou a hipoxia privam o cérebro de uma fonte de acetil-CoA para a síntese de acetilcolina, bem como para a formação do ATP a partir do ciclo do TCA.

2. INATIVAÇÃO DA ACETILCOLINA

A acetilcolina é inativada pela acetilcolinesterase, a qual é uma serina-esterase que forma uma ligação covalente com o grupo acetila. A enzima é inibida por uma ampla variedade de compostos (drogas farmacológicas e neurotoxinas) que forma uma ligação covalente com esse grupo serina reativo. As neurotoxinas, como o Sarin (o gás usado nos metrôs japoneses por um grupo terrorista) e o gás dos nervos no filme "The Rock" (A Rocha), agem por esse mecanismo. A acetilcolina é o principal neurotransmissor das junções neuromusculares; a incapacidade em inativar essa molécula leva à ativação constante das sinapses nervo-músculo, uma condição que provoca graus variados de paralisia.

F. Glutamato e GABA

1. SÍNTESE DO GLUTAMATO

O glutamato age como um neurotransmissor excitatório no SNC, levando à despolarização de neurônios. Dentro dos terminais nervosos, o glutamato em geral é sintetizado *de novo* a partir da glicose em vez de ser captado do sangue, pois sua concentração plasmática é baixa e ele não atravessa facilmente a barreira hematencefálica.

O glutamato é sintetizado principalmente a partir do intermediário do ciclo do TCA, o α-cetoglutarato (Figura 48.10). Isso pode ocorrer por 2 rotas. A primeira é pela enzima glutamato-desidrogenase, que reduz o α-cetoglutarato a glutamato, incorporando amônia livre ao esqueleto de carbono. O *pool* de amônia é suprido pela degradação de aminoácidos/neurotransmissores ou pela difusão da amônia através da barreira sangue-cérebro. A segunda rota é pelas reações de transaminações nas quais um grupo amino é transferido a partir de outros aminoácidos ao α-cetoglutarato para formar o glutamato. O glutamato também pode ser sintetizado a partir da glutamina, usando a glutaminase. A glutamina é derivada das células gliais como descrito na Seção F.2.

De forma semelhante aos outros neurotransmissores, o glutamato é armazenado em vesículas, e sua liberação é dependente de Ca^{2+}. Ele é removido da fenda sináptica pelos sistemas de captação de alta afinidade presentes nas células gliais e nos terminais nervosos.

As células β do pâncreas também expressam a glutamato-descarboxilase (GAD), e pacientes com diabetes tipo I expressam auto-antígenos contra a GAD pancreática. Estudos realizados em um modelo de diabetes tipo I em camundongos envolveram a GAD como um auto-antígeno-chave. Se a expressão da GAD for bloqueada nesses camundongos pelo uso de alteração genética, o diabetes não se desenvolve. Em geral, o que ocorre na condição humana não é tão direto como parece ser em animais, mas há uma relação entre a expressão da GAD pancreática e a causa do diabetes tipo I em seres humanos.

1. GABA

O GABA (ácido γ-aminobutírico, do inglês γ-*aminobutyric acid*) é o principal neurotransmissor inibitório no SNC. Seu significado funcional está longe de ser entendido, e a função GABAérgica alterada participa em muitos distúrbios neurológicos e psiquiátricos.

O GABA é sintetizado pela descarboxilação do glutamato (ver Figura 48.10) em um passo único catalisado pela enzima ácido glutâmico-descarboxilase (GAD, do inglês *glutamic acid decarboxylase*). O GABA é reciclado no SNC por uma série de reações chamadas de s*hunt* (desvio) de GABA, preservando glutamato e GABA (ver Figura 48.10).

A maior parte da captação do GABA ocorre nas células gliais. O desvio do GABA em células gliais produz glutamato, o qual é convertido em glutamina e transportado das células gliais para os neurônios, onde é convertido de volta em glutamato. A glutamina, portanto, serve como um transportador de glutamato entre as células no SNC (ver Capítulo 42). As células gliais não têm GAD e não podem sintetizar GABA.

A tiagabina é um fármaco que inibe a recaptação do GABA da sinapse e tem sido usada para tratar epilepsia, bem como outros distúrbios convulsivos. Devido ao fato de o GABA ser um neurotransmissor inibitório no cérebro, sua presença prolongada pode bloquear a neurotransmissão por outros agentes, reduzindo a freqüência das convulsões.

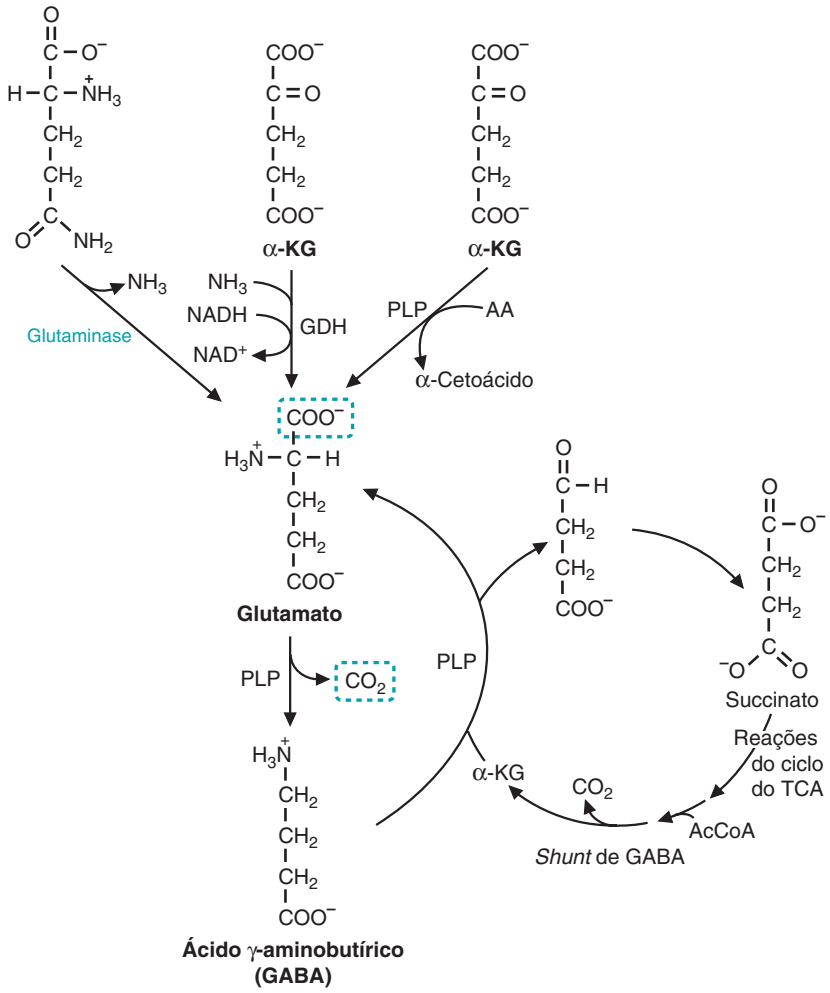


Figura 48.10 Síntese de glutamato e GABA e o *shunt* de GABA. GDH = glutamato-desidrogenase; PLP = piridoxal-fosfato.

G. Outros Aminoácidos Neurotransmissores

1. ASPARTATO

Assim como o glutamato, o aspartato é um neurotransmissor excitatório, mas age em um número muito menor de vias. Ele é sintetizado a partir do oxaloacetato, um intermediário do ciclo do TCA, por meio de reações de transaminação. De forma semelhante ao glutamato, a síntese de aspartato utiliza oxaloacetato, que deve ser restituído pelas reações anapleróticas. O aspartato não pode atravessar a barreira hematencefálica.

2. GLICINA

A glicina é o principal neurotransmissor inibitório na medula espinal. Em neurônios, a maioria da glicina é sintetizada *de novo* dentro do terminal nervoso a partir de serina pela enzima serina-hidroximetiltransferase, que requer ácido fólico. A serina, por sua vez, é sintetizada a partir do intermediário 3-fosfoglicerato da via glicolítica. A ação da glicina é provavelmente finalizada pela recaptação por um transportador de alta afinidade.

3. CONVERSÃO DE ARGININA EM ÓXIDO NÍTRICO

O óxido nítrico (NO) é um mensageiro biológico em uma variedade de respostas fisiológicas, incluindo vasodilatação, neurotransmissão e a capacidade do sistema imuno-

lógico em destruir células tumorais e parasitas. O NO é sintetizado a partir de arginina em uma reação catalisada pela NO-sintase (ver Figura 24.10).

A NO-sintase existe como isoformas tecido-específicas de duas famílias de enzimas. A isoforma presente nos macrófagos é responsável pela superprodução de NO, levando às suas ações citotóxicas sobre parasitas e células tumorais. A isoforma da enzima presente no tecido nervoso, no endotélio vascular, nas plaquetas e em outros tecidos é responsável pelas respostas fisiológicas do NO, como a vasodilatação e a transmissão neuronal. Nas células-alvo, o NO ativa a guanilato-ciclase solúvel, o que resulta no aumento dos níveis celulares de GMPc (3',5'-GMP cíclico) (Figura 48.11). Nas células musculares lisas, o GMPc, de forma semelhante ao AMPc, ativa uma ou mais proteína-quinases, as quais são responsáveis pelo relaxamento da musculatura lisa e a subseqüente dilatação dos vasos. Agindo como um neurotransmissor, o NO estimula a ereção do pênis por meio do relaxamento da musculatura lisa, o que permite aos corpos cavernosos se encherem de sangue. O óxido nítrico é um gás e, portanto, pode atravessar facilmente as membranas celulares. Como resultado, seu efeito pode não ser necessariamente limitado ao neurônio que o sintetiza (Figura 48.12). Existem muitas evidências sugerindo que o NO pode atuar como mensageiro retrógrado que pode influenciar a liberação de neurotransmissores do terminal pré-sináptico após a sua difusão pelo neurônio pós-sináptico (onde ele é sintetizado). Existem também evidências sugerindo que o ácido araquidônico e o monóxido de carbono podem atuar como mensageiros retrógrados no SNC.

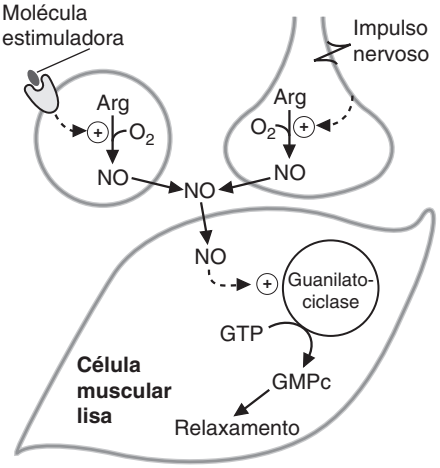


Figura 48.11 Ação do óxido nítrico (NO) na vasodilatação. A síntese de NO ocorre em resposta à ligação de um estimulador ao receptor de algumas células ou em resposta a um impulso nervoso nos neurônios. O NO entra nas células musculares lisas, estimulando a guanilato-ciclase a produzir GMPc, que causa o relaxamento da célula muscular lisa. Quando a célula muscular lisa relaxa, os vasos se dilatam.

IV. ENCEFALOPATIAS METABÓLICAS E NEUROPATIAS

O cérebro tem uma dependência absoluta do sangue para o fornecimento de glicose e oxigênio. Ele utiliza aproximadamente 20% do suprimento de oxigênio do corpo. Durante o período de desenvolvimento e o jejum prolongado, os corpos cetônicos podem ser utilizados como substrato energético, mas não podem substituir totalmente a glicose. A glicose é convertida em piruvato pela glicólise, e o piruvato é oxidado no ciclo do TCA. A glicólise anaeróbica, com uma produção de 2 ATP/glicose, não pode sustentar a necessidade de ATP do cérebro, que somente pode ser suprida pela oxidação completa da glicose a CO_2, o que produz cerca de 32 ATP/glicose. Entretanto, durante períodos de hipoglicemia ou hipoxia leves, a diminuição na síntese de neurotransmissores contribui tanto quanto, se não mais, para o desenvolvimento dos sintomas, assim como o faz uma deficiência absoluta de ATP para as necessidades energéticas.

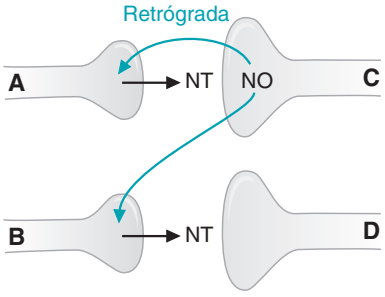


Figura 48.12 NO como um mensageiro retrógrado. A célula A libera um neurotransmissor, que estimula a célula C a produzir NO. Como o NO é um gás, ele pode se difundir de volta e regular a produção e a liberação dos neurotransmissores pela célula A. O NO também pode se difundir para a célula B e estimular essa célula a produzir um neurotransmissor diferente que induz uma resposta da célula D. NT = neurotransmissor.

A. Encefalopatia Hipoglicêmica

Ocasionalmente, a hipoglicemia é encontrada em condições médicas como tumores malignos produtores de insulina, fatores de crescimento tipo-insulina ou alcoolismo crônico. Os sinais clínicos precoces da hipoglicemia refletem o aparecimento de mecanismos fisiológicos protetores iniciados pelos núcleos sensoriais hipotalâmicos, como transpiração, palpitações, ansiedade e fome. Se forem ignorados, esses sintomas dão lugar a um distúrbio do SNC mais grave, progredindo de confusão e letargia para convulsões e, finalmente, coma. A hipoglicemia prolongada pode levar a dano cerebral irreversível.

Durante a progressão da encefalopatia hipoglicêmica, conforme a glicose sangüínea diminui para menos de 2,5 mM (45 mg/dL), o cérebro tenta usar substratos internos como glutamato e intermediários do ciclo do TCA como substratos energéticos. Como a quantidade desses substratos é relativamente pequena, eles são rapidamente exauridos. Se os níveis de glicose sangüínea continuam a diminuir para menos de 1 mM (18 mg/dL), os níveis de ATP tornam-se esgotados.

Quando a glicose do sangue diminui de 2,5 para 2,0 mM (45 para 36 mg/dL, antes de observarem-se mudanças do EEG), os sintomas aparentemente surgem da diminuição da síntese de neurotransmissores em regiões particulares do cérebro, e não do déficit global de energia. A Figura 48.13 resume a relação entre a oxidação da glicose na glicólise e o fornecimento de precursores para a síntese de neurotransmissores em diferentes tipos de neurônios.

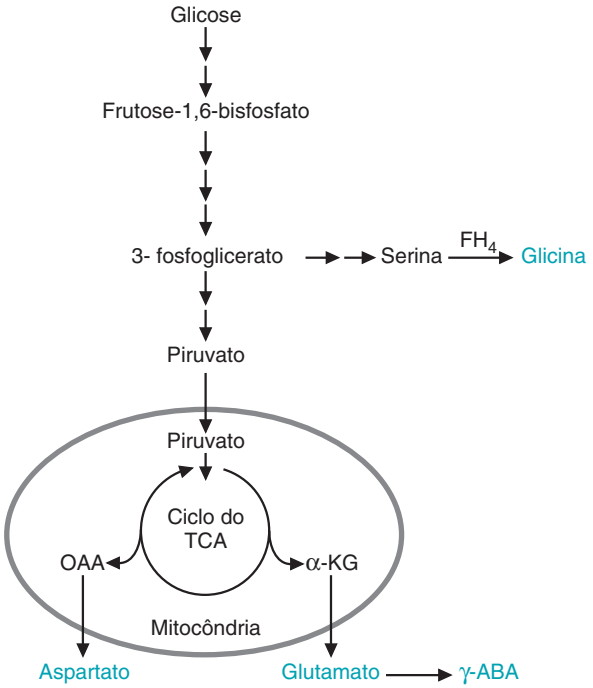


Figura 48.13 Metabolismo da glicose levando à síntese dos neurotransmissores glicina, aspartato, glutamato e GABA. Conforme os níveis de glicose sangüínea caem e os níveis de glicose cerebrais diminuem, a síntese desses neurotransmissores pode ser comprometida.

Conforme a hipoglicemia progride para menos de 1 mM (18 mg/dL) e os níveis de fosfato de alta energia são esgotados, o EEG torna-se isoelétrico, e segue-se a morte das células neuronais. Como em outras encefalopatias metabólicas, a morte celular não tem distribuição global; em vez disso, certas estruturas cerebrais, em particular o hipocampo e as estruturas corticais, apresentam vulnerabilidade seletiva ao insulto hipoglicêmico. Os mecanismos fisiopatológicos responsáveis pela morte celular neuronal na hipoglicemia incluem o envolvimento da excitotoxicidade do glutamato. A excitotoxicidade glutamatérgica ocorre quando as reservas de energia celulares são esgotadas. A deficiência das bombas de recaptação dependentes de energia resulta no acúmulo de glutamato na fenda sináptica e na superestimulação de receptores glutamatérgicos pós-sinápticos. A ativação prolongada dos receptores glutamatérgicos leva à abertura prolongada dos canais iônicos de receptores e ao influxo de quantidades letais de íon Ca^{2+}, que pode ativar vias intracelulares citotóxicas no neurônio pós-sináptico.

B. Encefalopatia Hipóxica

Estudos experimentais em seres humanos voluntários mostram que o metabolismo energético cerebral permanece normal quando a hipoxia moderada ou leve (pressão parcial de oxigênio ou PaO_2 = 25 a 40 mmHg) resulta em disfunção cognitiva grave. Acredita-se que a disfunção cognitiva resulte do prejuízo na síntese de neurotransmissores. Na hipoxia moderada, o fluxo sangüíneo cerebral aumenta para manter o aporte de oxigênio para o cérebro. Além disso, a glicólise anaeróbica é acelerada, resultando na manutenção dos níveis de ATP. Isso ocorre, portanto, às custas do aumento na produção de lactato e da queda do pH. A hipoxia aguda ($PaO_2 \leq 20$ mmHg) em geral resulta em coma.

A hipoxia pode resultar de quantidade insuficiente de oxigênio chegando ao sangue (p. ex., em altas altitudes), de anemia grave (p. ex., deficiência de ferro) ou de um insulto direto na capacidade do cérebro em utilizar oxigênio (p. ex., envenenamento por cianeto). Todas as formas de hipoxia resultam na diminuição da síntese de neuro-

transmissores. A inibição da piruvato-desidrogenase diminui a síntese de acetilcolina, a qual é muito sensível a hipoxia. As sínteses de glutamato e de GABA, que dependem do funcionamento do ciclo do TCA, são diminuídas como resultado de níveis elevados de NADH, que inibem as enzimas do ciclo do TCA. Os níveis de NADH estão aumentados quando o oxigênio não está disponível como aceptor de elétrons na cadeia transportadora de elétrons e o NADH não pode ser reconvertido em NAD^+. Mesmo a síntese dos neurotransmissores catecolaminérgicos pode estar diminuída, já que as reações de hidroxilase requerem O_2.

C. A Relação entre a Síntese de Glutamato e as vias Anaplerótica da Piruvato-Carboxilase e da Metilmalonil-CoA-Mutase

A síntese de glutamato remove α-cetoglutarato do ciclo do TCA, diminuindo, assim, a regeneração de oxaloacetato no ciclo do TCA. Devido ao fato de o oxaloacetato ser necessário para a oxidação de acetil-CoA, ele deve ser restituído pelas reações anapleróticas. Existem dois tipos principais de reações anapleróticas: (1) a piruvato-carboxilase e (2) a via degradativa dos aminoácidos de cadeia ramificada, valina e isoleucina, que contribuem com succinil-CoA para o ciclo do TCA. Essa via usa B12 (mas não folato) na reação catalisada pela metilmalonil-CoA-mutase.

IV. SÍNTESE DE LIPÍDEOS NO CÉREBRO E NO SISTEMA NERVOSO PERIFÉRICO

Várias características da síntese e da degradação de lipídeos no sistema nervoso são distintas da maioria dos outros tecidos. A primeira característica é que a porção da membrana da célula neuronal envolvida na transmissão sináptica tem papel e composição únicos. No terminal pré-sináptico, a composição de lipídeo é rapidamente modificada quando as vesículas de armazenamento contendo o neurotransmissor fundem-se com a membrana celular, liberando o seu conteúdo. As porções das membranas são também perdidas com as vesículas endocíticas. No terminal pós-sináptico, a membrana contém os receptores para os neurotransmissores, bem como uma alta concentração de componentes de sinalização de membrana, como o fosfatidilinositol. A segunda característica importante do metabolismo de lipídeos cerebral é que a barreira hematencefálica restringe a entrada de ácidos graxos não-essenciais, como o palmitato, os quais são liberados do tecido adiposo ou são provenientes da dieta. Ao contrário, os ácidos graxos essenciais são captados pelo cérebro. Devido a essas considerações, o cérebro está constantemente sintetizando esses lipídeos (colesterol, ácidos graxos, glicoesfingolipídeos e fosfolipídeos), os quais são necessários para várias funções neurológicas. A sinalização neuronal também requer que células gliais não-neuronais sintetizem mielina, uma membrana multicamada que envolve os axônios de muitos neurônios. A mielina é rica em lipídeos e tem uma composição lipídica diferente daquela das membranas neuronais. A substância branca no cérebro contém significativamente mais mielina do que a substância cinzenta; a presença da bainha de mielina é responsável pelas diferenças de cor características existentes entre os dois tipos de tecido cerebral.

A. Síntese e Oxidação de Lipídeos Cerebrais

Devido ao fato de a barreira hematencefálica inibir de forma significativa a entrada de certos ácidos graxos e lipídeos para o SNC, praticamente todos os lipídeos encontrados no cérebro devem ser sintetizados dentro do SNC. As exceções são os ácidos graxos essenciais (ácidos linoléico e linolênico) que entram no cérebro, onde são alongados e posteriormente dessaturados. A captação de ácidos graxos para dentro do SNC é insuficiente para satisfazer sua demanda energética; por isso, há a necessidade do metabolismo aeróbico da glicose. Portanto, colesterol, glicerol, esfingolipídeos, glicoesfingolipídeos e cerebrosídeos são todos sintetizados usando as vias previamente discutidas neste texto. É importante salientar que os ácidos graxos de cadeia muito longa são sintetizados no cérebro, onde têm um papel fundamental na formação da mielina.

A oxidação e o *turnover* (taxa de renovação) dos lipídeos cerebrais ocorrem como descrito previamente no texto (ver Capítulo 23). A oxidação de ácidos graxos peroxissomais é importante no cérebro, pois ele contém ácidos graxos de cadeia muito longa e ácido fitânico (proveniente da dieta), ambos oxidados nos peroxissomas pela α-oxidação. Portanto, as doenças que afetam a biogênese dos peroxissomas (como a doença de Refsum) afetam gravemente as células cerebrais, devido à sua incapacidade de metabolizar tanto ácidos graxos de cadeia ramificada quanto de cadeia muito longa. Se há um distúrbio no qual a degradação de glicoesfingolipídeos ou mucopolissacarídeos está reduzida, os lisossomas das células cerebrais irão se tornar entumecidos com glicolipídeos parcialmente digeridos, levando a graus variados de disfunção neurológica.

B. Síntese de Mielina

A alta velocidade de condução nervosa nos nervos motores centrais e periféricos depende da formação de mielina, uma multicamada de lipídeos e proteínas estruturais que é formada a partir da membrana plasmática de células gliais. No SNP, a célula de Schwann é responsável por mielinizar uma porção de axônio de uma célula nervosa. A célula de Schwann faz isso se enrolando várias vezes em torno do axônio, que é, então, envolvido por uma bainha multicamada de membrana. No SNC, o oligodendrócito é responsável pela mielinização. Diferentemente das células de Schwann, os oligodendrócitos podem mielinizar as porções de muitos axônios (acima de 40) e o fazem pelo prolongamento de um fino processo que se enrola várias vezes em torno do axônio. Portanto, os axônios do SNC são circundados somente pelas membranas dos oligodendrócitos, enquanto os axônios no SNP são circundados por toda a célula de Schwann. Uma visão geral da mielinização é apresentada na Figura 48.14. Para manter a estrutura da mielina, os oligodendrócitos sintetizam quatro vezes o seu próprio peso em lipídeos por dia.

1. LIPÍDEOS DA MIELINA

Quando a membrana plasmática da célula glial é convertida em mielina, a composição lipídica cerebral muda (Tabela 48.2). A razão lipídeo/proteína é fortemente aumentada,

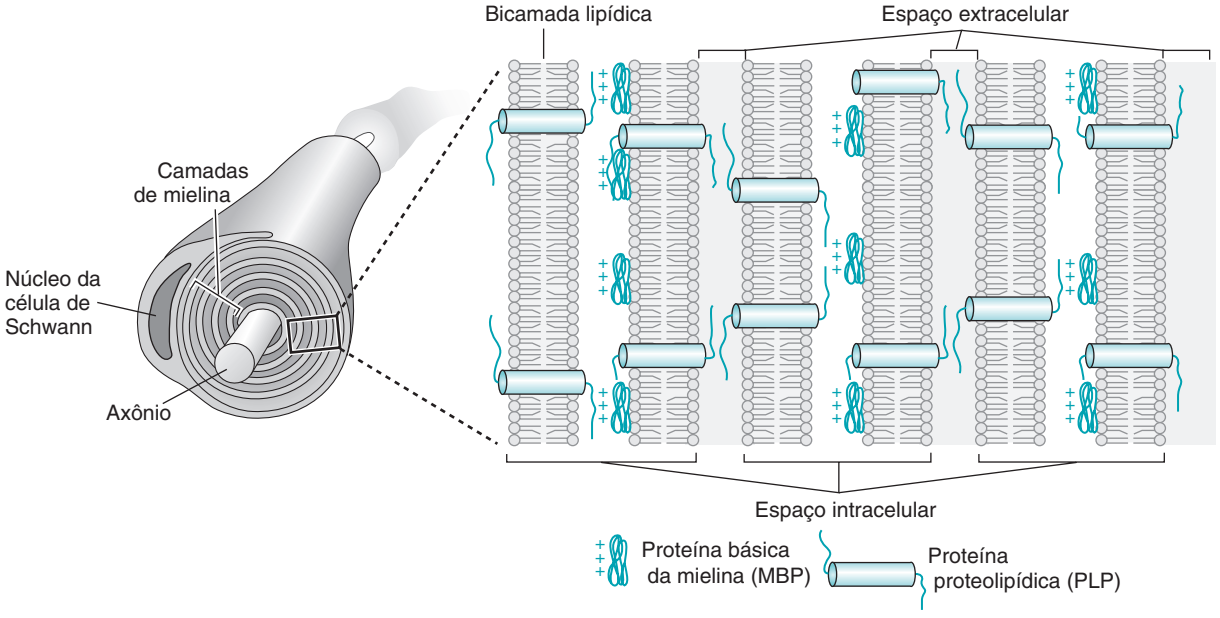


Figura 48.14 Diagrama indicando uma célula de Schwann se enrolando em volta de uma porção de um axônio, formando a bainha de mielina. A expansão representa uma porção da bainha de mielina. A mielina do SNC é mostrada, embora seja similar à mielina do SNP com exceção da Po que deveria estar no lugar da PLP (proteína proteolipídica). Lembre-se que existem múltiplas camadas de membrana envolvendo o axônio; a PLP prolonga-se para dentro do espaço extracelular e auxilia na compactação da membrana por meio de interações hidrofóbicas. As MBP auxiliam na estabilização da estrutura por dentro da membrana.

Tabela 48.2 Composição de Proteínas e Lipídeos da Mielina do SNC e Cérebro Humano

Substância[a]	Mielina	Substância Branca	Substância Cinzenta
Proteína	30,0	39,0	55,3
Lipídeo	70,0	54,9	32,7
Colesterol	27,7	27,5	22,0
Cerebrosídeo	22,7	19,8	5,4
Sulfatídeo	3,8	5,4	1,7
Galactolipídeo total	27,5	26,4	7,3
Etanolamina-fosfatídeos	15,6	14,9	22,7
Fosfatidilcolina	11,2	12,8	26,7
Esfingomielina	7,9	7,7	6,9
Fosfatidilserina	4,8	7,9	8,7
Fosfatidilinositol	0,6	0,9	2,7
Plasmalogênios	12,3	11,2	8,8
Fosfolipídeos totais	43,1	45,9	69,5

[a]Proteínas e lipídeos representados em porcentagem de peso seco; todas as outras substâncias, em porcentagem do peso de lipídeos totais.
Os dados são de W. Norton, in Siegel GJ, Albers RW, Agranoff BW, Katzman R, eds. Basic Neurochemistry, 3rd Ed. Boston: Little Brown & Co, 1981:77.

como é o conteúdo de esfingolipídeos. A mielina é uma estrutura firmemente empacotada, e existem interações hidrofóbicas significativas entre os lipídeos e as proteínas para que isso ocorra. Os cerebrosídeos constituem cerca de 16% do total de lipídeos da mielina e estão quase completamente ausentes em lipídeos de membrana de outros tipos celulares. O cerebrosídeo predominante é o galactosilcerebrosídeo, o qual tem um açúcar único ligado ao grupo hidroxila da esfingosina. Ao contrário, a esfingomielina, que é provavelmente o lipídeo predominante da mielina, está presente aproximadamente nas mesmas concentrações baixas em todas as membranas. Os galactocerebrosídeos estão mais fortemente empacotados do que a fosfatidilcolina; o açúcar, embora polar, não conduz nenhum grupo amino carregado positivamente ou fosfato carregado negativamente. O cérebro sintetiza ácidos graxos de cadeia muito longa (maior do que 20 carbonos); essas cadeias laterais longas sem carga desenvolvem fortes interações hidrofóbicas, permitindo um empacotamento compacto da bainha de mielina. O alto conteúdo de colesterol da membrana também contribui para o forte empacotamento, embora as proteínas da mielina também sejam requeridas para completar a tensão do processo de empacotamento.

2. PROTEÍNAS ESTRUTURAIS DA MIELINA

As camadas de mielina são mantidas juntas pelas interações proteína/lipídeo e proteína/proteína, e qualquer ruptura pode levar à desmielinização da membrana (ver Comentários Bioquímicos). Embora muitas proteínas sejam encontradas tanto no SNC quanto no SNP, somente as proteínas principais são discutidas aqui. As principais proteínas no SNC e no SNP são diferentes. No SNC, duas proteínas constituem entre 60 e 80% do total de proteínas – a proteína proteolipídica (PLP, do inglês *proteolipid protein*) e as proteínas básicas da mielina (MBP, do inglês *myelin basic proteins*). A PLP é uma proteína muito hidrofóbica que forma grandes agregados em solução aquosa e é relativamente resistente à proteólise. Com base na análise de seqüência, seu peso molecular é 30.000 dáltons. A PLP é altamente conservada em seqüência entre as espécies. Acredita-se que seu papel seja o de promover a formação e a estabilização da estrutura das multicamadas da mielina.

As MBP são uma família de proteínas. Diferentemente da PLP, as MBP são facilmente extraídas da membrana e solúveis em solução aquosa. A principal MBP não tem estrutura terciária e tem um peso molecular de 15.000 dáltons. A MBP está localizada na face citoplasmática das membranas da mielina. Os anticorpos direcionados contra MBP induzem encefalomielite alérgica experimental (EAE), a qual tornou-se um sistema-modelo para o entendimento da esclerose múltipla, uma doença desmielinizante. Um modelo de como a PLP e as MBP auxiliam na estabilização da mielina é mostrado na Figura 48.14.

No SNP, a principal proteína da mielina é a Po, uma glicoproteína que responde por mais de 50% do conteúdo protéico de mielina do SNP. O peso molecular da Po é 30.000 dáltons, o mesmo da PLP. Acredita-se que a Po tenha o papel de manter a estrutura de mielina no SNP, similar àquele da PLP no SNC. As proteínas básicas da mielina são também encontradas no SNP, com algumas similaridades e diferenças com relação às MBP encontradas no SNC. A principal MBP específica do SNP tem sido designada P2.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS



As catecolaminas afetam quase todos os tecidos e órgãos no corpo. Sua liberação integrada a partir das terminações nervosas do sistema nevoso simpático (adrenérgico) tem um papel crucial nas respostas reflexas que ocorrem a alterações súbitas nos meios interno ou externo no indivíduo. Por exemplo, sob estresse, as catecolaminas aumentam de forma apropriada a freqüência cardíaca, a pressão sangüínea, a contratilidade miocárdica (músculo cardíaco) e a velocidade de condução do coração.

A secreção episódica inapropriada de catecolaminas em quantidades farmacológicas, como ocorre em pacientes com feocromocitoma, como **Katie Colamin**, com feqüência causa um espectro alarmante de sinais e sintomas de um estado hiperadrenérgico.

Quase todos os sinais e sintomas relacionados ao excesso de catecolamina podem ser mascarados por fenoxibenzamina, um antagonista de receptor adrenérgico α_1 e α_2 de ação longa combinado com um bloqueador de receptor adrenérgico β_1 e β_2 como o propranolol. A terapia farmacológica isolada é reservada para pacientes com feocromocitomas inoperáveis (p. ex., pacientes com tumores malignos com metástase e pacientes com doença cardíaca grave). Devido às descargas súbitas, imprevisíveis e algumas vezes com risco de vida de grandes quantidades de catecolaminas por esses tumores, a terapia definitiva envolve a ressecção cirúrgica da neoplasia após preparação pré-operatória apropriada do paciente com os agentes mencionados anteriormente. O tumor de Katie foi ressecado sem complicações intra-operatórias ou pós-operatórias. Após a cirurgia, ela permaneceu sem sintomas, e a pressão sangüínea diminuiu para níveis normais.



Evan Applebod, após parar com Redux, passou a receber Prozac, um antidepressivo que age como um inibidor específico da recaptação de serotonina (SSRI), mas não leva a síntese ou secreção aumentadas de serotonina, como fazia a dexfenfluramina do Redux. Assim, o mecanismo de ação desses dois fármacos é diferente, mesmo que o resultado final (níveis elevados de serotonina) seja o mesmo. Infelizmente, o Prozac não funcionou muito bem para o Sr. Applebod como fez o Redux, e ele ganhou novamente seus 45 kg no primeiro ano após a troca de medicações. O Redux foi retirado do mercado por seu fabricante devido a relatos de anormalidades em válvulas cardíacas em uma pequena porcentagem de pacientes que tinham tomado fen/fen ou Redux. Desde então, a FDA baniu o uso de Redux para perda de peso devido aos efeitos colaterais. Outros tratamentos, como orlistat, um inibidor parcial da absorção de ácidos graxos da dieta a partir do trato gastrintestinal, estão sendo testados em um esforço para perda de peso com segurança em pacientes como **Evan Applebod**.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



A importância da mielina na transmissão nervosa é ressaltada por uma ampla variedade de doenças desmielinizantes, sendo que todas levam a sintomas neurológicos. A doença mais conhecida nessa classe é a esclerose múltipla (MS, do inglês *multiple sclerosis*). A MS pode ser uma doença progressiva do SNC, na qual a desmielinização dos neurônios do SNC é o principal achado anatômico e pato-

lógico. A causa da MS ainda não é conhecida, embora se acredite que ocorra um evento que dispare a formação de anticorpos auto-imunes direcionados contra componentes do sistema nervoso. Esse evento poderia ser uma infecção bacteriana ou viral que estimule o sistema imunológico a combater os invasores. Infelizmente, esse estímulo também pode disparar a resposta auto-imune que leva ao processo de desmielinização mediado por anticorpos. A distribuição geográfica incomum da MS é de interesse. Os pacientes estão concentrados nas latitudes norte e sul, e sua incidência é quase zero no Equador. A apresentação clínica da MS varia muito. Mais comumente, ela é uma doença moderada que tem poucas ou não tão óbvias manifestações clínicas. No outro extremo do espectro, ela é uma doença rapidamente progressiva e fatal. A apresentação mais bem conhecida é o tipo remissão-exacerbação. Nesse tipo, no início do curso da doença, a história natural é de exacerbação seguida de remissão. Por fim, o SNC não pode reparar o dano que foi acumulado através dos anos, e as remissões ocorrem com cada vez menos freqüência. Os tratamentos disponíveis para MS têm como alvo o tipo remissão-exacerbação da doença.

O principal dano para o SNC na MS é a perda de mielina na substância branca, o que interfere na condução nervosa ao longo da área desmielinizada (o isolante é perdido). O SNC compensa estimulando os oligodendrócitos a remielinizar os axônios danificados, e, quando isso ocorre, a remissão acontece. A remielinização freqüente leva a uma redução na velocidade de condução em virtude da camada reduzida de mielina (a velocidade é proporcional à espessura da mielina) ou do encurtamento da distância internodal (o potencial de ação tem de ser propagado mais vezes). Finalmente, quando se torna muito difícil a remielinização de grandes áreas do SNC, o neurônio adapta-se por *upregulation* e por redistribuição de suas bombas iônicas de membrana para permitir a condução nervosa ao longo dos axônios desmielinizados. Por fim, essa adaptação também falha, e a doença progride.

O tratamento da MS atualmente é fundamentado no bloqueio da ação do sistema imunológico. Devido ao fato de os anticorpos direcionados contra os componentes celulares parecerem ser responsáveis pela progressão da doença (a despeito de como os auto-anticorpos foram inicialmente produzidos), agentes que interferem na resposta imunológica têm sido usados com diferentes graus de sucesso em manter os pacientes em remissão por longos períodos.

Outras doenças desmielinizantes também existem, e suas causas são muito mais diretas. Elas são doenças relativamente raras, e não há tratamento completamente efetivo para o paciente. As mutações hereditárias na Po (a principal proteína da mielina no SNP) levam a uma versão da síndrome de polineuropatia de Charcot-Marie-Tooth. O padrão de herança para essa doença é autossômico dominante, indicando que a expressão de um alelo mutado levará à expressão da doença. Mutações na PLP (a principal proteína da mielina no SNC) causam a doença de Pelizaeus-Merzbacher e a doença de paraplegia espástica ligada ao X tipo 2. Essas doenças apresentam uma ampla variação de fenótipos, desde ausência no desenvolvimento motor e morte precoce (mais severa) a distúrbios leves de deambulação. O fenótipo manifestado depende da localização precisa da mutação na proteína. Uma função alterada da Po ou da PLP leva à desmielinização e a suas subseqüentes manifestações clínicas.

Leituras Sugeridas

Herndon RM. Multiple Sclerosis: Immunology, Pathology, and Pathophysiology. New York: Demos Medical Publishing, 2003.

Lupski JR, Garcia CA. Charcot-Marie-Tooth peripheral neuropathies and related disorders. In: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, Sly WS, et al eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, vol II, 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:5759-5788.

Siegel G, Agranoff B, Albers RW, Molinoff P, eds. Basic Neurochemistry, 4th Ed. New York: Raven Press, 1989.

Webster RA, ed. Neurotransmitters, Drugs and Brain Function. London: John Wiley and Sons Ltd, 2001.

QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 48

1. Um paciente com um tumor da medula adrenal sentiu palpitações, sudorese excessiva e dor de cabeça hipertensiva. A urina continha quantidades elevadas de ácido vanilmandélico. Os sintomas são provavelmente causados por uma superprodução de qual das seguintes alternativas?

   (A) Acetilcolina
   (B) Noradrenalina e adrenalina
   (C) DOPA e serotonina
   (D) Histamina
   (E) Melatonina

2. Quais são os dois lipídeos encontrados em maior concentração na mielina?

   (A) Colesterol e cerebrosídeos, como a galactosilceramida
   (B) Colesterol e fosfatidilcolina
   (C) Galactosilceramida sulfatídeo e esfingomielina
   (D) Plasmalogênios e esfingomielina
   (E) Triacilgliceróis e lecitina

3. Qual das seguintes alternativas descreve melhor a proteína básica da mielina?

   (A) Ela é sintetizada nas células de Schwann, mas não nos oligodendrócitos.
   (B) Ela é uma proteína transmembrana encontrada somente na mielina periférica.
   (C) Ela une os dois folhetos extracelulares na mielina central.
   (D) Ela contém resíduos de aminoácidos básicos que ligam as faces extracelulares carregadas negativamente da membrana de mielina.
   (E) Ela contém resíduos de lisina e arginina que ligam as faces intracelulares carregadas negativamente da membrana de mielina.

4. Um paciente apresentou dismorfia e degeneração cerebelar. A análise do sangue indicou níveis elevados de ácido fitânico e ácidos graxos de cadeia muito longa, sem elevação de palmitato. Os sintomas são consistentes com um defeito em qual das seguintes alternativas?

   (A) α-Oxidação
   (B) β-Oxidação mitocondrial
   (C) Transporte de enzimas para dentro dos lisossomas
   (D) Degradação dos mucopolissacarídeos
   (E) Alongamento de ácidos graxos

5. Um dos sintomas presentes na deficiência de vitamina B6 é a demência. Isso pode ser causado pela incapacidade de sintetizar serotonina, noradrenalina, histamina e GABA a partir de seus respectivos aminoácidos precursores. Isso ocorre porque a B6 é necessária para qual tipo de reação?

   (A) Hidroxilação
   (B) Transaminação
   (C) Desaminação
   (D) Descarboxilação
   (E) Oxidação

49 Matriz Extracelular e Tecido Conjuntivo

Muitas das células nos tecidos estão fixadas em uma ***matriz extracelular*** *que preenche os espaços entre as células e une células e tecidos conjuntamente. Fazendo isso, a matriz extracelular auxilia determinando a forma dos tecidos bem como a natureza da diferença entre os tipos de tecidos. Na pele, o tecido conjuntivo frouxo abaixo da camada de células epiteliais consiste em uma matriz extracelular na qual fibroblastos, vasos sangüíneos e outros componentes estão distribuídos (Figura 49.1). Outros tipos de tecido conjuntivo, como tendão e cartilagem, consistem basicamente em matriz extracelular, a qual é a principal responsável por sua estrutura e função. Essa matriz também forma a* ***lâmina basal*** *como um folheto, ou membrana basal, na qual camadas de células epiteliais se apóiam, e a qual age como tecido de suporte para células musculares, células adiposas e nervos periféricos.*

Os componentes básicos da matriz extracelular incluem proteínas estruturais fibrosas, como ***colágenos***, ***proteoglicanos*** *contendo longas cadeias de glicosaminoglicanos ligadas a um esqueleto protéico e* ***proteínas de adesão*** *que ligam os componentes da matriz uns aos outros e às células.*

Essas ***proteínas estruturais fibrosas*** *são compostas de elementos repetitivos que formam uma estrutura linear.* ***Colágenos***, ***elastina*** *e* ***laminina*** *são as principais proteínas estruturais do tecido conjuntivo.*

Os ***proteoglicanos*** *consistem em uma proteína central ligada covalentemente a várias cadeias lineares longas de* ***glicosaminoglicanos***, *os quais contêm unidades repetitivas de dissacarídeos. Os dissacarídeos que se repetem normalmente contêm uma* ***hexosamina*** *e um* ***ácido urônico***, *e esses açúcares com freqüência são* ***sulfatados***. *A síntese dos proteoglicanos inicia com a ligação de um açúcar a um resíduo de serina, treonina ou asparagina da proteína. Açúcares adicionais, doados por* ***precursores UDP-açúcares***, *são adicionados seqüencialmente à extremidade não-redutora da molécula.*

Os proteoglicanos, assim como as glicoproteínas e os glicolipídeos, são ***sintetizados no retículo endoplasmático (RE)*** *e no* ***complexo de Golgi***. *As cadeias de glicosaminoglicanos de proteoglicanos são* ***degradadas por enzimas lisossomais*** *que clivam um açúcar de cada vez a partir da extremidade não-redutora da cadeia. Uma incapacidade para degradar proteoglicanos leva a um grupo de doenças conhecidas como* ***mucopolissacaridoses***.

Proteínas de adesão, como fibronectina e laminina, *são glicoproteínas extracelulares que contêm domínios de ligação, distintos e independentes, para proteoglicanos, colágeno e fibrina. Esses domínios permitem que essas proteínas de adesão se liguem a vários componentes da matriz extracelular. Eles também contêm domínios de ligação específicos para receptores de superfície celular conhecidos como* ***integrinas***. *Essas integrinas se ligam à* ***fibronectina*** *na superfície externa, atravessando a membrana plasmática das células e aderindo-se a proteínas, as quais, por sua vez, se ligam a filamentos intracelulares de* ***actina*** *do* ***citoesqueleto***. *As integrinas também fornecem um mecanismo para a sinalização entre as células pelos sinais internos bem como por meio de sinais gerados pela matriz extracelular. O movimento celular dentro da matriz extracelular requer a remodelação de vários componentes da matriz. Isso é realizado por uma variedade de* ***metaloproteinases de matriz*** *(MMP, do inglês* matrix metalloproteinases*) e reguladores de MMP,* ***inibidores teciduais de metaloproteinases de matriz*** *(TIMP, do inglês* tissue

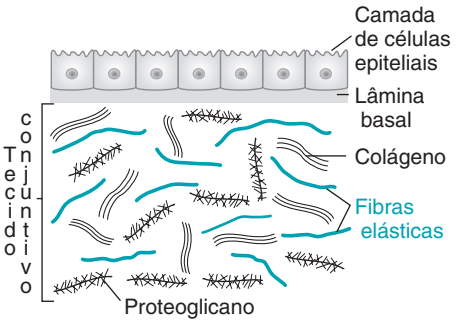


Figura 49.1 Uma visão geral da matriz extracelular do tecido conjuntivo. Apoiando a camada de células epiteliais, está uma lâmina basal, sob a qual estão colágeno, fibras elásticas e proteoglicanos. Os tipos celulares presentes no tecido conjuntivo, como fibroblastos e macrófagos, foram retirados do diagrama para maior clareza.

inhibitors of matrix metalloproteinases). *A disfunção desse delicado balanço de reguladores do movimento celular permite que as células cancerosas se desloquem para outras partes do corpo (**metastatizem-se**) bem como se propagem localmente para tecidos contíguos.*

SALA DE ESPERA

Sis Lupus (mencionada pela primeira vez no Capítulo 14) observou uma redução moderada na dor e no edema das articulações dos dedos quando estava tomando o esquema de seis semanas de alta dose de prednisona, um esteróide antiinflamatório. Contudo, quando a dose desse fármaco foi diminuída para minimizar os efeitos colaterais a longo-prazo, a dor nas articulações dos dedos retornou, e, pela primeira vez, o joelho esquerdo ficou dolorido, edemaciado e quente ao toque. O reumatologista descreveu para ela as alterações teciduais inflamatórias subjacentes que o lúpus eritematoso sistêmico (LES) estava causando nos tecidos articulares.

Ann Sulin se queixou de perda de apetite bem como fraqueza e fadiga graves. A redução da capacidade dos rins de manter uma excreção urinária total de ácidos por dia contribuiu para piora da acidose metabólica. Isso mais o declínio da capacidade de excretar produtos nitrogenados de eliminação, como creatinina e uréia, na urina ("azotemia") são responsáveis por muitos dos sintomas. O nível sérico de creatinina estava em ascensão progressiva. Quando esse nível se aproximou de 5 mg/dL, ela desenvolveu uma série de queixas causadas por disfunção de múltiplos órgãos associada à piora da acidose metabólica, retenção de produtos nitrogenados de eliminação e assim por diante ("uremia"). Os médicos discutiram com Ann a necessidade de considerar a realização de diálise peritoneal ou hemodiálise.

I. COMPOSIÇÃO DA MATRIZ EXTRACELULAR

A. Proteínas Fibrosas

1. COLÁGENO

O colágeno, uma família de proteínas fibrosas, é produzido por uma variedade de tipos celulares, mas principalmente por fibroblastos (células encontradas no tecido conjuntivo intersticial), células musculares e epiteliais. O colágeno tipo I (colágeno[I]), a mais abundante proteína nos mamíferos, é uma proteína fibrosa que é o principal componente do tecido conjuntivo. Ele é encontrado na matriz extracelular (ECM, do inglês *extracellular matrix*) de tecido conjuntivo frouxo, ossos, tendões, pele, vasos sangüíneos e córnea do olho. O colágeno(I) contém aproximadamente 33% de glicina e 21% de prolina e hidroxiprolina. A hidroxiprolina é um aminoácido produzido pela modificação pós-traducional de resíduos peptidil de prolina (ver Capítulo 7, Seção V.C, para uma introdução sobre colágeno).

O pró-colágeno(I), o precursor do colágeno(I), é uma tripla hélice composta de três cadeias polipeptídicas (pró-α) que são enroladas umas ao redor das outras, formando uma estrutura semelhante a uma corda. A polimerização de moléculas de colágeno(I) forma as fibrilas de colágeno, as quais fornecem uma grande força de tensão aos tecidos conjuntivos (Figura 49.2). Cada cadeia polipeptídica individual contém aproximadamente 1.000 resíduos de aminoácidos. As três cadeias polipeptídicas da tripla hélice são unidas por pontes de hidrogênio intercadeia. Cada volta da tripla hélice contém três resíduos de aminoácidos, de tal forma que cada terceiro aminoácido está em contato íntimo com as outras duas fitas no centro da estrutura. Somente a glicina, a qual não possui uma cadeia lateral, pode se encaixar nessa posição, e de fato cada terceiro resí-

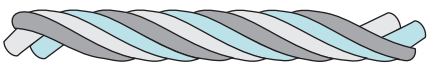


Figura 49.2 A tripla hélice do colágeno.

duo de aminoácido do colágeno é a glicina. Portanto, o colágeno é um polímero de repetições (Gly-X-Y), onde Y freqüentemente é prolina ou hidroxiprolina e X é qualquer outro aminoácido encontrado no colágeno.

O pró-colágeno(I) é um exemplo de uma proteína que sofre extensas modificações pós-traducionais. As reações de hidroxilação produzem resíduos de hidroxiprolina a partir de resíduos de prolina e de hidroxilisina a partir de resíduos de lisina. Essas reações ocorrem após a proteína ter sido sintetizada (Figura 49.3) e requerem vitamina C (ácido ascórbico) como um co-fator das enzimas, como prolil-hidroxilase e lisil-hidroxilase. Resíduos de hidroxiprolina estão envolvidos na formação de pontes de hidrogênio que ajudam a estabilizar a tripla hélice, enquanto resíduos de hidroxilisina são os sítios de ligação da porção dissacarídeo (galactose-glicose).

As cadeias laterais de resíduos de lisina também podem ser oxidadas para formar o aldeído alisina. Esses resíduos aldeídos produzem ligações cruzadas covalentes entre as moléculas de colágeno (Figura 49.4). Um resíduo de alisina em uma molécula de colágeno reage com o grupo amino de um resíduo de lisina em outra molécula, formando uma base de Schiff covalente que é convertida em ligações cruzadas covalentes mais estáveis. A condensação aldol também pode ocorrer entre dois resíduos de alisina, o que forma a estrutura lisinonorleucina.



O papel dos carboidratos na estrutura do colágeno ainda é controverso. Os resíduos de hidroxiprolina no colágeno são necessários para a estabilização da tripla hélice pela formação de pontes de hidrogênio. Na ausência de vitamina C (escorbuto), a temperatura de fusão do colágeno pode diminuir de 42°C para 24°C devido ao prejuízo na formação de pontes de hidrogênio intercadeia pela falta de resíduos de hidroxiprolina.

i. Tipos de Colágeno

No mínimo 19 tipos diferentes de colágeno foram caracterizados (Tabela 49.1). Embora cada tipo de colágeno seja encontrado somente em locais específicos no corpo, mais de um tipo pode estar presente na ECM em um determinado local. Os vários tipos de colágeno podem ser classificados como formadores de fibrilas (tipos I, II, III, V e XI), formadores de rede (tipos IV, VIII e X), aqueles que se associam a fibrilas de superfície (tipos IX, XII e XIV), aqueles que são proteínas transmembrana (tipos XIII e XVII), formadores de endostatinas (tipos XV e XVIII) e aqueles que formam filamentos em forma de contas periódicas (tipo VI).

Todos os colágenos contêm três cadeias polipeptídicas com no mínimo um trecho em tripla hélice. Os domínios helicoidais não-triplos podem ser curtos (como no colá-

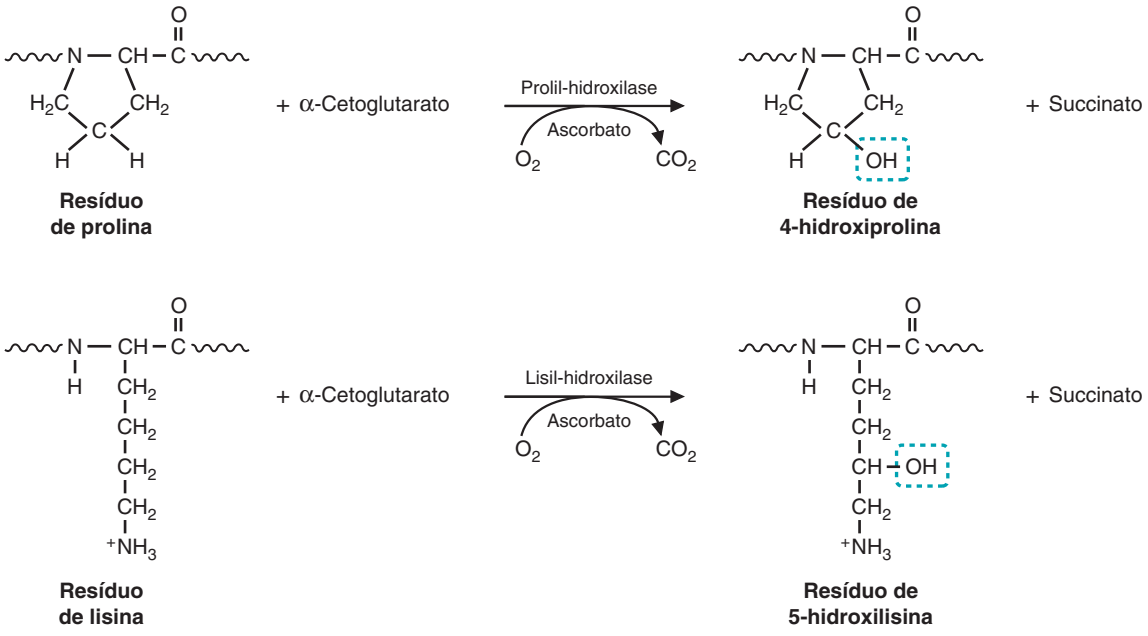


Figura 49.3 Hidroxilação de resíduos de prolina e de lisina do colágeno. Os resíduos de prolina e de lisina dentro das cadeias do colágeno são hidroxilados por reações que requerem vitamina C.

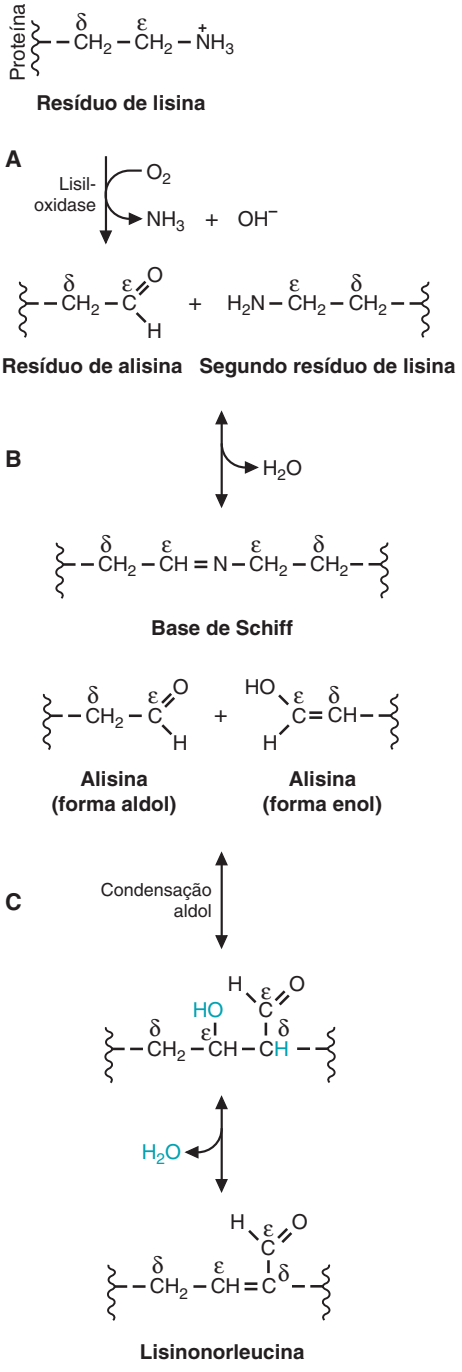


Figura 49.4 Formação de ligações cruzadas no colágeno. **A.** Resíduos de lisina são oxidados a alisina (um aldeído). A alisina pode reagir com um resíduo de lisina não-modificado para formar uma base de Schiff **(B)** ou dois resíduos de alisina podem sofrer uma condensação aldol **(C)**.

Tabela 49.1 Tipos de Colágeno

Tipo de Colágeno	Gene	Detalhes Estruturais	Localização
I	Col1A1-Col1A2	Fibrilas	Pele, tendão, osso, córnea
II	Col2A1	Fibrilas	Cartilagem, humor vítreo
III	Col3A1	Fibrilas	Pele, músculo, associa-se ao colágeno tipo I
IV	Col4A1-Col4A6	Não-fibrilar, colágeno em malha	Toda a lâmina basal (membranas basais)
V	Col5A1-Col5A3	Fibras pequenas, domínios N-terminais globulares	Associa-se ao colágeno tipo I na maioria dos tecidos intersticiais
VI	Col6A1-Col6A3	Microfibrilas com ambos os domínios N e C-terminais globulares	Associa-se ao colágeno tipo I na maioria dos tecidos intersticiais
VII	Col7A1	Um colágeno de ancoramento	Células epiteliais; junção dermo-epidermal
VIII	Col8A1-Col8A2	Não-fibrilar, colágeno em malha	Córnea e algumas células endoteliais
IX	Col9A1-Col9A3	Colágenos associados a fibrilas com tripla hélice interrompida (FACIT); domínio N-terminal globular	Associa-se ao colágeno tipo II em cartilagem e humor vítreo
X	Col10A1	Não-fibrilar, colágeno em malha com domínio C-terminal globular	Placa de crescimento, cartilagem hipertrófica e mineralizante
XI	Col11A1-Col11A3	Fibras pequenas	Cartilagem, humor vítreo
XII	Col12A1	FACIT	Interage com colágenos tipos I e II de tecidos moles
XIII	Col13A1	Colágeno transmembrana	Superfície celular, células epiteliais
XIV	Col14A1	FACIT	Tecidos moles
XV	Col15A1	Colágeno formador de endostatina	Células endoteliais
XVI	Col16A1	Outros	Ubíquo
XVII	Col17A1	Colágeno transmembrana	Superfície de células da epiderme
XVIII	Col18A1	Formador de endostatina	Células endoteliais
XIX	Col19A1	Outros	Ubíquo

Ver texto para as descrições das diferenças nos tipos de colágeno.

geno formador de fibrila) ou extensos, de tal forma que a tripla hélice é na verdade um componente secundário da estrutura completa (como os colágenos tipos XII e XIV). Os colágenos tipo FACIT (colágenos associados a fibrilas com tripla hélice interrompida, do inglês *fibril-associated collagens with interrupted triple helices*; colágenos tipos IX, XII e XIV) se associam a colágenos fibrilares, sem eles próprios formarem fibras. Os colágenos formadores de endostatina são clivados em seu C-terminal para formarem endostatina, um inibidor da angiogênese. Os colágenos formadores de rede (tipo IV) formam uma estrutura semelhante a uma malha, devido ao grande domínio não-colagenoso (aproximadamente 230 aminoácidos) na extremidade carboxiterminal (Figura 49.5). Finalmente, vários tipos de colágeno são na verdade proteínas transmembrana (XIII e XVII) encontradas na superfície de células epiteliais ou epidermais, as quais têm um papel em um grande número de processos celulares, incluindo adesão de componentes da ECM a células fixadas dentro dela.

Os colágenos tipos I, II e III formam fibrilas que se associam em grandes fibras insolúveis. As fibrilas (ver a seguir) são reforçadas por ligações cruzadas covalentes entre resíduos de lisina nas fibrilas adjacentes. O arranjo das fibrilas confere aos tecidos es-

As endostatinas bloqueiam a angiogênese (formação de novos vasos sangüíneos) por inibirem a migração das células endoteliais. Uma vez que a migração e a proliferação das células endoteliais são necessárias para a formação de novos vasos sangüíneos, a inibição dessa ação bloqueia a angiogênese. O crescimento tumoral é dependente de um suprimento de sangue; a inibição da angiogênese pode reduzir a proliferação da célula tumoral.

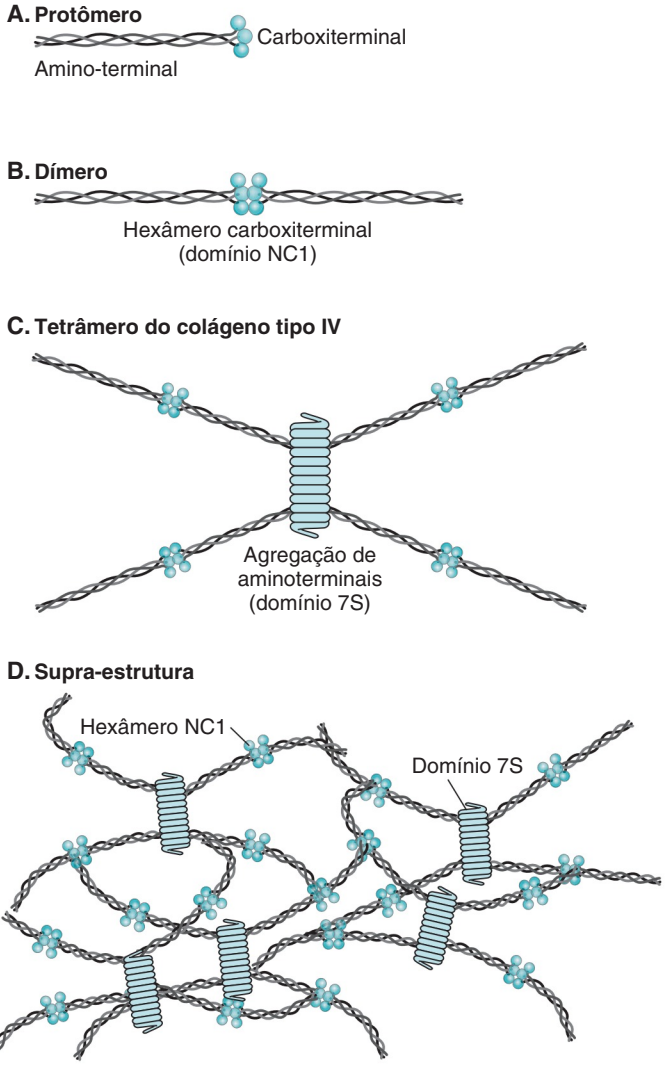


Figura 49.5 O colágeno tipo IV contém um domínio carboxiterminal **(A)** que forma dímeros de tropocolágeno (hexâmeros do colágeno, **(B)**. Quatro dímeros associam-se pelos domínios aminoterminais para formar um domínio 7S **(C)** e os tetrâmeros formam uma treliça **(D)**, a qual fornece suporte estrutural para a lâmina basal.

pecíficos suas características distintas. Os tendões, os quais ligam o músculo aos ossos, contêm fibrilas de colágeno alinhadas paralelamente ao longo do eixo longitudinal do tendão, dando a esse, então, uma extraordinária resistência elástica.

Os tipos de colágeno que não formam fibrilas desempenham uma série de papéis distintos. Colágenos associados a fibrilas ligam-se à superfície das fibrilas de colágeno e unem essas a outros componentes formadores da matriz. Os colágenos transmembrana formam fibrilas de ancoramento que ligam componentes da matriz extracelular ao tecido conjuntivo subjacente. Os colágenos formadores de rede (tipo IV) formam um colágeno flexível que é parte da membrana de embasamento e da lâmina basal que circundam muitas células.



Um tipo de osteogênese imperfeita (OI) é causado por uma mutação em um gene que codifica o colágeno. O fenótipo dos indivíduos afetados varia muito, dependendo da localização e do tipo da mutação. Ver Comentários Bioquímicos para maiores informações a respeito desse tipo de OI.

ii. Síntese e Secreção de Colágeno

O colágeno é sintetizado dentro do retículo endoplasmático como um precursor conhecido como pré-pró-colágeno. A pré-seqüência age como uma seqüência de sinal para a proteína e é clivada, formando pró-colágeno dentro do retículo endoplasmático, de onde ele é transportado para o aparelho de Golgi (Tabela 49.2). Três moléculas de pró-colágeno se associam pela formação de pontes dissulfeto intracadeia no carboxi-

Tabela 49.2 Passos Envolvidos na Biossíntese do Colágeno

Localização	Processo
Retículo endoplasmático rugoso	Síntese do pré-pró-colágeno; inserção de moléculas de pró-colágeno para dentro do lúmen do RE
Lúmen do RE	Hidroxilação de resíduos de prolina e lisina; glicosilação de resíduos de hidroxilisina selecionados
Lúmen do RE e aparelho de Golgi	Auto-associação da molécula de tropocolágeno, iniciada pela formação de pontes dissulfeto das extensões carboxiterminais; formação da tripla hélice
Vesícula secretora	Pró-colágeno preparado para secreção da célula
Extracelular	Clivagem dos pró-peptídeos, removendo as extensões aminoterminais e carboxiterminais e auto-associação das moléculas do colágeno em fibrilas e, então, em fibras

terminal; uma vez que essas pontes são formadas, as três moléculas podem se alinhar de forma adequada para iniciar a formação da tripla hélice. A tripla hélice se forma a partir do carboxiterminal em direção ao aminoterminal, gerando o tropocolágeno. Esse contém um segmento em tripla hélice entre duas extremidades globulares, as extensões amino e carboxiterminais. O tropocolágeno é secretado a partir da célula, as extensões são removidas usando proteases extracelulares, e o colágeno maduro se posiciona dentro da ECM. As fibrilas individuais do colágeno se alinham de uma forma altamente regular para formar a fibra do colágeno.

2. ELASTINA

A elastina é a principal proteína encontrada nas fibras elásticas, que estão localizadas na ECM do tecido conjuntivo de células do músculo liso, células endoteliais e microvasculares, condrócitos e fibroblastos. As fibras elásticas permitem aos tecidos se expandir ou se contrair; isso é de particular importância para os vasos sangüíneos, os quais devem se deformar e corrigir a forma repetitivamente em resposta a mudanças na pressão intravascular que ocorrem com a contração do ventrículo esquerdo do coração. Isso também é importante nos pulmões, os quais se distendem cada vez que o ar é inalado e retornam à sua forma original a cada expiração. Além da elastina, as fibras elásticas contêm microfibrilas, as quais são compostas de uma variedade de glicoproteínas ácidas, sendo as fibrilinas 1 e 2 as principais.

i. Tropoelastina

A elastina possui uma estrutura insolúvel, amorfa e altamente rica em ligações cruzadas. Seu precursor, a tropoelastina, é uma molécula de alta solubilidade, a qual é sintetizada no retículo endoplasmático rugoso (RER) para conseqüente secreção. A tropoelastina contém dois tipos de domínios alternantes. O primeiro domínio consiste em uma seqüência hidrofílica rica em resíduos de lisina e de alanina. O segundo domínio consiste em uma seqüência hidrofóbica rica em valina, prolina e glicina, a qual freqüentemente

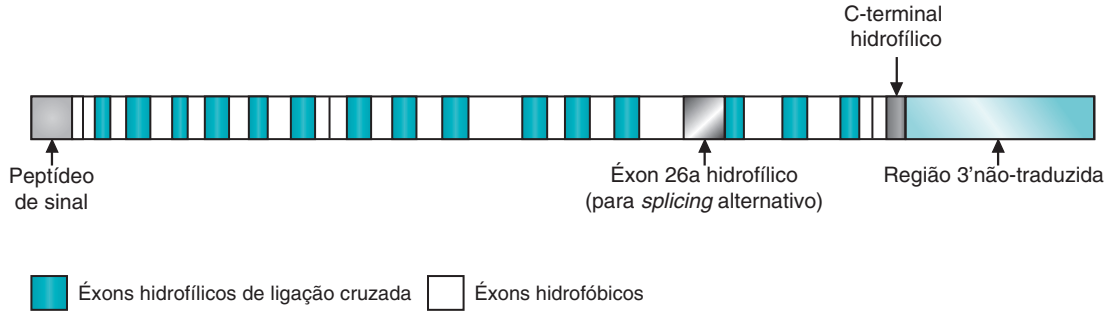


Figura 49.6 A estrutura do cDNA da elastina, indicando os domínios repetitivos de ligação cruzada e hidrofóbicos.

ocorre em repetições de VPGVG ou VGGVG. A proteína contém aproximadamente 16 regiões de cada domínio, alternados ao longo da proteína (Figura 49.6).

Na secreção celular, a tropoelastina se alinha com as microfibrilas, e a lisil-oxidase inicia as reações que formam ligações cruzadas das moléculas de elastina, usando resíduos de lisina de dentro dos domínios alternantes hidrofílicos das proteínas. Essa reação de ligação cruzada é a mesma que ocorre no colágeno. Nessa reação, os resíduos de lisina 2, 3 ou 4 fazem ligação cruzada para formar uma estrutura estável. O resultado líquido das ligações cruzadas é a geração de uma malha fibrosa que envolve as células.

ii. Propriedades Elásticas da Elastina

As fibras de elastina têm habilidade em se esticar e, então, corrigir a forma sem necessitar de uma fonte de energia evidente para fazer isso. O mecanismo pelo qual o estiramento e o relaxamento ocorrem é ainda controverso, mas relaciona-se com os princípios básicos de enovelamento protéico, descritos no Capítulo 7. Quando as fibras de elastina são distendidas (como quando ocorre uma respiração e o pulmão é inflado com ar), a estrutura amorfa da elastina é distendida. Esse estiramento expõe as regiões hidrofóbicas repetitivas da molécula ao meio aquoso. Isso por sua vez leva a uma diminuição da entropia da água, uma vez que as moléculas de água precisam se rearranjar para formar "gaiolas" ao redor de cada domínio hidrofóbico. Quando essa força de distensão dentro do pulmão é removida (p. ex., quando o indivíduo exala), a elastina retorna a sua estrutura original, uma vez que o aumento da entropia que ocorre devido à água não é mais necessário para formar "gaiolas" ao redor dos domínios hidrofóbicos. Então, o efeito hidrofóbico é a força primária que permite que essa estrutura distendida corrija a sua forma. A elastina é inerentemente estável, com uma meia-vida de mais de 70 anos.

3. LAMININA

Depois do colágeno tipo IV, a laminina é a proteína mais abundante na lâmina basal. A laminina fornece suporte estrutural adicional para os tecidos pela sua capacidade de se ligar ao colágeno tipo IV, a outras moléculas presentes na ECM e a proteínas associadas à superfície celular (as integrinas, ver Seção D).

i. Estrutura da Laminina

A laminina é uma proteína heterotrimérica, em sua maior parte, apresentando uma forma semelhante a uma cruz (Figura 49.7). O trímero é composto de subunidades α, β e γ. Existem cinco possíveis proteínas α (designadas α1 a α5), três diferentes versões de subunidade β (β1 a β3) e três diferentes formas γ (γ1 a γ3). Então, há um potencial para a formação de até 45 combinações diferentes para essas três subunidades. Entretanto, somente 12 foram descobertas (designadas lamininas 1 a 12). A laminina 1, composta de α1β1γ1, é típica dessa classe de proteínas. A principal característica da estrutura da laminina é uma hélice α espiralada, a qual une as três subunidades juntas e forma uma haste rígida. Todas as três cadeias têm extensões na extremidade aminoterminal. Somente a cadeia α tem uma extensão carboxiterminal significativa anterior à estrutura semelhante a uma haste. Essa é a extensão da laminina que permite a ela se ligar a outros componentes dentro da ECM e fornecer estabilidade para a estrutura. Os componentes da ECM que são ligados pela laminina incluem colágeno, lipídeos sulfatados e proteoglicanos.

ii. Biossíntese da Laminina

De forma semelhante a outras proteínas secretadas, a laminina é sintetizada com uma seqüência-líder destinando as três cadeias para o retículo endoplasmático. A associação de cadeias ocorre dentro do aparelho de Golgi, antes da secreção para fora da célula. Depois de a laminina ter sido secretada pela célula, as extensões aminoterminais promovem a auto-associação, bem como a ligacão a outros componentes da ECM. As ligações dissulfeto são formadas para estabilizar o trímero, porém ocorrem muito menos processamentos pós-traducionais na laminina do que no colágeno e na elastina.

A estenose aórtica supravalvular (SVAS, do inglês *supravalvular aortic stenosis*) resulta de uma insuficiência de elastina nas paredes dos vasos, levando a um estreitamento das grandes artérias elásticas. A teoria atual sugere que os níveis de elastina nas paredes dos vasos sangüíneos possam regular o número de anéis de células musculares lisas que circundam o vaso. Se os níveis de elastina são baixos, ocorre uma hipertrofia do músculo liso, levando ao estreitamento e à estenose da artéria.

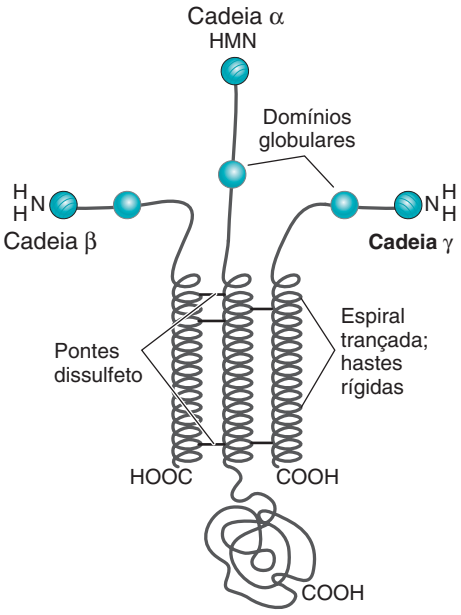


Figura 49.7 A estrutura da laminina.

Defeitos na estrutura das lamininas 5 ou 6 (proteínas que contribuem para a coesão da derme e da epiderme) levam a uma doença denominada epidermólise bolhosa juncional (JEB, do inglês *junctional epidermolysis bulosa*). Nesse distúrbio pode ocorrer uma formação espontânea grave de bolhas na pele e nas membranas mucosas. Uma forma grave da doença, a JEB *gravis*, com freqüência é fatal no início da vida. A morte ocorre como um resultado da formação de bolhas epiteliais nos sistemas respiratório, digestivo e geniturinário.

A distrofia muscular congênita (CMD, do inglês *congenital muscular dystrophy*) resulta de um defeito na laminina 2, a qual é um componente da ponte que liga o citoesqueleto da célula muscular à matriz extracelular. A perda dessa ponte dispara a apoptose da célula muscular, que resulta em fraqueza muscular.

A ECM não é simplesmente uma cola que mantém as células unidas; ela também serve para impedir seu movimento para outros locais e para prevenir que moléculas grandes e outras partículas, como microrganismos, alcancem células contíguas ou distantes. Essa propriedade restrita da matriz tem importância médica. Por exemplo, as infecções se disseminam, em parte, pois o agente infeccioso altera a capacidade de "contensão" da ECM. Células tumorais que se metastatizam (migram para outros tecidos) podem fazer isso somente por alteração da integridade da matriz. Doenças como artrite reumatóide (uma destruição auto-imune dos tecidos articular e periarticular) e osteoartrite (doença degenerativa das articulações freqüentemente associada ao envelhecimento) envolvem dano da capacidade funcional da matriz. Alterações das características estruturais da matriz do glomérulo renal podem permitir que proteínas sejam excretadas para dentro da urina, uma indicação de declínio inexorável da função renal. Defeitos genéticos podem fazer com que componentes da matriz sejam estrutural e funcionalmente anormais, resultando em distúrbios do tecido conjuntivo, como a síndrome de Ehlers-Danlos (causada por uma série de mutações que afetam genes específicos do colágeno) e a síndrome de Marfan (um defeito na proteína fibrilina, no qual mais de 330 mutações diferentes foram identificadas, várias das quais produzindo fenótipos diferentes). Deficiências de enzimas lisossomais envolvidas na degradação normal de moléculas da matriz resultam em doenças como as mucopolissacaridoses.

Os principais componentes da matriz da cartilagem são o colágeno e os proteoglicanos, ambos produzidos e degradados pelos condrócitos que estão fixados nessa matriz. Um ataque auto-imune nas proteínas articulares altera o balanço entre a degradação e a formação da cartilagem. A perda resultante da organização da cartilagem acompanhada por uma resposta inflamatória é responsável pelos sintomas apresentados por **Sis Lupus**.

O componente de colágeno forma uma rede de fibrilas finas que dão forma à cartilagem. Os proteoglicanos fixados na cartilagem são os responsáveis pela sua compressibilidade e deformabilidade.

B. Proteoglicanos

As proteínas estruturais fibrosas da ECM estão embebidas em géis formados de proteoglicanos. Os proteoglicanos consistem de polissacarídeos chamados de glicosaminoglicanos (GAGs) ligados a uma proteína central. Os GAG são compostos de unidades repetitivas de dissacarídeos. Um dos açúcares do dissacarídeo é N-acetilglicosamina ou N-acetilgalactosamina, e o segundo em geral é ácido (ácido glicurônico ou ácido idurônico). Esses açúcares são modificados pela adição de grupos sulfato ao açúcar original. Um proteoglicano pode conter mais de 100 cadeias de GAG, e seu peso pode consistir-se de mais de 95% de oligossacarídeos.

Os grupos sulfato e carboxilato carregados negativamente nos proteoglicanos ligam íons carregados positivamente e formam pontes de hidrogênio com moléculas de água confinadas, criando, assim, um gel hidratado. O gel fornece um suporte mecânico flexível para a ECM. O gel também age como um filtro que permite a difusão de íons (p. ex., Ca^{2+}), H_2O e outras moléculas pequenas, mas diminui a difusão de proteínas e o movimento de células. O hialuronan é o único GAG que ocorre como uma cadeia de polissacarídeo longa única, e é o único que não é sulfatado.

1. ESTRUTURA E FUNÇÃO DOS PROTEOGLICANOS

Os proteoglicanos são encontrados nos tecidos conjuntivos intersticiais, como fluido sinovial de articulações, humor vítreo do olho, paredes arteriais, osso, cartilagem e córnea. Eles são os principais componentes da ECM nesses tecidos. Os proteoglicanos interagem com uma variedade de proteínas da matriz, como colágeno e elastina, fibronectina (a qual está envolvida na migração e na adesão celulares) e laminina.

Os proteoglicanos são proteínas que contêm várias cadeias de GAG (anteriormente chamadas de mucopolissacarídeos). Os glicosaminoglicanos são longos polissacarídeos não-ramificados compostos de unidades repetitivas de dissacarídeos (Figura 49.8). Os dissacarídeos repetitivos normalmente contêm um ácido idurônico ou urônico e uma hexosamina e com freqüência são sulfatados. Conseqüentemente, eles carregam uma carga negativa, são hidratados e agem como lubrificantes. Após a síntese, os proteoglicanos são secretados das células; portanto, agem extracelularmente. Uma vez que as longas cadeias de glicosaminoglicanos carregadas negativamente se repelem umas às outras, os proteoglicanos ocupam um espaço muito grande e agem como "peneiras moleculares", determinando quais substâncias entram ou saem das células (Tabela 49.3). Suas propriedades também dão elasticidade e um grau de flexibilidade a substâncias como cartilagens, permitindo que ocorra a compressão e a reexpansão das moléculas.

Existem no mínimo sete tipos de glicosaminoglicanos, os quais diferem nos monossacarídeos presentes em suas unidades repetitivas de dissacarídeos – condroitin-sulfato, dermatan-sulfato, heparina, heparan-sulfato, ácido hialurônico e queratan-sulfatos I e II. Com exceção do ácido hialurônico, os glicosaminoglicanos são ligados a proteínas, normalmente ligados covalentemente a resíduos de serina ou de treonina (Figura 49.9). O queratan-sulfato I é ligado à asparagina.

2. SÍNTESE DE PROTEOGLICANOS

O componente protéico dos proteoglicanos é sintetizado no RE. Ele entra no lúmen dessa organela, onde ocorrem as glicosilações iniciais. Os UDP-açúcares servem como os

As longas cadeias laterais de polissacarídeos dos proteoglicanos nas cartilagens contêm vários grupos aniônicos. Essa alta concentração de cargas negativas atrai cátions que criam uma alta pressão osmótica dentro da cartilagem, drenando água para dentro desse tecido conjuntivo especializado e colocando a rede de colágeno sob tensão. No equilíbrio, a tensão resultante se equilibra à pressão de expansão causada pelos proteoglicanos. Os papéis complementares dessa organização macromolecular dão à cartilagem a sua elasticidade. A cartilagem pode, então, resistir a uma carga compressiva de peso, suportando-a e reexpandindo-se para sua dimensão prévia quando essa carga é retirada.

Tabela 49.3 Algumas Funções Específicas dos Glicosaminoglicanos e Proteoglicanos

Glicosaminoglicanos	Função
Ácido Hialurônico	Migração celular na: Embriogênese Morfogênese Cicatrização
Proteoglicanos de condroitin-sulfato	Formação de osso, cartilagem e córnea
Proteoglicanos de queratan-sulfato	Transparência da córnea
Proteoglicanos de dermatan-sulfato	Transparência da córnea Ligam a LDL à parede do vaso
Heparina	Anticoagulante (liga antitrombina III) Causa a liberação da lipoproteína lipase da parede dos capilares
Heparan-sulfato (sindecan)	Componente dos fibroblastos da pele e parede da aorta; comumente encontrado na superfície celular

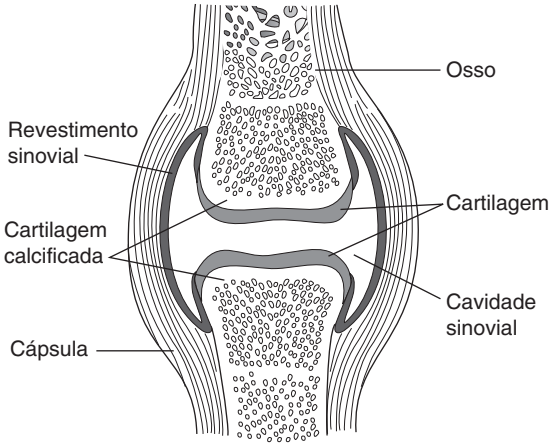
precursores que adicionam unidades de açúcar, uma por vez, primeiramente à proteína e, em seguida, à extremidade não-redutora da cadeia de carboidrato em crescimento (Figura 49.10). A glicosilação ocorre inicialmente no lúmen do RE e subseqüentemente no complexo de Golgi. As glicosiltransferases, as enzimas que adicionam açúcares à cadeia, são específicas para o açúcar que está sendo adicionado, o tipo de ligação que é formado e o açúcar já presente na cadeia. Uma vez que açúcares iniciais são ligados à proteína, a ação alternada de duas glicosiltransferases adiciona os açúcares dos dissacarídeos repetitivos na cadeia de glicosaminoglicanos em crescimento. A sulfatação ocorre após a adição do açúcar. O 3'-fosfoadenosina-5'-fosfossulfato (PAPS), também chamado de sulfato ativo, fornece os grupos sulfato (ver Figura 33.34). Uma epimerase converte os resíduos de ácido glicurônico em resíduos de ácido idurônico.

Após a síntese, o proteoglicano é secretado da célula. Sua estrutura lembra uma escova de garrafa, com várias cadeias de glicosaminoglicanos se estendendo a partir da proteína central (Figura 49.11). Os proteoglicanos podem formar grandes agregados, ligados não-covalentemente a uma proteína "ligadora" ao ácido hialurônico (Figura 49.12). Os proteoglicanos interagem com a proteína de adesão, fibronectina, a qual é ligada à proteína integrina da membrana celular. Fibras com ligações cruzadas do colágeno também se associam a esse complexo, formando a ECM (Figura 49.13).

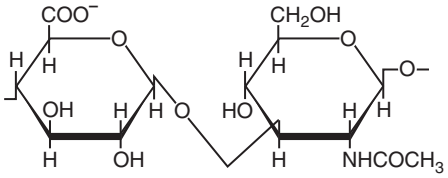


As propriedades funcionais de uma articulação normal dependem, em parte, da presença de uma camada maleável, deformável, comprimível e bem-lubrificada de tecido cartilaginoso cobrindo as extremidades de ossos longos que constituem as articulações.

No caso de **Sis Lupus**, o processo patológico que caracteriza o LES rompe a integridade estrutural e funcional de sua cartilagem articular (juntas).

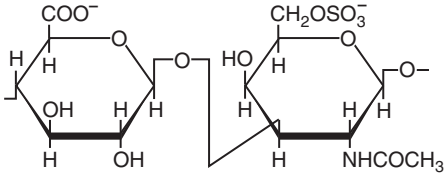


Hialuronato



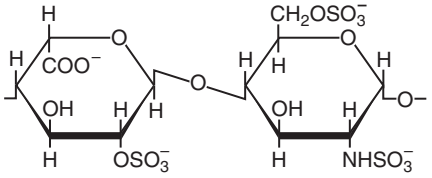
Ácido glicurônico β(1→3) ***N*-Acetil-glicosamina**

Condroitin-6-sulfato



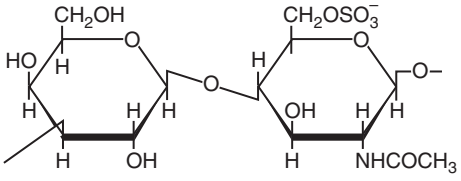
Ácido glicurônico β(1→3) ***N*– Acetilga-lactosamina**

Heparina



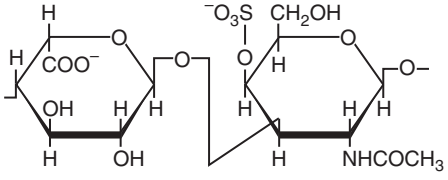
Ácido glicurônico α(1→4) **Glicosamina**

Queratan-sulfato



Galactose β(1→4) ***N*– Acetilgli-cosamina**

Dermatan-sulfato



Ácido idurônico β(1→3) ***N*– Acetilga-lactosamina**

Figura 49.8 Dissacarídeos repetitivos de alguns glicosaminoglicanos. Esses dissacarídeos repetitivos normalmente contêm um açúcar N-acetilado e um ácido urônico, o qual em geral é o ácido glicurônico ou idurônico. Grupos sulfato com freqüência estão presentes, mas não estão incluídos nos nomes dos açúcares nessa figura.

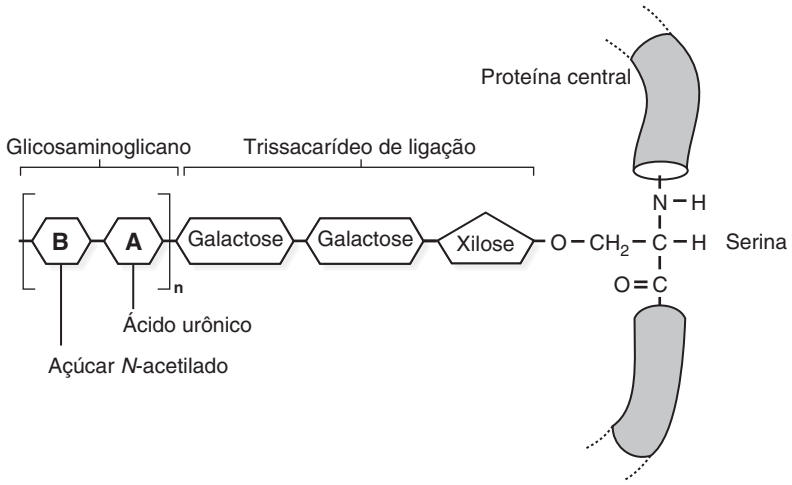


Figura 49.9 Ligação de glicosaminoglicanos a proteínas. Os açúcares são ligados a um resíduo de serina ou de treonina da proteína. A e B representam os açúcares de dissacarídeos repetitivos.

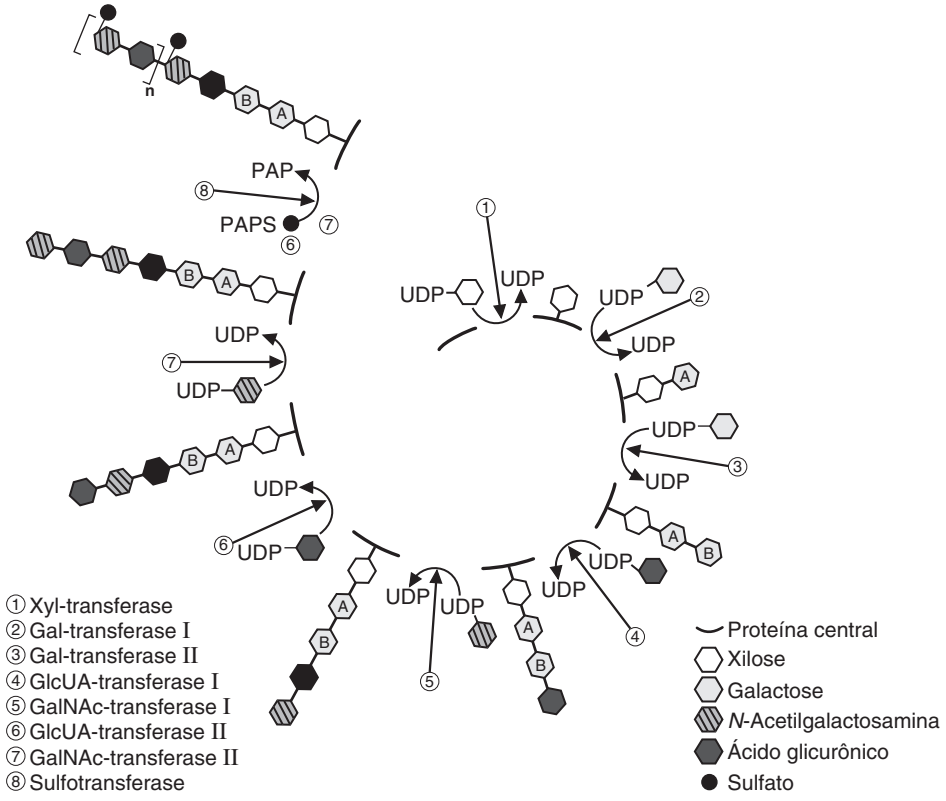


Figura 49.10 Síntese de condroitin-sulfato. Açúcares são adicionados à proteína, um de cada vez, com UDP-açúcares servindo como os precursores. Inicialmente, um resíduo de xilose é adicionado a uma serina da proteína. Então dois resíduos de galactose são adicionados, seguidos por um ácido glicurônico (GlcUA) e uma *N*-acetilgalactosamina (GalNAc). Adições subseqüentes ocorrem por ações alternadas de duas enzimas que produzem as unidades repetitivas de dissacarídeos. Uma enzima (6) adiciona resíduos GlcUA, e a outra (7) adiciona GalNAc. Quando as cadeias crescem, grupos sulfato são adicionados pelo fosfoadenosina-fosfossulfato (PAPS). Modificada de Roden L. In: Fishman WH, ed. Metabolic Conjugation and Metabolic Hydrolysis, vol II. Orlando, FL: Academic Press, 1970:401.

Tabela 49.4 Enzimas Deficientes nas Mucopolissacaridoses

Doença	Deficiência Enzimática	Produtos Acumulados
Hunter	Iduronato-sulfatase	Heparan-sulfato, Dermatan-sulfato
Hurler + Scheie	α-L-Iduronidase	Heparan-sulfato, Dermatan-sulfato
Maroteaux-Lamy	*N*-Acetilgalactosamina-sulfatase	Dermatan-sulfato
Mucopolissacaridose VII	β-Glicuronidase	Heparan-sulfato, Dermatan-sulfato
Sanfilippo A	Heparan-sulfamidase	Heparan-sulfato
Sanfilippo B	*N*-Acetilglucosaminidase	Heparan-sulfato
Sanfilippo D	*N*-Acetilglicosamina-6-sulfatase	Heparan-sulfato

Esses distúrbios compartilham várias características clínicas, embora existam variações significativas entre as doenças, e mesmo dentro de um mesmo distúrbio, com base na quantidade de atividade residual. Na maioria dos casos, múltiplos órgãos são afetados (com osso e cartilagem sendo alvos primários). Em alguns distúrbios ocorre um envolvimento neuronal significativo, levando ao retardo mental.

3. DEGRADAÇÃO DOS PROTEOGLICANOS

As enzimas lisossomais degradam os proteoglicanos, as glicoproteínas e os glicolipídeos, os quais são conduzidos para dentro da célula pelo processo de endocitose. Os lisossomas se fundem com as vesículas endocíticas, e as proteases lisossomais digerem o componente protéico. O componente carboidrato é degradado por glicosidases lisossomais.

Os lisossomas contêm tanto endoglicosidases quanto exoglicosidases. As endoglicosidases clivam as cadeias em oligossacarídeos menores. Em seguida, as exoglicosidases, específicas para cada tipo de ligação, removem os resíduos de açúcares, um de cada vez, a partir das extremidades não-redutoras. Deficiências de glicosidases lisossomais causam o acúmulo de carboidratos parcialmente degradados, provenientes de proteoglicanos, glicoproteínas e glicolipídeos, dentro de vesículas envolvidas por membranas no interior das células. Esses "corpos residuais" podem causar um grande aumento do órgão com o prejuízo de suas funções.

No distúrbio clínico conhecido como mucopolissacaridose (causada pelo acúmulo de glicosaminoglicanos parcialmente degradados), podem ocorrer deformidades do esqueleto (Tabela 49.4). O retardo mental com freqüência acompanha essas alterações de esqueleto.

II. INTEGRINAS

As integrinas são os principais receptores celulares para proteínas da ECM e fornecem uma ligação entre o citoesqueleto interno das células (principalmente o sistema de microfilamentos de actina) e as proteínas extracelulares, como fibronectina, co-

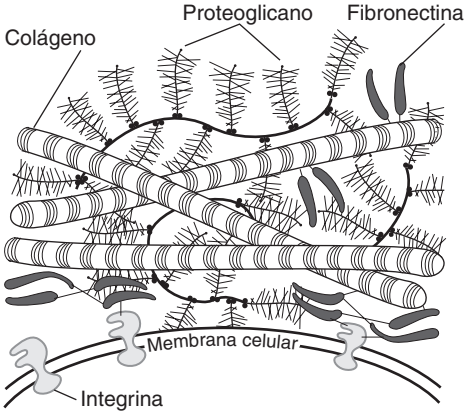


Figura 49.13 Interações entre a membrana celular e os componentes da matriz extracelular.

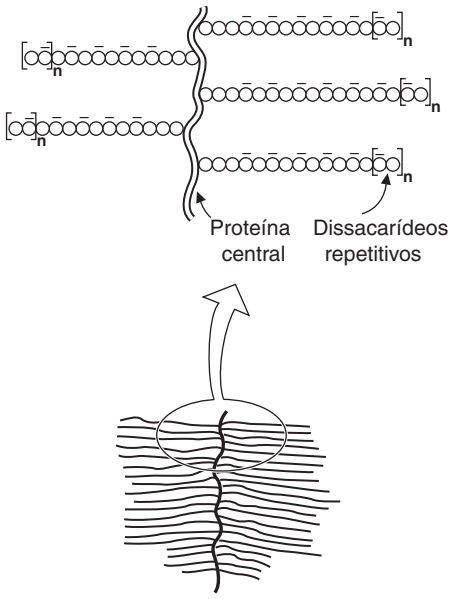


Figura 49.11 Estrutura em "escova de garrafa" de um proteoglicano com um segmento ampliado.

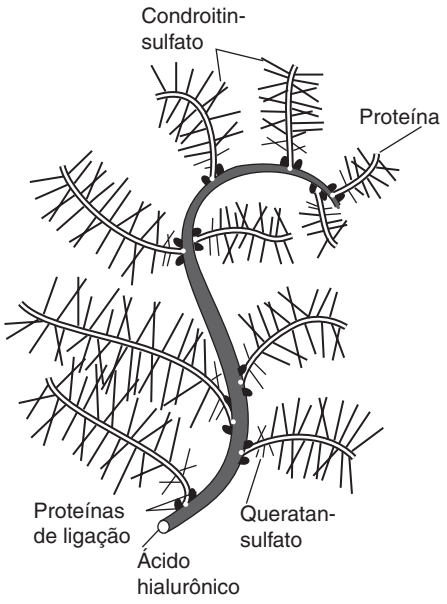


Figura 49.12 Agregado de proteoglicano.

lágeno e laminina. As integrinas consistem em uma subunidade α e uma β. Existem 18 produtos gênicos distintos α e 8 β. Somente 24 dímeros α/β foram descobertos. Camundongos foram modificados geneticamente para se tornarem incapazes de expressar vários genes da integrina (um gene de cada vez), e os fenótipos desses camundongos *knockout* variam desde a letalidade embriônica (um exemplo é o gene α5) até defeitos praticamente imperceptíveis (como exemplificado pelo gene α1). Além do ancoramento do citoesqueleto celular à ECM, fornecendo um meio estável para a célula, as integrinas também estão envolvidas em uma ampla variedade de opções de sinalização celular.

Certas integrinas, como aquelas associadas às células brancas do sangue, normalmente estão inativas, uma vez que as células brancas devem circular livremente na circulação sangüínea. Entretanto, se ocorre uma infecção, as células localizadas na área da infecção liberam citocinas, as quais ativam as integrinas das células brancas do sangue, permitindo que elas se liguem às células do endotélio vascular (adesão de leucócitos) no local da infecção. A deficiência de adesão de leucócitos (LAD, do inglês *leukocite adhesion deficiency*) é um distúrbio genético que resulta de mutações na integrina β2, de forma que os leucócitos não podem ser recrutados para os sítios de infecção. Por outro lado, fármacos estão atualmente sendo desenvolvidos para bloquear integrinas β2 ou α4 (em linfócitos) para tratar doenças inflamatórias e auto-imunes por interferirem na resposta de células brancas normais a citocinas.

As integrinas podem ser ativadas por mecanismos *inside-out* (de dentro para fora), por meio dos quais eventos de sinalização intracelular ativam a molécula, ou mecanismos *outside-in* (de fora para dentro), nos quais um evento de ligação com uma porção extracelular da molécula inicia os eventos de sinalização intracelulares. Para aquelas integrinas que ligam células a componentes da ECM, a ativação de integrinas específicas pode resultar na migração de células afetadas através da ECM. O mecanismo opera durante o crescimento e a diferenciação celular e em processos de metástase de células malignas para tecidos vizinhos.



A fibronectina foi inicialmente descoberta como uma grande proteína externa sensível à transformação (LETS, do inglês *large external transformation-sensitive*), a qual foi perdida quando os fibroblastos foram transformados em células tumorais. Várias células tumorais secretam quantidades menores do que o normal de material protéico de adesão, o que permite mais movimentos dentro do ambiente da matriz. Isso, por sua vez, aumenta o potencial para as células tumorais deixarem os seus locais de origem e se alojarem em outro local dentro do corpo (metástase).



Uma vez que as MMP degradam componentes da matriz extracelular (ECM), sua expressão é importante para permitir a migração celular e a remodelação tecidual durante o crescimento e a diferenciação. Além disso, vários fatores de crescimento se ligam a componentes da ECM e, como um componente ligado, não exibem sua atividade normal promotora de crescimento. A destruição da ECM pelas MMP libera esses fatores de crescimento, permitindo, assim, que eles se liguem aos receptores de superfície celular para iniciar o crescimento dos tecidos. Portanto, a expressão coordenada das MMP é necessária para o movimento e o crescimento celulares apropriados. As células cancerosas que se metastatizam requerem uma ampla remodelação da ECM e em geral usam a atividade de MMP para se disseminar por todo o corpo.

III. PROTEÍNAS DE ADESÃO

As proteínas de adesão são encontradas na ECM e ligam integrinas a componentes da ECM. As proteínas de adesão, das quais a fibronectina é um dos principais exemplos, são grandes proteínas multidomínio que permitem a ligação de vários componentes diferentes simultaneamente. Além de sítios de ligação à integrina, a fibronectina contém sítios de ligação para colágeno e glicosaminoglicanos. Quando a molécula de integrina está ligada às proteínas do citoesqueleto intracelular, as proteínas de adesão fornecem uma ponte entre o citoesqueleto de actina das células e a posição das células dentro da ECM. A perda da capacidade das moléculas de adesão pode levar a movimentos celulares tanto fisiológicos quanto anormais. O *splicing* alternativo de fibronectina permite que várias formas diferentes dessa proteína de adesão sejam expressas, incluindo uma forma solúvel (ao contrário de formas associadas à célula), a qual é encontrada no plasma. O significado metabólico desses produtos permanece por ser determinado.

IV. METALOPROTEINASES DE MATRIZ

A ECM contém uma série de proteases conhecidas como metaloproteinases de matriz ou MMP (do inglês *matrix metalloproteinases*). Essas são proteases contendo zinco que usam esse metal para posicionar apropriadamente a água para participar em uma reação proteolítica. Existem no mínimo 23 tipos diferentes de MMP humanas, e elas podem clivar todas as proteínas encontradas na ECM, incluindo colágeno e laminina.

Um pró-peptídeo está presente nas MMP recém-sintetizadas que contém um resíduo de cisteína crítico. O resíduo de cisteína no pró-peptídeo liga o átomo de zinco no sítio ativo da protease e impede que o pró-peptídeo exiba atividade proteolítica. A remoção do pró-peptídeo é necessária para ativar as MMP. Uma vez ativadas, certas MMP podem ativar outras formas de MMP.

A regulação da atividade da MMP é muito complexa. Esses processos regulatórios incluem regulação transcricional, ativação proteolítica, inibição pela proteína α_2-macroglobulina circulante e regulação por uma classe de inibidores conhecidos como

inibidores teciduais de metaloproteinases ou TIMP (do inglês *tissue inhibitors of metalloproteinases*). É importante que a síntese de TIMP e MMP seja coordenadamente regulada, uma vez que a dissociação de suas expressões pode facilitar vários distúrbios clínicas, como certas formas de câncer e aterosclerose.

COMENTÁRIOS CLÍNICOS

A cartilagem articular é um tecido vivo com um tempo de *turnover* determinado por um balanço entre a velocidade de sua síntese e a de sua degradação (Figura 49.14). Os condrócitos que estão localizados na matriz da cartilagem intra-articular participam na síntese e na degradação enzimáticas. A última ocorre como resultado da quebra de agregados proteoglicanos por enzimas produzidas e secretadas pelos condrócitos.

No LES, a condição que afeta **Sis Lupus**, esse balanço delicado está rompido em favor da degradação enzimática, levando à dissolução da cartilagem articular e, com isto, à perda de suas funções amortecedoras cruciais. Os mecanismos subjacentes responsáveis por esse processo no LES incluem a produção de anticorpos direcionados contra proteínas celulares específicas na cartilagem bem como em outros tecidos intra-articulares. Dessa forma, as proteínas celulares servem como os "antígenos" contra os quais esses anticorpos reagem. Nesse sentido, o LES é uma doença "auto-imune" devido ao fato de os anticorpos serem produzidos pelo hospedeiro e atacarem as "próprias" proteínas. Esse processo estimula a liberação local de citocinas, como a interleucina-1 (IL-1), a qual aumenta a atividade proteolítica de condrócitos, causando mais perda de proteínas articulares, como os proteoglicanos. A cascata inflamatória associada é a responsável pela dor articular de **Sis Lupus.**

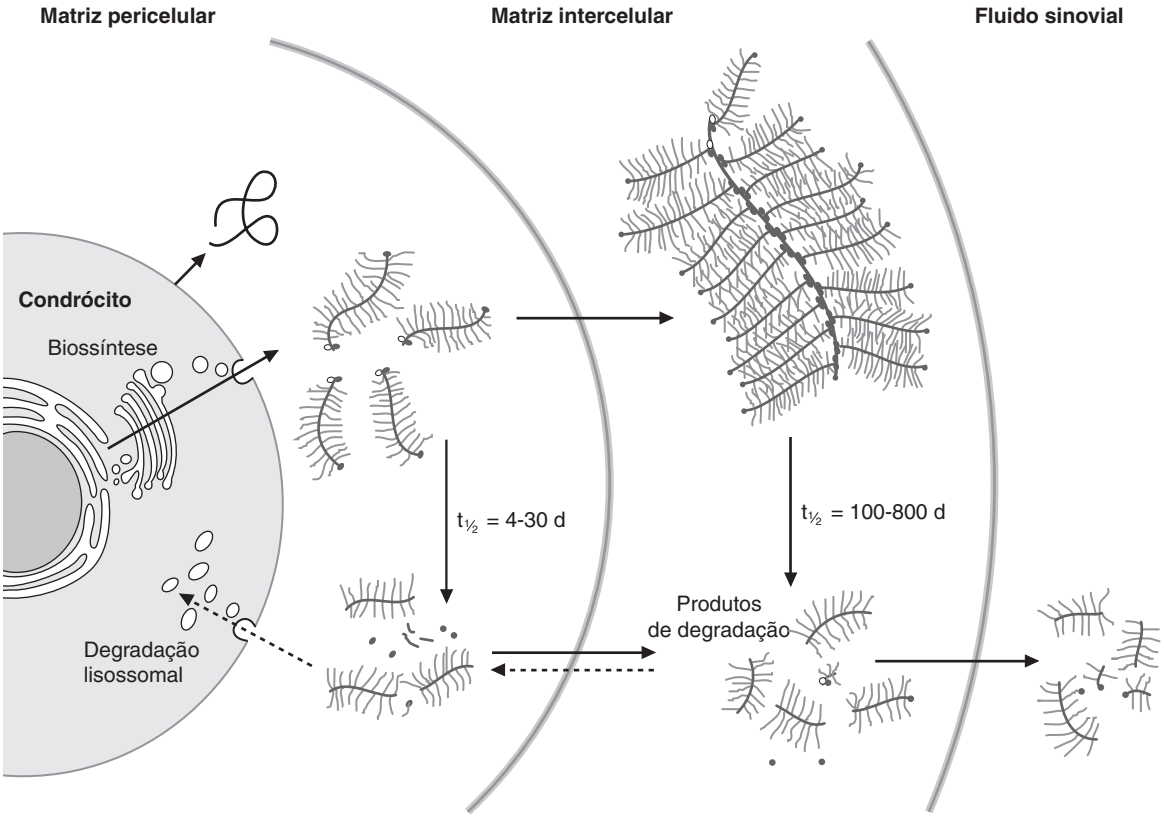


Figura 49.14 Síntese e degradação de proteoglicanos pelos condrócitos. De Cohen RD, et al. The Metabolic Basics of Acquired Disease, vol 2. London: Bailliere Tindall, 1990:1859.

As complicações microvasculares do diabetes melito tipo 1 e tipo 2 envolvem os pequenos vasos da retina (retinopatia diabética), os capilares glomerulares renais (nefropatia diabética) e os vasos que suprem sangue para os nervos periféricos (neuropatia autonômica). A falta de controle adequado do estado diabético de **Ann Sulin** durante muitos anos causou uma perda progressiva da função de filtração de aproximadamente 1,5 milhão de unidades glomerular capilar-mesangial que estão presentes em seus rins.

É postulado que a hiperglicemia crônica seja um dos principais iniciadores metabólicos ou indutores de doença microvascular diabética, incluindo aquelas alterações glomerulares renais que freqüentemente levam à doença renal terminal ("toxicidade da glicose").

Para uma revisão completa dos quatro mecanismos moleculares postulados, pelos quais a hiperglicemia crônica causa essas alterações vasculares, é sugerido ao leitor uma excelente revisão de Sheetz e King (ver Leituras Sugeridas).

Independentemente de qual dos mecanismos postulados (o aumento do fluxo pela aldose-redutase ou rota do poliol [ver Capítulo 30], a geração de produtos finais da glicosilação avançada [AGE, do inglês *advanced glycosylation end products*], a produção de intermediários reativos de oxigênio [ver Capítulo 24] ou a ativação excessiva de proteína-quinase C [ver Capítulo 18]) será finalmente demonstrado ser o mecanismo causador predominante, cada um pode levar à produção de moléculas de sinalização críticas intracelulares e extracelulares (p. ex., citocinas). Essas, por sua vez, podem causar alterações patológicas dentro do aparelho de filtração glomerular que reduzem a função renal. Essas alterações incluem: (1) síntese aumentada de colágeno tipo IV, fibronectina e alguns dos proteoglicanos, fazendo com que a membrana basal glomerular (MBG; Figura 49.15) se torne difusamente espessada através da rede capilar glomerular. Esse espessamento de membrana altera certas propriedades de filtração específicas da MBG, impedindo que alguns metabólitos que normalmente entram na urina a partir do sangue capilar glomerular (através do endotélio capilar fenestrado) o façam (uma diminuição da taxa de filtração glomerular ou TFG). Como resultado, essas substâncias potencialmente tóxicas se acumulam no sangue e contribuem para a apresentação clínica geral de uremia progressiva. Apesar do espessamento da MBG, essa membrana se torna "permeável" para algumas macromoléculas (p. ex., albumina) que normalmente não entrariam

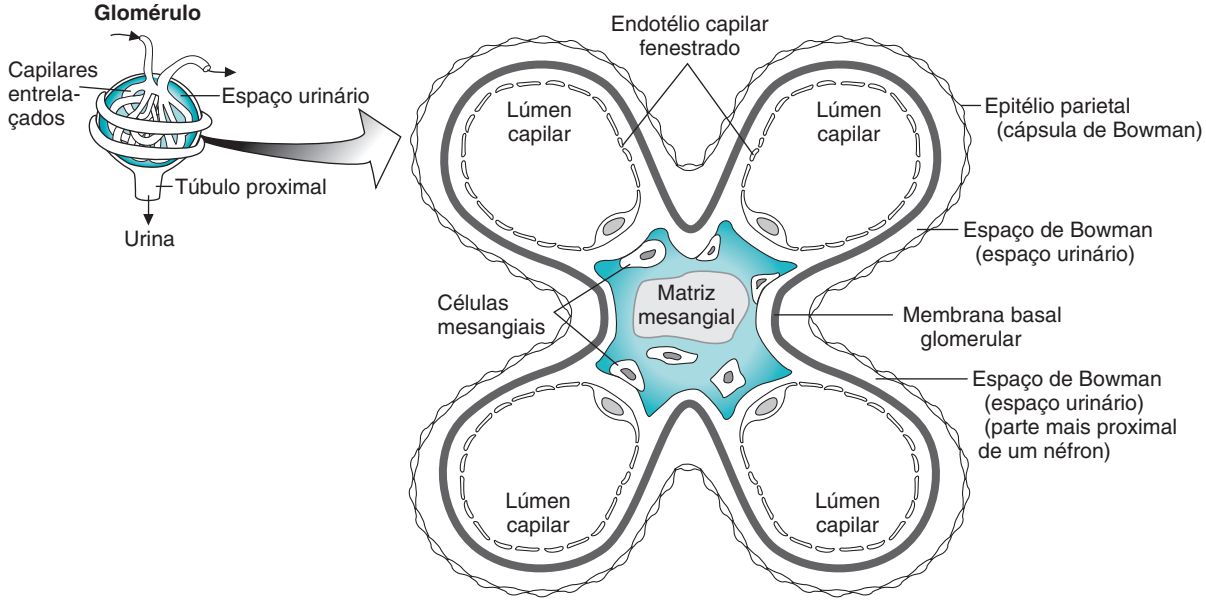


Figura 49.15 Um corte de um glomérulo renal normal mostrando quatro tufos capilares levando o sangue para os glomérulos para filtração através do endotélio capilar fenestrado e, então, através da membrana basal glomerular para dentro do espaço de Bowman para formar urina. A urina, então, entra no túbulo proximal do néfron. Essa filtração remove do sangue produtos metabólicos finais potencialmente tóxicos. O mesângio, por contração e expansão, controla a eficiência dessas funções de filtração e excreção por regular a pressão de filtração hidráulica dentro do glomérulo. Uma membrana basal intacta deve estar presente para manter a integridade do processo de filtração.

na urina a partir dos capilares glomerulares (microalbuminúria). Mecanismos sugeridos para esse aumento de permeabilidade ou escape incluem síntese reduzida do proteoglicano específico, heparan-sulfato, bem como um aumento da produção pela membrana basal de fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF, do inglês *vascular endothelium growth factor*), um conhecido fator angiogênico e de permeabilidade e expansão de matriz extracelular no mesângio. O mesângio consiste em tecido especializado contendo colágeno, proteoglicanos e outras macromoléculas que circundam os capilares glomerulares e que, por suas propriedades semelhantes a gel e filtro, determinam, em parte, a pressão de filtração hidráulica capilar glomerular, bem como o estado funcional do aparelho de filtração da membrana basal glomerular do endotélio capilar-mesangial (ver Figura 49.15). Quando o tecido mesangial se expande, a eficiência da filtração glomerular diminui proporcionalmente. A causa dessas alterações mesangiais é, em parte, a conseqüência da expressão aumentada de certos fatores de crescimento, especialmente fator de crescimento de transformação β (TGF-β, do inglês *transforming growth factor β*) e fator de crescimento de tecido conjuntivo (CTGF, do inglês *connective tissue growth factor*). Abordagens terapêuticas atuais em pacientes com nefropatia diabética inicial incluem o uso de anticorpos para neutralizar o TGF-β.

COMENTÁRIOS BIOQUÍMICOS



A osteogênese imperfeita (OI) é um grupo de doenças heterogêneas que têm em comum um defeito na produção do colágeno. Esse defeito pode ser de dois tipos: o primeiro tipo está associado à redução na síntese de colágeno normal (devido a uma mutação gênica por deleção ou no sítio de *splice*). O segundo tipo está associado à síntese de uma forma mutada de colágeno. A maior parte das mutações tem um efeito dominante negativo, levando a um modo de transmissão autossômico dominante.

No segundo tipo de OI, várias das mutações conhecidas envolvem substituições de qualquer aminoácido no lugar da glicina. Isso resulta em uma molécula de colágeno instável, uma vez que a glicina é o único aminoácido que pode se encaixar entre as outras duas cadeias dentro da tripla hélice do colágeno. Se a mutação é próxima da extremidade carboxiterminal da molécula, o fenótipo da doença é normalmente mais grave do que se a mutação é próxima à extremidade aminoterminal (lembre que a formação da tripla hélice se processa a partir da extremidade carboxiterminal para a aminoterminal da molécula). As mutações que trocam glicina por serina ou cisteína são de interesse. Tais mutações são mais estáveis do que o esperado, devido à capacidade de formação de pontes de hidrogênio da serina e à habilidade da cisteína para formar pontes dissulfeto. Ambas poderiam ajudar na prevenção do desenrolamento das fitas de tripla hélice.

Crianças com OI podem ser tratadas com uma classe de compostos conhecidos como bisfosfonatos, os quais consistem em dois fosfatos ligados por uma ponte de carbono ou de nitrogênio (então, são análogos do pirofosfato, no qual os dois fosfatos estão ligados pelo oxigênio). A remodelação normal do osso é o resultado de um "acoplamento" coordenado entre a atividade dos osteoclastos (células que reabsorvem o osso) e a dos osteoblastos (células que formam o osso). Na OI, a reabsorção se descompassa da formação do osso, uma vez que a atividade osteoclástica está aumentada (talvez devido aos níveis reduzidos de colágeno normal que estão presentes para atuarem como sítios de nucleação para a formação do osso). Isso leva a uma perda líquida de massa óssea e à fragilidade do esqueleto. Os bisfosfonatos inibem a ação dos osteoclastos com potencial para aumentar a massa óssea e a sua força de tensão.

Leituras Sugeridas

Bosman FT, Stamenhovic I. Functional structure and composition of the extracellular matrix. J Pathol 2003;200:423-428.

Byers PH. Disorders of collagen biosynthesis and structure. In: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, Sly WS, et al., eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, vol IV, 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:5241-5286.

Hynes RO. Integrins: biodirectional allosteric signalling machines. Cell 2002; 110:673-687.

Neufeld EF, Muenzer J. The mucopolysaccharidoses. In: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, Sly WS, et al., eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, vol. IV, 8th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001:3421-3452.

Sheetz MJ, King GL. Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications. JAMA 2002;288(20):2579-2588.



QUESTÕES DE REVISÃO – CAPÍTULO 49

1. Indivíduos que desenvolvem escorbuto apresentam feridas e sangramento de gengivas e perda de dentes. Isso é devido, em parte, à síntese de uma molécula de colágeno defeituosa. Qual dos seguintes passos é afetado na biossíntese do colágeno atribuído ao escorbuto?

   (A) Formação de pontes dissulfeto, as quais iniciam a formação do tropocolágeno.
   (B) Formação de ligações cruzadas de lisil entre moléculas de colágeno.
   (C) Secreção do tropocolágeno para dentro da matriz extracelular.
   (D) Formação das fibrilas do colágeno.
   (E) Hidroxilação de resíduos de prolina, os quais estabilizam a estrutura do colágeno.

2. Qual das seguintes alternativas é o mecanismo básico que permite que a elastina exiba propriedades elásticas (expandir e contrair)?

   (A) Proteólise durante a expansão e síntese durante a contração.
   (B) Quebra de pontes dissulfeto durante a expansão e a formação dessas pontes durante a contração.
   (C) Um decréscimo da entropia durante a expansão e um aumento da entropia durante a contração.
   (D) Quebra de pontes salinas durante a expansão e formação dessas pontes salinas durante a contração.
   (E) Hidroxilação da elastina durante a expansão e descarboxilação da elastina durante a contração.

3. Qual das seguintes alternativas é o mecanismo básico pelo qual os glicosaminoglicanos permitem a formação de uma substância semelhante a um gel na matriz extracelular?

   (A) Atração de carga entre cadeias de glicosaminoglicanos.
   (B) Repulsão de carga entre cadeias de glicosaminoglicanos.
   (C) Pontes de hidrogênio entre cadeias de glicosaminoglicanos.
   (D) Ligações cruzadas covalentes entre cadeias de glicosaminoglicanos.
   (E) Hidroxilações de cadeias de glicosaminoglicanos adjacentes.

4. O movimento de células tumorais de seus sítios de origem para outros locais dentro do corpo requer a atividade de qual das seguintes proteínas?

   (A) Colágeno
   (B) Laminina
   (C) Proteoglicanos
   (D) Elastina
   (E) Metaloproteinases de matriz

5. A fribronectina com freqüência está ausente em células fibroblásticas malignas. Qual das seguintes alternativas é uma das principais funções da fibronectina?

   (A) Inibir a ação de metaloproteinases de matriz.
   (B) Coordenar a deposição de colágeno dentro da matriz extracelular.
   (C) Fixar a posição das células dentro da matriz extracelular.
   (D) Regular a produção de glicosaminoglicanos.
   (E) Alongar as cadeias de glicosaminoglicanos usando nucleotídeo-açúcares.

Apêndice

RESPOSTAS

Capítulo 1

1. **A resposta é B.** No processo de respiração, O_2 é consumido, e substratos energéticos são oxidados a CO_2 e H_2O. A energia derivada das reações de oxidação é utilizada para produzir ATP a partir de ADP e P_i. Contudo, uma pequena quantidade de energia é também liberada como calor (assim, C é incorreta). Embora substratos energéticos possam ser armazenados como triacilgliceróis, isso não é parte de respiração (assim, A é incorreta). A respiração é uma rota catabólica (substratos energéticos são degradados), oposta a uma rota anabólica (compostos se combinam para formar moléculas maiores) (assim, E é incorreta).

2. **A resposta é D.** O conteúdo calórico por grama de um substrato energético é a quantidade que pode ser obtida a partir da oxidação de substrato energético. Ela é mais baixa para carboidratos e proteínas do que para gorduras, pois proteínas e carboidratos contêm mais oxigênio e já são parcialmente oxidados (assim, A, B e C são incorretas). O conteúdo calórico de um substrato energético é principalmente uma propriedade de sua estrutura química e a habilidade humana de oxidar tal estrutura e produzir ATP. Há pouca diferença entre crianças e adultos.

3. **A resposta é A.** A taxa metabólica de repouso (TMR) corresponde às calorias que estão sendo gastas por uma pessoa acordada, em repouso, que fez jejum por 12 a 18 horas e está a 20ºC. Ela é equivalente ao gasto de energia dos principais órgãos e do músculo esquelético em repouso. Mulheres em geral têm uma TMR mais baixa por quilograma de peso corporal porque maior parte do seu peso corporal corresponde a tecido adiposo metabolicamente inativo. Crianças têm uma TMR mais alta por quilograma de peso corporal porque a maior parte do seu corpo é constituído por órgãos metabolicamente ativos, como o cérebro. A TMR aumenta em um ambiente frio porque mais energia está sendo gasta para produzir calor. Ela não é equivalente ao gasto diário de energia (GDE), o qual inclui TMR, atividade física e termogênese induzida pela dieta.

4. **A resposta é D.** A RDA de um nutriente é determinada a partir de NME + 2 SD (DESVIO PADRÃO DA MÉDIA) e deve corresponder às necessidades de 97 a 98% da população saudável. Ela é, portanto, um objetivo razoável para ingesta de um indivíduo saudável. As NME são a quantidade que impede o desenvolvimento de sinais de deficiência em 50% da população saudável. Embora informações com animais de laboratório tenham sido utilizadas para estabelecer sintomas de deficiência, as RDA têm por base informações coletadas sobre a ingestão de nutrientes por humanos.

5. **A resposta é B.** A ingesta adequada é menos de 30% das calorias totais. O consumo calórico total era 4.110 kcal/dia (carboidrato, $4 \times 585 = 2.340$ kcal; proteína $150 \times 4 = 600$ kcal; gordura, $95 \times 9 = 855$ kcal; álcool, $45 \times 7 = 315$ kcal.) (Assim, A é incorreta). A ingesta de gordura era 21% (855/4.110) de sua ingesta calórica total. A ingesta de álcool era 7,7% (315 ± 4.110) (assim, C é incorreta). A ingesta de proteína estava bem acima da RDA de 0,8 g/kg de peso corporal (assim, D é incorreta). A TMR é cerca de 24 kcal/dia por quilograma de peso corporal, ou 2.880 kcal/dia (na verdade ela será menor, porque ele é obeso e tem uma proporção maior de tecidos metabolicamente inativos do que o homem de 70 kg). O gasto de energia diário é aproximadamente 3.744 kcal/dia ($1,3 \times 2880$) ou menos. Assim, sua ingesta é maior do que seu gasto, e ele está em balanço calórico positivo e ganhando peso (portanto, E é incorreta).

Capítulo 2

1. **A resposta é E.** Durante a digestão de uma refeição mista, amido e outros carboidratos, proteínas e triacilgliceróis da dieta são quebrados em suas unidades monoméricas (carboidratos em monossacarídeos simples; proteínas em aminoácidos; triacilgliceróis em ácidos graxos e glicerol). A glicose é o principal açúcar nos carboidratos da dieta, e, portanto, ela aumenta no sangue. Aminoácidos e monossacarídeos entram na veia porta e vão primeiro para o fígado. Após a digestão de gorduras e a absorção de ácidos graxos, a maioria dos ácidos graxos é convertida de volta em triacilgliceróis e, subseqüentemente, em quilomícrons (nas células intestinais). Os quilomícrons vão pelos vasos linfáticos e, portanto, pelo sangue principalmente para o tecido adiposo.

2. **A resposta é C.** Após uma refeição rica em carboidratos, a glicose é o principal substrato energético para a maioria dos tecidos, incluindo o músculo esquelético e o tecido adiposo. O aumento nos níveis de glicose sangüínea estimula a liberação de insulina, e não de glucagon. A insulina estimula o transporte de glicose no músculo esquelético e no tecido adiposo, mas não no cérebro. O fígado, e não o músculo esquelético, converte a glicose em ácidos graxos. Embora as células sangüíneas vermelhas sempre utilizem glicose como único substrato energético, elas geram ATP pela conversão de glicose em lactato, e não CO_2.

3. **A resposta é A.** Os aminoácidos da digestão das proteínas da dieta são transportados para o fígado, onde são utilizados como precursores de compostos nitrogenados, como aminoácidos não-essenciais e proteínas séricas. Eles também podem ser convertidos em glicose e ácidos graxos nas células do fígado (hepatócitos). Os hepatócitos são as únicas células que contêm as rotas para a degradação de todos os aminoácidos, bem como as rotas para a síntese de glicose e ácidos graxos a partir de aminoácidos. Os ácidos graxos sintetizados no fígado são depositados como gordura do tecido adiposo. Os grupos amino não-utilizados são convertidos em uréia no fígado para prevenir a toxicidade da amônia. Aminoácidos não são excretados na urina de um indivíduo saudável.

4. **A resposta é B.** Os quilomícrons são as partículas de lipoproteínas formadas nas células epiteliais intestinais a partir das gorduras da dieta, e eles contêm, principalmente, triacilgliceróis formados a partir dos componentes dos triacilgliceróis da dieta. Uma ingestão diminuída de calorias em geral incluiria um consumo diminuído de gordura, carboidrato e proteína, o que não deve diminuir os níveis de quilomícron. O colesterol da dieta, embora encontrado nos quilomícrons, não é seu componente principal.

5. **A resposta é A.** Seu IMC está na faixa de obesidade com grande depósito de gordura abdominal. Ele necessita diminuir sua ingestão de calorias totais, porque um excesso de calorias ingeridas como carboidrato, gordura ou proteína resulta em deposição de triacilgliceróis no tecido adiposo. Se ele mantém a mesma ingestão calórica, a substituição de um tipo de alimento por outro ajudará muito pouco na perda de peso. (Entretanto, uma diminuição na ingestão de gorduras pode ser aconselhável por outros motivos.) Dietas de alimentos específicos, como sorvete e refrigerante dietéticos ou uma dieta rica em proteína de camarão, funcionam se elas diminuírem o apetite e, portanto, a ingestão de calorias totais.

Capítulo 3

1. **A resposta é A.** Por volta de 24 horas após uma refeição, a gliconeogênese hepática (fígado) é a principal fonte de glicose sangüínea, porque as reservas de glicogênio hepático já foram quase esgotadas. O músculo e outros tecidos não possuem uma enzima necessária para converter glicogênio ou aminoácidos em glicose (portanto, B está incorreta). O fígado é a única fonte significativa de glicose sangüínea; nele a glicose é sintetizada a partir de aminoácidos (fornecidos pela degradação protéica), de glicerol (fornecido pela hidrólise de triacilgliceróis no tecido adiposo) e de lactato (fornecido pela glicólise anaeróbica nas células vermelhas do sangue e em outros tecidos). A glicose não pode ser sintetizada a partir de ácidos graxos ou corpos cetônicos (portanto, D e E estão incorretas).

2. **A resposta é D.** A conversão de amônia em uréia (o ciclo da uréia) ocorre de forma significativa apenas no fígado. Portanto, o fígado é capaz de eliminar a amônia tóxica que é produzida quando ele converte esqueletos de carbono de aminoácidos em glicose. Embora o fígado tenha a maior reserva de glicogênio por grama de tecido, a maioria das células tem depósitos de glicogênio. A massa muscular é tão grande que o músculo é um reservatório significativo de glicogênio (portanto, A está incorreta). A maioria dos tecidos (com exceção do cérebro e de tecidos sem mitocôndria, como as células vermelhas do sangue) oxida ácidos graxos durante o jejum noturno (portanto, B está incorreta). O fígado sintetiza corpos cetônicos, mas não possui uma enzima necessária para oxidá-los (portanto, C está incorreta). Ele em geral oxida glicose a CO_2 ou a converte em ácidos graxos, e não em lactato.

3. **A resposta é C.** A principal alteração durante o jejum prolongado é que, conforme os músculos diminuem sua utilização de corpos cetônicos, as concentrações sangüíneas de corpos cetônicos aumentam muito, e eles são utilizados pelo cérebro como substrato energético. Entretanto, mesmo durante a inanição, a glicose ainda é requerida pelo cérebro, o qual não pode oxidar ácidos graxos em quantidade adequada (portanto, D está incorreta). As células vermelhas do sangue podem utilizar apenas glicose como substrato energético (portanto, B está incorreta). Como o cérebro, as células vermelhas do sangue e outros tecidos são dependentes de glicose, o fígado continua a sintetizá-la, e os níveis de glicose sangüínea são mantidos apenas um pouco menores do que os níveis de jejum (portanto, A está incorreta). As reservas do tecido adiposo são de 135.000 kcal e não são esgotadas em um indivíduo bem-nutrido após 1 semana de jejum (portanto, E está incorreta).

4. **A resposta é A.** A albumina sérica diminuída poderia ter um grande número de causas, incluindo doenças hepáticas (as quais diminuem a habilidade do fígado para sintetizar proteínas séricas), desnutrição protéica, marasmo ou doenças afetando a habilidade do intestino para digerir proteínas e absorver aminoácidos. Entretanto, seu IMC está na faixa saudável (portanto, B e D estão incorretas). Seu índice creatinina-altura (ICA) normal indica que ele não perdeu massa muscular e, portanto, não está sofrendo de desnutrição protéica (portanto, B, C, D e E estão incorretas).

5. **A resposta é C.** Sua ingestão de proteínas de 150 kcal corresponde a aproximadamente 37 g de proteína (150 kcal ÷ 4 kcal/g = 37 g), abaixo da RDA para proteínas (portanto, A está incorreta). Sua ingestão de carboidrato de 150 kcal está abaixo das necessidades de glicose de seu cérebro e das células vermelhas do sangue (cerca de 150 g/dia, ver Capítulo 2) (portanto, B está incorreta). Desse modo, ele degradará proteínas musculares para sintetizar glicose para o cérebro e outros tecidos dependentes de glicose e massa de tecido adiposo para suprir ácidos graxos para o músculo e outros tecidos capazes de oxidar ácidos graxos. Como ele estará degradando proteínas a aminoácidos e convertendo o nitrogênio, tanto desses aminoácidos quanto de seus aminoácidos da dieta, em uréia, sua excreção de nitrogênio estará maior do que sua ingestão, e ele

estará em balanço nitrogenado negativo (portanto, D está incorreta). É improvável que ele desenvolva hipoglicemia enquanto for capaz de fornecer precursores para a gliconeogênese.

Capítulo 4

1. **A resposta é A**. O pH é o log negativo da concentração do íon hidrogênio [H^+]. Assim, em um pH de 7,5, [H^+] é $10^{-7,5}$, e em pH 6,5, $10^{-6,5}$. A [H^+] se alterou por um fator $10^{-6,5}/10^{-7,5}$, o qual é 10^1, ou 10. Qualquer diminuição de 1 unidade de pH é um aumento de 10 vezes na [H^+], ou uma diminuição de 10 vezes na [OH^-]. Um deslocamento na concentração de ânions-tampão definitivamente ocorreu, mas a alteração no pH reflete o aumento na concentração de íons hidrogênio em excesso àquela absorvida pelos tampões.

2. **A resposta é C**. Tampões, por definição, tendem a manter o pH de uma solução constante, absorvendo prótons se um ácido é adicionado à solução. Como têm a habilidade de dissociar ou reassociar um próton, eles trabalham melhor no pH no qual estão 50 % dissociados, o pK_a (B e D são incorretas). Os tampões não podem ser compostos de ácidos fortes ou bases fortes, porque ácidos e bases fortes, estão completamente dissociados (assim, A é incorreta). Quanto maior a concentração de tampão, melhor esse funciona, porque pode absorver ou dissociar mais prótons (assim, E é incorreta).

3. **A resposta é B**. NH_3 é uma base fraca, a qual se associa a um próton para produzir o íon amônio ($NH_3 + H^+ \rightarrow NH_4$), que tem um pKa de 9,5. Assim, em um pH de 7,4, a maioria da amônia estará presente como íon amônio. A absorção de íons hidrogênio tende a aumentar, em vez de diminuir, o pH do sangue (assim, A é incorreta). Com a diminuição de íons hidrogênio, o ácido carbônico se dissocia para produzir mais bicarbonato ($H_2CO_3 \rightarrow HCO_3^- + H^+$), e mais CO_2 irá em direção ao ácido carbônico (assim, C é incorreta). A respiração de Kussmaul, uma expiração aumentada de CO_2, ocorre sob uma acidose, a condição oposta.

4. **A resposta é C**. Vomitar expele o ácido gástrico forte (HCl). Quando células no estômago secretam HCl, elas captam íons H^+ do líquido intersticial e do sangue, tendendo a elevar o pH sangüíneo e causar alcalose. As outras condições tendem a produzir acidose (assim, A, B, D, e E estão incorretas). Ácido láctico é um ácido fraco secretado para o sangue pelos músculos durante exercício. Um paciente com produção de corpos cetônicos aumentada pode exibir uma diminuição no pH porque os corpos cetônicos acetoacetato e β-hidroxibutirato são ácidos dissociados. Quando o bicarbonato do lúmen intestinal é perdido na diarréia aquosa, mais bicarbonato é secretado pelas células instestinais. Quando as células intestinais produzem bicarbonato, também é produzido mais H^+ ($H_2CO_3 \rightarrow HCO_3^- + H^+$). Enquanto o bicarbonato produzido por essas células é liberado no lúmen intestinal, os prótons se acumulam no sangue, resultando em uma acidose. Hipercatabolismo (ver E), uma velocidade de catabolismo aumentada, produz CO_2 adicional, o que produz mais ácido ($CO_2 + H_2O \rightarrow H_2CO_3 \rightarrow HCO_3^- + H^+$).

5. **A resposta é B**. O ácido metilmalônico contém dois grupos ácidos carboxílicos e é, portanto, um ácido fraco. De acordo com a equação de Henderson-Hasselbalch, os grupos ácido carboxílico estão 50% dissociados nos seus pKas (assim, C é incorreta). Grupos ácido carboxílico em geral possuem pKa entre 2 e 5, de tal modo que este ácido estaria quase completamente dissociado em um pH sangüíneo de 7,4 e não pode tamponar no meio intracelular em um pH neutro (assim, D e E estão incorretas). (Embora não seja necessário saber nada sobre metilmalonato para responder essa questão, ele é um ácido orgânico produzido em pacientes com um problema no metabolismo da metilmalonil-CoA, tal como uma deficiência de vitamina B12. Sua acidez pode contribuir para o desenvolvimento de sintomas envolvendo o sistema nervoso. Seu aparecimento na urina pode ser classificado como acidúria orgânica.)

Capítulo 5

1. **A resposta é D**. Compostos hidrossolúveis são polares (contêm uma distribuição não-uniforme de cargas), de tal modo que a porção mais positiva da molécula de hidrogênio (compartilha elétrons) se liga com o oxigênio da água, e a porção mais negativa da molécula de hidrogênio se liga com os hidrogênios da água. Compostos hidrossolúveis não precisam conter uma carga completamente negativa ou positiva (assim, C e D são incorretas) e em geral contêm oxigênio ou nitrogênio, além de carbono e hidrogênio (ver A). Grandes porções C-H de uma molécula, tal como um anel aromático, são apolares e contribuem para a insolubilidade da molécula em água (ver E).

2. **A resposta é E**. O composto contém um grupo OH, o qual dever aparecer no nome como um "ol" ou grupo "hidroxi". Todas as respostas se encaixam nesse critério. A estrutura também contém um grupo carboxilato (COO^-), que deve aparecer no nome como um "ato" ou "ácido". Apenas D e E se encaixam nesse critério. Contando para trás a partir do grupo carboxilato (carbono 1), o segundo carbono é α, o terceiro é β, e o quarto carbono contendo o grupo carboxila é γ. Assim, o composto é γ-hidroxibutirato. "A", "B" e "C" podem ser eliminadas, pois "met" designa um carbono, "et" designa dois carbonos e o "ene" no etilene indica uma ligação dupla.

3. **A resposta é B**. O termo "ligação glicosídica" se refere a uma ligação covalente formada entre o carbono anomérico de um monossacarídeo, quando ele está em uma forma de anel, e um grupo hidroxila ou nitrogênio de outro composto (ver Figura 5.17) (assim, A, D, e E são incorretas). Dissacarídeos podem ser ligados por seus carbonos anoméricos, mas polissacarídeos não, pois não haveria carbono anomérico para formar uma ligação com o monossacarídeo seguinte na cadeia (assim, C é incorreta).

4. **A resposta é A**. Triglicerídeos (triacilgliceróis) são compostos de um esqueleto de glicerol ao qual são ligados três ácidos graxos ("tri") (ver Figura 5.20). O grupo ácido carboxílico de cada ácido graxo forma um éster com um dos três grupos OH do glicerol; assim, o ácido graxo é um grupo "acila". Esfingolipídeos, em contraste, contêm um grupo acila e um grupo derivado de um ácido graxo, ligado a um grupo derivado de serina (ver Figura 5.22).
5. **A resposta é B**. Esfingolipídeos contêm um grupo ceramida, o qual é uma esfingosina com um ácido graxo ligado. Eles não contêm uma porção glicerol (assim, A é incorreta). Contudo, esfingolipídeos distintos têm substituintes diferentes no grupo CH_2OH da ceramida. Por exemplo, a esfingomielina contém fosforilcolina, e os gangliosídeos contêm NANA (assim, C e D são incorretas). Nenhum esfingolipídeo conhecido contém um esteróide (F).

Capítulo 6

1. **A resposta é D**. Nas pontes de hidrogênio, um átomo de hidrogênio é compartilhado entre dois grupos ricos em elétrons, como oxigênio ou nitrogênio. Assim, o nitrogênio na ligação peptídica pode compartilhar seu hidrogênio com o oxigênio no grupo carboxila do aspartato, o qual estará negativamente carregado em um pH de 7,4. A leucina é apolar e não pode participar na pontes de hidrogênio (assim, A é incorreta), e resíduos aspartil e glutamil são ambos carregados negativamente (assim, B é incorreta). As ligações entre dois grupos completamente carregados são ligações eletrostáticas, e não pontes de hidrogênio (assim, C é incorreta). Grupos sulfidrila não participam em pontes de hidrogênio.
2. **A resposta é A.** O esqueleto peptídico contém apenas átomos de carbono e nitrogênio ligados de forma covalente em uma cadeia. O nitrogênio da amida de um aminoácido (N) é ligado de forma covalente ao carbono α do mesmo aminoácido (C), que é ligado de maneira covalente ao carbono carboxila (C) daquele aminoácido, o qual forma uma ligação peptídica com o nitrogênio do próximo aminoácido (N).
3. **A resposta é A.** A arginina é um aminoácido básico que tem uma cadeia lateral carregada positivamente em pH neutro. Ela, portanto, pode formar ligações eletrostáticas fortes com cadeias laterais *asp* e *glu* na insulina. O ácido α-carboxílico nas extremidades N-terminais das proteínas é ligado por ligações peptídicas (assim, B é incorreta). A cadeia lateral da arginina não é hidrofóbica, e ela não pode formar ligações dissulfeto, pois não tem grupo sulfidrila (assim, C e D são incorretas). Seu grupo básico é um grupo guanidino que não pode formar ligações peptídicas (ver E).
4. **A resposta é B**. Apenas esses aminoácidos têm cadeias laterais com grupos hidroxila. Como regra geral, proteína-quinases de serina-treonina formam um grupo de quinases, e proteína-quinases de tirosina formam outro.
5. **A resposta é E**. Em um único indivíduo, a estrutura primária das enzimas catalisando a mesma reação podem diferir entre os compartimentos celulares, ou entre distintos tipos de células, ou podem diferir de enzimas produzidas em diferentes estágios de desenvolvimento (assim, A e B são incorretas). Parálogos têm estrutura de aminoácidos um pouco diferentes e funções distintas. Membros de uma família homóloga têm estruturas um pouco diferentes e estão relacionados apenas por sua evolução a partir do mesmo gene ancestral.

Capítulo 7

1. **A resposta é B**. A estrutura regular repetida de uma hélice α é possível devido ao fato de ela ser formada por pontes de hidrogênio dentro do esqueleto peptídico de uma única fita. Assim, hélices-α podem ser formadas a partir de uma variedade de estruturas primárias. Contudo, a prolina não pode acomodar as dobras para uma hélice-α, pois os átomos envolvidos em um esqueleto peptídico são parte de uma estrutura em anel, e a glicina não pode fornecer o preenchimento de espaço necessário para uma estrutura estável.
2. **A resposta é C**. Proteínas globulares se dobram em uma estrutura semelhante a uma esfera com seus resíduos hidrofílicos para o lado de fora para interagir com a água (portanto, A é incorreta) e seus resíduos hidrofóbicos para o lado de dentro afastados da água (assim, B é incorreta). Estruturas secundárias são formadas por pontes de hidrogênio, não ligações hidrofóbicas (assim, D é incorreta). Ligações dissulfeto são raras em proteínas globulares e não são necessárias para manter uma estrutura estável (assim, E é incorreta).
3. **A resposta é D**. Quando uma hélice-α é formada, todas as cadeias laterais estão voltadas para fora da hélice, a qual é o ambiente hidrofóbico da membrana lipídica. Assim, as cadeias laterais devem ser hidrofóbicas. Dos aminoácidos listados, apenas a leucina se encaixa nas notas (ver Capítulo 6). A prolina interrompe a estrutura helical, pois a ligação imino de sua estrutura em anel não permite que o esqueleto polipeptídico forme os ângulos necessários para a formação da hélice α.
4. **A resposta é A**. A coloração característica do amilóide se origina das fibrilas com estruturas de folha β pregueada perpendicular ao eixo da fibra (assim, B, C, e D são incorretas). A conformação nativa de uma proteína em geral é a conformação mais estável e de energia mais baixa, e quanto mais baixo o estado de energia, mais prontamente uma proteína se dobra em sua conformação nativa, e é menos provável que ela assuma a estrutura de folha β pregueada insolúvel do amilóide (assim, E é incorreta).
5. **A resposta é A.** A proteína hidrolisa ATP, o que é uma característica da dobra de actina.

Capítulo 8

1. **A resposta é B**. Na maioria das reações, o substrato se liga à enzima antes que sua reação com a coenzima ocorra. Assim, o substrato pode se ligar, mas não pode reagir como

a coenzima para formar o complexo de estado transitório. Cada coenzima realiza um único tipo de reação; dessa maneira, nenhuma outra coenzima pode substituí-la (assim, C é incorreta). A geometria tridimensional da reação é tão específica que grupos funcionais nas cadeias laterais dos aminoácido não podem substituir (assim, D é incorreta). Coenzimas livres não são muito ativas, pois cadeias laterais dos aminoácidos são necessárias para ativar as coenzimas ou os reagentes (assim, E é incorreta). Contudo, aumento no fornecimento de vitaminas para aumentar a quantidade de coenzima ligada à enzima algumas vezes pode auxiliar.

2. **A resposta é D**. O paciente foi diagnosticado com MODY (*maturity onset diabetes of the young*), causada por essa mutação. Na glicoquinase, a ligação de glicose normalmente causa uma grande alteração conformacional na dobra de actina que cria um sítio de ligação para ATP. Embora prolina e leucina sejam ambas aminoácidos apolares, B é incorreta – a prolina cria quebra nas hélices, e, assim, seria esperado que ela perturbasse a alteração conformacional necessária (ver Capítulo 7). Em geral, a ligação do primeiro substrato a uma enzima cria alterações conformacionais que aumentam a ligação do segundo substrato ou coloca grupos funcionais em posição para as etapas seguintes na reação. Assim, uma mutação não precisa ocorrer no sítio ativo para impedir a reação, e A é incorreta. Provavelmente seria preciso mais energia para dobrar a enzima na forma necessária para o complexo de estado transitório, e menos moléculas adquiririam a energia necessária (assim, C é incorreta). O sítio ativo não tem os grupos funcionais necessários para um mecanismo alternativo (assim, E é incorreta).

3. **A resposta é C**. As enzimas que utilizam histidina para retirar um próton do substrato na catálise ácido-básica são ativas apenas em uma variação de pH estreita próxima da neutralidade, pois a histidina deve ser capaz de captar e doar prótons dentro desse pH. Quando o pH diminui para menos de 6,5, prótons não se dissociarão prontamente da histidina. Em contraste, a lisina está completamente protonada em ambos pH 6,5 e 5,5 (assim, D é incorreta). Todas as hidrolases intestinais (proteases, esterases, glicosidases) utilizam catálise ácido-base para adicionar os elementos da água nas ligações (assim, E é incorreta). Em geral, o pH deve diminuir muito mais antes que pontes de hidrogênio sejam rompidas e proteínas sejam desnaturadas e percam sua estrutura terciária (assim, A e B são incorretas).

4. **A resposta é A.** O resíduo de glicose da UDP-glicose está sendo transferido para o grupo álcool de outro composto. Em reações de isomerização, grupos são transferidos dentro da mesma molécula (assim, B é incorreta). Não há quebra ou síntese de ligações carbono-carbono (assim, C e D são incorretas). Reações de oxirredução não ocorreram, pois nenhum átomo de hidrogênio ou oxigênio foi removido na conversão do substrato em produto.

5. **A resposta é C.** A transferência de um resíduo de carboidrato de uma molécula para outra é uma reação da glicosiltransferase. As quinases transferem grupos fosfato, as desidrogenases transferem elétrons como átomos de hidrogênio ou íons hidreto, as transaminases transferem grupos amino, e as isomerases transferem átomos dentro da mesma molécula.

Capítulo 9

1. **A resposta é B.** A velocidade da reação é diretamente proporcional à proporção de moléculas da enzima contendo substrato ligado. Assim, ela está a 50% de sua velocidade máxima quando 50% das moléculas contêm substrato ligado (A, C, e D são incorretas). A velocidade da reação é diretamente proporcional à quantidade de enzima presente, a qual é incorporada no termo $V_{máx}$ ($V_{máx} = k$ [enzima total]) (assim, E é incorreta).

2. **A resposta é A**. A enzima do paciente tem um K_m mais baixo do que a enzima normal e, portanto, necessita de uma concentração de glicose mais baixa para atingir ½ $V_{máx}$. Dessa forma, a mutação pode ter aumentado a afinidade da enzima por glicose, mas ela tem as etapas subseqüentes muito diminuídas da reação para a formação do complexo de estado transitório, e, assim, V é muito mais lenta. A diferença no fluxo é tão grande que a enzima do paciente é muito mais lenta estando ela abaixo ou acima de seu K_m para a glicose. Se isso for testado pela substituição de 2 mM glicose e 4 mM glicose na equação de Michaelis-Menten de $v = V_{máx}\,S/(K_m + S)$ para a enzima do paciente e para a enzima normal. Os valores são 0,0095 e 0,0129 para a enzima do paciente *versus* 23,2 e 37,2 para a enzima normal, respectivamente (assim, B e C são incorretas). Próximo a concentrações de saturação da glicose, ambas as enzimas estarão próximas ao $V_{máx}$, o que é igual a k_{cat} vezes a concentração da enzima. Assim, será necessário aproximadamente 500 vezes mais enzima do paciente para alcançar a velocidade normal (93 ÷ 0,2), e C é incorreta. E é incorreta porque velocidades se alteram principalmente quando a concentração do substrato é diminuída para um valor menor de K_m. Assim, a enzima com o K_m mais alto mostrará as maiores alterações na velocidade.

3. **A resposta é B**. O etanol tem uma estrutura muito similar àquela do metanol (um análogo estrutural), e, assim, seria esperado que competisse com o metanol por seu sítio de ligação de substrato. Essa inibição é competitiva com respeito ao metanol, e, portanto, a $V_{máx}$ para o metanol não seria alterada, e a inibição por etanol poderia ser vencida por altas concentrações de metanol (assim, A, C, e D são incorretas). E é ilógica, pois o substrato metanol fica no mesmo sítio de ligação quando é convertido em seu produto, formaldeído.

4. **A resposta é C**. Enzimas alostéricas em geral têm mais de uma subunidade, cada uma das quais contém um sítio de ligação para o substrato. Quando o substrato se liga a um sítio, ele altera a conformação de uma ou mais das outras subunidades (cooperatividade na ligação do substrato). Assim, gráficos da velocidade *versus* concentração de substrato em geral têm a forma de S, em vez da hipérbole retangular da cinética de Michaelis-Menten (assim,

B é incorreta). Em geral, um composto se ligando no sítio catalítico não pode ser um ativador (assim, D é incorreta). A maioria dos inibidores alostéricos é reversivelmente ligada em seus sítios alostéricos ou sítios catalíticos, pois deve ser liberada da enzima quando a concentração de ativador se altera (assim, E é incorreta).

5. **A resposta é C**. A regulação mais efetiva deveria ser um tipo de regulação de "ântero-alimentação", na qual a toxina ativa a rota. Uma das maneiras mais comuns de isso ocorrer é pela ação da toxina para aumentar a quantidade de enzima pelo aumento da transcrição de seu gene. A e B descrevem mecanismos de regulação por retroalimentação, nos quais o produto final diminui sua própria velocidade de síntese, e são, portanto, incorretas. D é incorreta porque um K_m alto para a toxina pode impedir a enzima de funcionar efetivamente em baixas concentrações da toxina, embora ele permitisse à enzima responder a elevações na concentração de toxina. Seria de pouco auxílio para a toxina ativar alostericamente qualquer enzima além daquela que catalisa a reação limitante da velocidade (assim, E é incorreta).

Capítulo 10

1. **A resposta é D**. A fosfatidilserina, o único lipídeo com uma carga total negativa em pH neutro, está localizada na folha interna da membrana, onde contribui para que o lado intracelular dessa seja carregado mais negativamente. A membrana é composta principalmente de fosfolipídeos e colesterol (assim, A é incorreta). Os fosfolipídeos são anfipáticos (contêm extremidades polares e apolares; ver Capítulo 5), com seus grupos polares principais se estendendo para o meio aquoso dentro e fora da célula. Os grupos acila das duas camadas ficam virados uns para os outros no lado interno da bicamada, e os grupos de oligossacarídeos polares de glicoproteínas e glicolipídeos se estendem para o meio aquoso (assim, B, C e E são incorretas).

2. **A resposta é E**. As regiões transmembrana são hélices α com as cadeias laterais de aminoácidos hidrofóbicos se ligando a lipídeos de membrana. As interações hidrofóbicas impedem a sua retirada (assim, A e D são incorretas). Essas proteínas são classificadas como proteínas integrais por não serem facilmente retiradas da membrana (assim, B é incorreta). As extremidades carboxi e amino das proteínas transmembrana se estendem para o meio aquoso intracelular e extracelular e, dessa forma, precisam conter muitos resíduos hidrofílicos (assim, C é incorreta).

3. **A resposta é A**. A maior parte da oxidação de substrato energético e da produção de ATP ocorre na mitocôndria. Embora um pouco também possa ocorrer no citosol, essa quantidade é muito menor na maioria das células.

4. **A resposta é A**. A Na^+, K^+-ATPase tem a necessidade de energia mais alta desses processos de transporte, com a hidrólise de um ATP para cada 2 íons Na^+ transportados. Nem o transporte facilitado de glicose (difusão mediada por carreador), nem a difusão passiva necessitam de energia (assim, B e C são incorretas). Os canais regulados por ligantes não necessitam de ATP para se abrir; contudo, como os canais abertos permitem a entrada de muitas moléculas, a necessidade de energia não é tão grande quanto a do transporte ativo.

5. **A resposta é C**. Membros da família Rho regulam a direção da montagem da actina e suas ligações a outras proteínas celulares. A Ras está envolvida principalmente na regulação da expressão gênica; a Ran, no transporte nuclear; a Rab, na formação e na fusão de vesículas, e a Arf, na formação de vesículas recobertas de *coatomer* (assim, A, B, D e E são incorretas).

Capítulo 11

1. **A resposta é C**. Cada mensageiro químico tem um receptor protéico específico em uma célula-alvo que, em geral, ligará apenas aquele mensageiro, e apenas aquela célula responderá à mensagem. Somente mensageiros endócrinos alcançam suas células-alvo pelo sangue (assim, A é incorreta). Muitos mensageiros químicos têm ações parácrinas. Os mensageiros são secretados por somente um tipo de célula (assim, B é incorreta). Muitos mensageiros se ligam a domínios extracelulares de receptores de membrana plasmática e não entram nas células (assim, D é incorreta). Nenhum mensageiro químico é metabolizado a segundos mensageiros intracelulares (assim, E é incorreta).

2. **A resposta é D**. Apenas mensageiros químicos lipofílicos são capazes de se difundir para dentro da célula e se ligar a receptores de fatores de transcrição. Por serem insolúveis em água, devem ser transportados no sangue ligados a uma proteína. Citocinas, hormônios polipeptídicos e neurotransmissores pequenos não são lipofílicos (assim, A e B são incorretas). Por agirem pela regulação da transcrição gênica, seus efeitos são relativamente lentos (assim, C é incorreta). Como todos os mensageiros, são secretados em resposta a um estímulo específico (assim, E é incorreta).

3. **A resposta é D**. O hormônio da paratireóide é um hormônio polipeptídico e, assim, deve se ligar a um receptor de membrana plasmática em vez de a um receptor intracelular (assim, A e B são incorretas). Os hormônios que se ligam a receptores da membrana plasmática não precisam entrar na célula para transmitir seus sinais (assim, C é incorreta). Os receptores hepta-helicoidais agem por proteínas G heterotriméricas que têm uma subunidade α, e os receptores de tirosina-quinase agem por proteínas G monoméricas que não têm subunidades (assim, D é correta e E é incorreta).

4. **A resposta é C**. A $G_{\alpha s}$ normalmente ativa a adenilil-ciclase para produzir AMPc em resposta ao hormônio da paratireóide. Como o paciente tem um órgão final não-responsivo, ele deve ter uma deficiência na rota de sinalização (assim, A é incorreta), e o AMPc estaria diminuído. A atividade de GTPase diminuída aumentaria a ligação a adenilil-ciclase e a responsividade (assim, B é incorreta).

Nem IP_3, nem fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato estão envolvidos na transdução do sinal pela subunidade $G_{\alpha s}$.

5. **A resposta é A.** As proteínas que têm domínios SH2 se ligam a um sítio contendo uma determinada seqüência se aminoácidos e um resíduo de fosfotirosina. Elas não reconhecem resíduos de fosfosserina (assim, E é incorreta). Os domínios de homologia com plecstrina reconhecem o PI-3,4,5-trisfosfato.

Capítulo 12

1. **A resposta é D.** A fita complementar deve correr na direção oposta, a terminação 5' deve parear bases com o G da terminação 3' da fita citada. Portanto, a terminação 5' da fita complementar deve ser C. G poderia, então, parear com C, A com T, e T com A. B é incorreta porque as bases não pareiam umas com as outras nas seqüências indicadas, C é incorreta porque U não é encontrado no DNA, e E é incorreta porque ela tem a polaridade incorreta (o T 5' na resposta E não poderia parear com o G da 3' na seqüência citada).
2. **A resposta é C.** A fita de RNA deve ser complementar à fita de DNA, e A no DNA pareia com U no RNA, enquanto T no DNA pareia com A no RNA, G no DNA forma par com C no RNA, e C no DNA fará par com G no RNA. A e E são incorretas, pois contêm T, que é encontrado no DNA, não no RNA. B está incorreta porque as regras de pareamento de bases são quebradas quando as fitas são alinhadas de forma antiparalela. D está incorreta porque a polaridade das fitas está errada (se uma das terminações 5' e 3' fosse mudada, a resposta poderia ser correta).
3. **A resposta é D.** O fosfato está em uma ligação éster entre dois grupos ribose, gerando a ligação fosfodiéster. Nenhuma das outras interações é correta.
4. **A resposta é E.** Existem quatro possíveis bases a cada posição na molécula, portanto existe um total de 4^8 possibilidades. Isso resulta em 65.536 possíveis seqüências de DNA para uma molécula que tem somente 8 bases de comprimento.
5. **A resposta é B.** A estrutura é composta de fosfatos e desoxirribose em ligações fosfodiéster. As bases estão internas na estrutura, pareadas a bases na fita complementar e formando um conjunto de interações na hélice.

Capítulo 13

1. **A resposta é B.** A atividade exonuclease 3' para 5' é necessária para a checagem (verificar a base recentemente inserida e, se ela estiver incorreta, removê-la), e a transcriptase reversa não tem essa atividade, enquanto a pol δ tem. A transcriptase reversa e a pol δ sintetizam DNA na direção 5' para 3' (toda DNA-polimerase faz isso), e ambas seguem as regras de pareamento de bases de Watson-Crick (A com T ou U, G com C). A polimerase não pode sintetizar DNA na direção errada (3' para 5'), nem inserir inosina em uma cadeia de DNA em crescimento. Portanto, a única diferença entre as duas polimerases é a resposta B.
2. **A resposta é D.** Em 50 segundos, cada origem de replicação terá sintetizado 100 quilobases de DNA (50 em cada direção). Como existem 10 origens, 10 vezes 100 resultarão os 1.000 quilobases necessários para replicar o DNA. A primeira origem poderia estar a 50 quilobases da terminação; então cada uma das nove origens restantes poderia estar a 100 quilobases de distância.
3. **A resposta é E.** O papel do iniciador é providenciar um grupo 3'-OH livre para a DNA-polimerase adicionar o próximo nucleotídeo e formar uma ligação fosfodiéster. Quando o reparo do DNA ocorre, uma das bases restantes no DNA terá um 3'-OH livre, o qual a DNA-polimerase I usará para iniciar a extensão do DNA.
4. **A resposta é A.** A helicase ajuda a desenrolar a fita de DNA, seguindo com a DNA-girase, para que a forquilha de replicação possa manter o movimento. A atividade exonuclease 3'-5' é necessária para a checagem pela DNA-polimerase, a DNA-ligase conecta um 3'-OH com um fosfato adjacente, a primase coloca o iniciador de RNA, e a endonuclease AP direciona para os sítios apurínicos ou apirimidínicos (sem uma base purina ou pirimidina, respectivamente) para removê-la da fita de DNA.
5. **A resposta é B.** O xeroderma pigmentoso é um conjunto de doenças todas relacionadas a uma incapacidade de reparar dímeros de timina, levando a uma incapacidade de excluir DNA danificado por UV. Isso não afeta a passagem das polimerases, as quais podem sintetizar por meio de regiões danificadas, algumas vezes provocando mutações em sua trajetória. O gene primase, ou reparo de pareamento errôneo, não está envolvido na excisão de dímeros de timina. A habilidade de checagem das DNA-polimerases aparentemente não está envolvida nesse processo.

Capítulo 14

1. **A resposta é B**. O transcrito que é produzido é copiado da fita-molde do DNA, a qual deve ser de orientação oposta à do transcrito. Então, a terminação 5' da fita-molde poderia parear bases com a terminação 3' do transcrito, ou o G. Assim, CGTACGGAT poderia parear com o transcrito e poderia representar a fita-molde.
2. **A resposta é A**. Amanda pesa 50 kg, e, se 1 mg por kg de peso corporal é a DL_{50}, então, para Amanda, 5 mg de toxina poderiam atingir sua DL_{50}. Como um cogumelo contém 7 mg da toxina, a ingestão de somente um cogumelo poderia ser um evento fatal.
3. **A resposta é C**. As seqüências reforçadoras podem estar a milhares de bases de distância do promotor basal e ainda assim estimular a transcrição do gene. Isso é completado por alças de DNA para que a proteína se ligue à seqüência

reforçadora (transativadores) que também pode se ligar a proteínas ligadas ao promotor (co-ativadores). Um elemento proximal ao promotor é uma seqüência de DNA próxima ao promotor que pode ligar fatores de transcrição que auxiliam no recrutamento da RNA-polimerase à região promotora.

4. **A resposta é D**. Os procariotos e os eucariotos requerem a ligação de RNA-polimerase a um elemento promotor anterior ao sítio de início da transcrição. A resposta A se aplica somente para eucariotos; o mRNA procariótico não é capeado, nem contém uma cauda poli(A). Os procariotos não têm núcleo; portanto a terminação 5' de um mRNA é imediatamente disponibilizada para a ligação de ribossomos e a iniciação da transcrição (assim, a resposta B é incorreta). A resposta C é totalmente incorreta; a síntese de RNA, semelhante à síntese de DNA, é sempre na direção 5' para 3'. A resposta E é incorreta, pois os íntrons estão presentes somente em genes eucarióticos.
5. **A resposta é B**. A fita não-molde pode ser a fita idêntica à mensagem (com exceção de U por T) e complementar a fita-molde. Assim, a seqüência de RNA da extensão da fita não-molde poderia ser AGCUCACUG (idêntica à não-molde, ou fita codificadora, e complementar à fita-molde).

Capítulo 15

1. **A resposta é A.** É importante salientar que a questão está perguntando sobre os mecanismos de procariotos. Em procariotos, não existe núcleo (então E não pode ser a resposta correta), e a tradução inicia antes de a transcrição estar terminada (tradução-transcrição concomitante, então B está incorreta). Portanto, antes de o ribossomo poder mover-se de um códon para o próximo (translocação), ou a maquinaria de síntese protéica terminar (via fatores de terminação), inicialmente tRNA deve se ligar e alinhar com o mRNA para iniciar a tradução, indicando que a resposta A é o primeiro passo que deve ocorrer das alternativas listadas.
2. **A resposta é C.** Como o extrato contém todos os componentes normais, o cys-tRNA carregado com alanina competirá com o cys-tRNA carregado com cisteína para a ligação aos códons cisteína. Portanto, a proteína terá algumas alaninas colocadas no lugar de cisteínas, levando a uma deficiência de resíduos cisteína. A resposta A é incorreta, pois o tRNA reconhece o códon cisteína, não o códon alanina. A resposta B é incorreta devido à competição mencionada anteriormente.
3. **A resposta é C.** Existem 64 códigos de trinucleotídeos e somente 20 aminoácidos, então alguns aminoácidos têm mais do que um códon que codifica para eles. As outras respostas não remetem a esse resultado.
4. **A resposta é B.** A seqüência KDEL sinaliza receptores no complexo de Golgi para retornar as proteínas ao RE. Nenhuma das outras modificações listadas sinaliza um direcionamento ao RE para a proteína.
5. **A resposta é D.** Como cada códon tem três bases de extensão, existem quatro possíveis bases que podem preencher cada posição do códon (A, T, C ou G). Isso significa que existem 4 vezes 4 vezes 4 possíveis combinações de bases, para um total de 64 códons. Existem menos de 64 aminoacil-tRNA-sintetases, pois um dos tRNA reconhece mais de um códon devido à oscilação (assim, A está incorreta). Nem todas as bases participam na oscilação (G pode parear com U e C, A ou U podem parear com I, mas essas são as únicas combinações possíveis), e somente uma leitura aberta é usada para cada mensagem produzida (assim, B e C são incorretas). A taxa de síntese de proteínas não é dependente do número de códons, mas da velocidade com que os componentes necessários para sintetizar as proteínas podem ser conduzidos para os ribossomos e de quanto RNA está presente para ser traduzido.

Capítulo 16

1. **A resposta é E**. Muitos genes eucarióticos são organizados em óperons, nos quais um mRNA policistrônico contém os sítios de iniciação e terminação da tradução para diversos genes relacionados. Embora cada gene dentro do mRNA possa ser lido a partir de uma estrutura de leitura diferente, esta estrutura é sempre consistente com cada gene (assim, A é incorreta). A redundância nas interações códon/tRNA não tem relação com múltiplos cístrons dentro de um mRNA (assim, B é incorreta). As seqüências de operador estão no DNA e iniciam a transcrição, não a tradução (assim, C é incorreta). O *splicing* alternativo ocorre apenas em eucariotos (os quais têm íntrons), não em procariotos (D é incorreta).
2. **A resposta é D**. Para transcrever o lac óperon, a proteína repressora (produto do gene *lac* I) deve ligar a alolactose e deixar a região operadora, e o complexo AMPc-CRP deve se ligar ao promotor para que a RNA-polimerase possa se ligar. Das escolhas oferecidas, apenas a elevação dos níveis de AMPc pode permitir a transcrição do óperon quando a lactose e a glicose estão altas. A elevação de AMPc, mesmo que a glicose esteja presente, permitirá que o complexo AMPc-CRP se ligue e recrute RNA-polimerase. As respostas que se referem a mutações no repressor (respostas A e E) não afetarão a ligação de AMPc-CRP. As mutações no DNA (respostas B e C) não permitem a ligação de CRP na ausência de AMPc.
3. **A resposta é A**. O repressor irá se ligar ao operador e bloquear a transcrição de todos os genes no óperon a menos que seja impedido pelo indutor alolactose. Se o repressor perdeu sua afinidade pelo indutor, ele não pode se dissociar do operador, e os genes no óperon não serão expressos (assim, E é incorreta). Se o repressor perdeu sua afinidade pelo operador (resposta B), então o óperon será expresso de forma constitutiva. Como a questão afirma que há uma mutação no gene I (repressor), a resposta D é incorreta, e as mutações no gene I não afetam os fatores transativadores de ligação ao promotor, embora o único outro fator para o óperon lac seja o CRP.

4. **A resposta é B**. A seqüência, se lida de 5' para 3', é idêntica à seqüência complementar lida de 5' para 3'. Nenhuma das outras seqüências se encaixa nesse padrão.

5. **A resposta é A**. Todas as proteínas de ligação de DNA contêm uma hélice α que se liga ao sulco maior do DNA. Essas proteínas não reconhecem as moléculas de RNA (portanto, B é incorreta), nem formam ligações entre o esqueleto peptídico e o esqueleto de DNA (assim, C é incorreta; se fosse correta, como poderia haver qualquer especificidade na ligação de proteína ao DNA?). Apenas os dedos de zinco contêm zinco, e os dímeros são formados por pontes de hidrogênio, não por pontes dissulfeto.

Capítulo 17

1. **A resposta é B.** Todos os fragmentos de DNA são carregados negativamente e migrarão em direção à carga positiva. A única diferença entre os fragmentos é seu tamanho, e os fragmentos pequenos irão se mover mais rápido do que os maiores devido à sua habilidade de migrar através do gel em uma velocidade mais rápida.

2. **A resposta é E.** A enzima reconhece seis bases, e a probabilidade de a base correta estar em cada posição é 1 em 4; assim, a probabilidade total é $(1/4)^6$, ou 1 em 4.096 bases.

3. **A resposta é B.** A técnica de Sanger necessita de desoxirribonucleotídeos, didesoxirribunucleotídeos e um molde de DNA. Ela não utiliza Taq-polimerase (que é utilizada na PCR), nem necessita de transcriptase reversa (que é necessária para produzir DNA a partir de RNA).

4. **A resposta é C.** O brometo de etídeo é um corante que se intercala entre as bases de DNA e pode ser visualizado por luz UV. À medida que o gel é corrido, os fragmentos pequenos migram para distâncias maiores no gel (assim, A é incorreta), e o DNA migra em direção à carga positiva (devido às cargas negativas do esqueleto de fosfato; assim, B é incorreta). Quando uma molécula grande como o DNA humano é cortada com qualquer endonuclease, muitas bandas serão produzidas (não apenas três), e o DNA não é desnaturado antes de correr no gel (assim, D e E são incorretas). Na realização de *Southern blot*, ele é desnaturado após a transferência para o papel filtro.

5. **A resposta é C**. Um *Northern blot* permite que se determine quais genes estão sendo transcritos em um tecido no momento do isolamento do RNA. O mRNA é corrido no gel, transferido para um papel filtro e, então, analisado com uma sonda. Se albumina estiver sendo transcrita, então uma sonda para albumina deve dar um resultado positivo no *Northern blot*. Um rastreamento de biblioteca não indicará se um gene em particular está sendo transcrito, tão pouco um *Southern blot*. Essas técnicas permitem apenas que se determine que o gene está presente no genoma. Um *Western blot* analisa o conteúdo protéico, não o conteúdo de mRNA. A análise de VNTR não fornece informação se um gene é transcrito.

Capítulo 18

1. **A resposta é C.** O oncogene *ras* tem uma mutação puntual no códon 12 (posição 35 da cadeia de DNA) na qual T substitui G. Isso faz uma alteração de um códon que codifica glicina para um códon que codifica valina. Assim, há alteração de um único aminoácido no proto-oncogene (uma valina para uma glicina) que transforma *ras* em um oncogene.

2. **A resposta é C.** A Ras, quando oncogênica, perdeu sua atividade de GTPase e, assim, permanece ativa por um tempo mais longo. A está errada, pois as proteínas GAP ativam a atividade de GTPase da Ras, e essa mutação tornaria a Ras menos ativa. O AMPc não interage diretamente com a Ras (assim, B é incorreta), e se a Ras não pudesse mais se ligar a GTP, ela não estaria ativa (portanto, D também é incorreta). A Ras não é fosforilada pela MAP-quinase (E é incorreta).

3. **A resposta é** B. Os oncogenes retrovirais foram originalmente obtidos de genes de um cromossomo hospedeiro. Todos os retrovírus não contêm oncogenes (assim, A é incorreta); os proto-oncogenes são encontrados em células hospedeiras, não em vírus (assim, C é incorreta); os oncogenes que levam à doença humana são muito similares àqueles que são mutados em animais (assim, D é incorreta), e os oncogenes são versões expressas erroneamente ou mutadas de genes celulares normais, não de genes virais (assim, E é incorreta).

4. **A resposta é D.** Quando p53 aumenta em resposta à lesão de DNA, ele age como um fator de transcrição e induz a transcrição de p21, que bloqueia a fosforilação de Rb. O Rb, então, fica ligado ao fator de transcrição E2F, e o E2F não pode induzir os genes necessários para a transição de G_1 para S. O p53 não induz a transcrição de ciclina D ou cdk4 (assim, A e B são incorretas), não se liga ao E2F (C é incorreta), nem contém atividade de quinase (E é incorreta).

5. **A resposta é B.** Os genes supressores de tumor equilibram o crescimento e a senescência da célula. Quando não-expressos (uma mutação de perda de função), o equilíbrio se desloca para a proliferação celular e a gênese de tumor (assim, A é incorreta). A resposta C é incorreta, pois os genes supressores de tumor não agem sobre os genes virais; D é incorreta, pois os genes supressores de tumor não são especificamente dirigidos para apenas um aspecto do ciclo celular, e E é incorreta, pois uma perda de expressão dos genes supressores de tumor leva à formação de tumor, não à expressão desses genes.

Capítulo 19

1. **A resposta é E**. Ambas as ligações de fosfato ricas em energia estão localizadas entre grupos fosfato (ambos os fosfatos α e β e os fostatos β e γ). A ligação de fosfato entre o fosfato α e a ribose (ou adenosina) não é uma ligação rica em energia (assim, A e B são incorretas). Não há fosfato entre a ribose e a adenina, ou dois grupos hidroxila no anel da ribose; assim, as respostas C e D são incorretas.

2. **A resposta é C**. A alteração na entalpia, ΔH, é a quantidade de calor que pode ser liberada em uma reação. A primeira lei da termodinâmica afirma que a energia total de um sistema permanece constante, e a segunda lei da termodinâmica afirma que o universo tende a um estado de desordem (assim, A e B são incorretas). D é incorreta porque o $\Delta G^{0,}$ é a alteração de energia-padrão livre medida a 25ºC e em um pH 7,0. E é incorreta, pois uma ligação rica em energia libera mais do que cerca de 7 kcal/mol de calor quando é hidrolisada. A definição de ligação rica em energia é fundamentada na hidrólise de uma das ligações ricas em energia do ATP.

3. **A resposta é A**. A concentração dos substratos e produtos influencia a direção de uma reação. B é incorreta, pois reações com uma energia livre positiva, em concentrações de 1 M de substrato e produto, procederão na direção reversa. C é incorreta, pois a concentração de substrato e produto influencia a energia livre de uma reação. D é incorreta, pois a energia livre deve ser considerada (além da concentração de substrato e produto) para determinar a direção de uma reação. E é falsa; a eficiência de uma enzima não influencia a direção de uma reação.

4. **A resposta é C**. Um infarto do miocárdio resulta em bombeamento diminuído de sangue e, assim, em um suprimento diminuído de oxigênio para o coração (portanto, A é incorreta). A falta de oxigênio leva a uma falta de ATP (assim, B é incorreta) devido a uma inabilidade para realizar a fosforilação oxidativa. A falta de ATP diminui o funcionamento da Na^+/K^+– ATPase, a qual bombeia sódio para fora da célula em troca de potássio. Portanto, os níveis intracelulares de sódio aumentarão à medida que Na^+ entra na célula por outros mecanismos de transporte (assim, E é incorreta). A alta concentração intracelular de sódio, então, bloqueia o funcionamento do antiporte Na^+/H^+, o qual envia prótons para fora da célula em troca de sódio. Devido ao fato de o sódio intracelular ser alto, a força motora para essa reação é perdida, o que leva a H^+ intracelular aumentado ou a um pH intracelular mais baixo (assim, C é correta). O pH intracelular também aumenta devido à glicólise na ausência de oxigênio, o que produz ácido láctico. A perda do gradiente de sódio, acoplada com a falta de ATP, leva a cálcio aumentado na célula (assim, D é incorreta) devido a uma inabilidade de bombear cálcio para fora.

5. **A resposta é C**. O NAD^+ capta dois elétrons como íons hidreto para formar NADH (assim, A e B são incorretas). As respostas D e E são incorretas, pois o FAD pode captar dois elétrons únicos de átomos separados, junto com prótons, ou pode captar um par de elétrons.

Capítulo 20

1. **A resposta é E**. O complexo α-acetoácido-desidrogenase utiliza tiamina-pirofosfato, ácido lipóico, FAD, NAD^+ e CoASH. Desses, apenas o lipoato não é utilizado por nenhuma outra enzima e é exclusivo para os complexos da α-cetoácido-desidrogenase. Muitas desidrogenases utilizam NAD^+ como coenzima (como a malato-desidrogenase) ou FAD (como a succinato-desidrogenase) (assim, A e B são incorretas). C é incorreta, pois GDP não é uma coenzima para os complexos da α-cetoácido-desidrogenase. D é incorreta, pois H_2O não é uma coenzima.

2. **A resposta é B**. A tiamina-pirofosfato é a coenzima para os complexos da α-cetoglutarato-desidrogenase e piruvato-esidrogenase. Com esses complexos inativos, o ácido pirúvico e o α-cetoglutarato se acumulam e se dissociam para produzir ânion e H^+. Como o α-cetoglutarato não está listado como uma resposta, a única resposta possível é piruvato.

3. **A resposta é A**. A succinato-desidrogenase é a única enzima do ciclo do TCA localizada na membrana interna da mitocôndria. As outras enzimas estão na matriz mitocondrial. B é incorreta, pois succinato-desidrogenase não é regulada por NADH. C é incorreta, pois a α-cetoglutarato-desidrogenase também contém um FAD ligado (a diferença é que o FAD(2H) no α-cetoglutarato doa seus elétrons para o NAD^+, enquanto o FAD(2H) na succinato-desidrogenase doa seus elétrons diretamente para a cadeia de transporte de elétrons). D é incorreta, pois ambas succinato-desidrogenase e aconitase têm centros Fe-S. E é incorreta, pois a succinato-desidrogenase não é regulada por uma quinase. As quinases regulam enzimas por fosforilação (p. ex., a regulação de piruvato-desidrogenase ocorre por fosforilação reversível).

4. **A resposta é E**. O NADH diminui durante exercício para produzir energia para o exercício (se ele estivesse aumentado, inibiria o ciclo e o tornaria mais lento); dessa forma, a razão $NADH/NAD^+$ está diminuída, e a falta de NADH ativa o fluxo por isocitrato-desidrogenase, α-cetoglutarato-desidrogenase e malato-desidrogenase. A isocitrato-desidrogenase é inibida por NADH; assim, A é incorreta. A fumarase não é regulada; assim, B é incorreta. Os intermediários de quatro carbonos do ciclo são regenerados durante cada volta do ciclo; dessa forma, sua concentração não diminui (assim, C é incorreta). A inibição por produto da citrato-sintase tornaria o ciclo mais lento e não produziria mais energia; portanto, D é incorreta.

5. **A resposta é D**. O pantotenato é a vitamina precursora da coenzima A. A niacina é a vitamina precursora de NAD, e a riboflavina é a vitamina precursora de FAD e FMN. As vitaminas A e C são utilizadas apenas com modificações pequenas, se houver alguma.

Capítulo 21

1. **A resposta é B**. Para um componente estar no estado oxidado, ele deve ter doado, ou nunca ter recebido, elétrons. O complexo II metabolizará succinato para produzir fumarato (produzindo FAD(2H)), mas nenhum succinato está disponível nesse experimento. Assim, o complexo II

nunca recebe qualquer elétron e está sempre em um estado oxidado. O substrato malato é oxidado a oxaloacetato produzindo NADH, o qual doa elétrons para o complexo I da cadeia de transporte de elétrons. Esses elétrons são transferidos para a coenzima Q, a qual doa elétrons para o complexo III, para o citocromo C e, então, para o complexo IV. O cianeto bloqueará a transferência de elétrons do complexo IV para o oxigênio, de tal forma que todos os complexos prévios contendo elétrons serão afetados, e os elétrons ficarão "empilhados" nos complexos, tornando esses componentes reduzidos. Assim, as respostas A, C, D e E são incorretas.

2. **A resposta é D**. A força motriz de prótons consiste em dois componentes, um ΔpH e um $\Delta\psi$ (componente elétrico). A adição de valinomicina e potássio destruirá o componente elétrico, mas não o componente pH. Dessa forma, a força motriz de prótons diminuirá, mas ainda será maior do que zero. Assim, as outras respostas são todas incorretas.

3. **A resposta é D**. O dinitrofenol equilibra a concentração de prótons através da membrana interna da mitocôndria, destruindo, assim, a força motriz de prótons. Portanto, nenhuma das outras respostas é correta.

4. **A resposta é A**. A é correta, pois uma deficiência de centros Fe-S na cadeia de transporte de elétrons impediria a transferência de elétrons pela cadeia e reduziria a produção de ATP por fosforilação oxidativa. B é incorreta, pois a produção diminuída de água pela cadeia de transporte de elétrons não é de importância suficiente para causar desidratação. C é incorreta, pois o ferro não forma um quelato com NADH e FAD(2H). D é incorreta, pois o ferro não é um co-fator para a α-cetoglutarato-desidrogenase. E é incorreta, pois o ferro não acompanha os prótons que fazem o gradiente de prótons.

5. **A resposta é B**. B é correta, pois o NADH não seria reoxidado de forma tão eficiente pela cadeia de transporte de elétrons, e a razão NADH/NAD^+ aumentaria. A é incorreta, pois o ATP seria produzido em uma velocidade alta. Portanto, o ADP seria formado, e a razão ATP:ADP estaria baixa. C é incorreta, pois as doenças OXPHOS podem ser causadas por mutações no DNA nuclear e mitocondrial, e nem todas as proteínas oxphos são codificadas pelo cromossomo X. D é incorreta, pois, dependendo da natureza da mutação, a atividade do complexo II da cadeia de transporte de elétrons pode estar normal ou diminuída, mas não há razão para esperar uma atividade aumentada. E é incorreta, pois a integridade da membrana interna da mitocôndria não seria necessariamente afetada. Ela poderia ser, mas isso não seria esperado para todos os pacientes com distúrbios OXPHOS.

Capítulo 22

1. **A resposta é B**. Os maiores papéis da glicólise são produzir energia e produzir precursores para outras rotas de biossíntese. A gliconeogênese é a rota que produz glicose (assim, A é incorreta); o FAD(2H) é produzido na mitocôndria por uma variedade de reações, mas não por glicólise (portanto, C é incorreta); a síntese de glicogênio ocorre sob condições nas quais a glicólise está inibida (D é incorreta); e a glicólise não hidrolisa ATP para produzir calor (isso é termogênese sem calafrios; portanto, E é incorreta).

2. **A resposta é D.** Começando com o gliceraldeído-3-fosfato, as etapas que necessitam de energia da glicólise são desviadas. Como o gliceraldeído-3-fosfato é convertido em piruvato, duas moléculas de ATP serão produzidas (nas etapas da fosfoglicerato-quinase e da piruvato-quinase) e uma molécula de NADH será produzida (na etapa da gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase).

3. **A resposta é H**. Glicose-1-fosfato é isomerizada a glicose-6-fosfato, a qual entra na glicólise. Isso pula a etapa da hexoquinase, a qual utiliza 1 ATP. Dessa forma, iniciando com glicose-1-fosfato, serão produzidos os 2 ATP e 2 NADH normais, mas com a utilização de menos um ATP, para uma liberação total de 3 ATP e 2 NADH.

4. **A resposta é B.** A rota consome 2 ATP no início da rota e produz 4 ATP no final da rota para cada molécula de glicose. Portanto, a produção líquida de energia é 2 ATP para cada molécula de glicose. A glicólise sintetiza ATP por fosforilação no nível do substrato, não por fosforilação oxidativa (assim, A é incorreta), e sintetiza duas moléculas de piruvato no processo (assim, D é incorreta), e a etapa limitante de velocidade é a catalisada pela PFK-1 (assim, C é incorreta).

5. **A resposta é D.** Cada mol de glicose produz 2 moles de piruvato, 2 moles de ATP e 2 moles de NADH durante a glicólise. Como cada piruvato é convertido a acetil-CoA, 1 NADH é produzido. Cada acetil-CoA entra no ciclo do TCA para produzir 1 GTP, 3 NADH e 1 FAD(2H). Portanto, a oxidação de 1 mol de glicose liberaria um total de 2 ATP e 2 NADH a partir de reações glicolíticas; 2 NADH a partir da conversão de 2 moles de piruvato em 2 acetil-CoA, e 6 NADH, 2 GTP e 2 FAD(2H) a partir da oxidação de 2 moles de acetil-CoA no ciclo do TCA. Cada GTP tem a mesma energia que 1 ATP. Cada NADH mitocondrial é oxidado para produzir 2,5 ATPs. Cada NADH citoplasmático pode produzir 1,5 ATP (utilizando a lançadeira do glicerol-fosfato) ou 2,5 ATP (utilizando a lançadeira do malato-aspartato). Cada FAD(2H) mitocondrial é oxidado para produzir 1,5 ATP. Portanto, a liberação total de ATP a partir da oxidação de 1 mol de glicose é 30 a 32 ATP (30 se a lançadeira do glicerol-fosfato é utilizada, 32 se a lançadeira do malato-asparatato é utilizada).

Capítulo 23

1. **A resposta é D.** A ETF:CoQ-oxidorredutase é necessária para transferir os elétrons do FAD(2H) da acil-CoA-

desidrogenase para a coenzima Q. Quando a oxirredutase está faltando, os elétrons não podem ser transferidos, e a acil-CoA-desidrogenase não pode continuar a oxidar ácidos graxos, pois tem um co-fator reduzido em vez de um co-fator oxidado. Durante momentos de jejum, quando os ácidos graxos são a fonte primária de energia, nenhuma energia será fornecida, a gliconeogênese está parada e pode ocorrer morte. A falta dessas enzimas não afeta outras rotas, listadas como respostas potenciais.

2. **A resposta é C**. Um ácido graxo saturado de 18 carbonos necessitaria de oito espirais de oxidação de ácido graxo, as quais produzem 8 NADH, 8 FAD(2H) e 9 Ac-CoA. Como cada NADH origina 2,5 ATP e cada FAD(2H) origina 1,5 ATP, os co-fatores reduzidos originarão 32 ATP. Cada Ac-CoA origina 10 ATP, para um total de 90 ATP. Isto libera 122 ATP, mas devem ser subtraídos 2 ATP para a etapa de ativação, na qual duas ligações ricas em energia são quebradas. Assim, a liberação líquida é de 120 ATP para cada molécula de ácido graxo oxidada.
3. **A resposta é A**. A oxidação de ácido graxo é iniciada pela acil-CoA-desidrogenase (uma etapa de oxidação), seguida pela hidratação da ligação dupla formada na primeira etapa, seguida pela etapa da hidroxiacil-CoA-desidrogenase (outra oxidação) e, então, do ataque do β-carbonil pela CoA, quebrando uma ligação carbono-carbono (a etapa da tiolase).
4. **A resposta é D**. Uma falta de carnitina levaria a uma inabilidade de transportar acil-CoAs para dentro da mitocôndria. Isso levaria a uma diminuição na oxidação de ácido graxo (assim, A é incorreta); uma diminuição na produção de corpos cetônicos, pois os ácidos graxos não podem ser oxidados (assim, B é incorreta); uma diminuição nos níveis sangüíneos de glicose, pois a gliconeogênese está impedida devido a uma falta de energia (assim, C é incorreta), e nenhum aumento nos níveis de ácidos graxos de cadeia muito longa, pois são inicialmente oxidados nos peroxissomas e não necessitam de carnitina para entrar naquela organela (assim, E é incorreta). O sistema de ω-oxidação, o qual cria ácidos dicarboxílicos, é encontrado no RE, e à medida que a concentração de acil-CoA aumenta nos tecidos, eles são oxidados por essa rota alternativa.
5. **A resposta é E**. Os ácidos graxos são o PRINCIPAL substrato energético para o corpo durante exercício prolongado e jejum. A, B e C são incorretas, pois a glicose seria o principal substrato energético após alimentação. D é incorreta, pois, no início do exercício, glicogênio do músculo e gliconeogênese estão sendo utilizados como principal fonte de energia.

Capítulo 24

1. **A resposta é D.** O piridoxal fosfato é uma vitamina hidrossolúvel importante para o metabolismo de aminoácido e glicogênio, mas não tem nenhum papel na proteção contra o dano por radicais livres. O ascorbato (vitamina C), a vitamina E e o β-caroteno podem reagir com radicais livres para terminar a propagação em cadeia, enquanto a superóxido-dismutase utiliza o radical superóxido como substrato e o converte em peróxido de hidrogênio, e a glutationa-peroxidase remove o peróxido de hidrogênio da célula, convertendo-o em água.
2. **A resposta é B.** A superóxido-dismutase combinará dois radicais superóxidos para produzir peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular. Nenhuma das outras reações está correta.
3. **A resposta é C.** A vitamina E doa um elétron e um próton para o radical, convertendo-o, portanto, em uma forma estável (LOO• → LOOH). Ela, então, previne que o radical livre oxide outro composto por extrair um H• daquele composto e propagar uma reação em cadeia de radical livre. A forma radical da vitamina E gerada é relativamente estável e doa outro elétron e outro próton a um segundo radical livre, formando a vitamina E oxidada.
4. **A resposta é B.** A reação de Fenton é a doação não-enzimática de um elétron do Fe^{2+} ao H_2O_2 para produzir o Fe^{3+}, o radical hidroxil e o íon hidróxido. Apenas Fe^{2+} ou Cu^{1+} podem ser utilizados nessa reação; portanto, as outras respostas estão incorretas.
5. **A resposta é E.** As histonas cobrem o DNA nuclear e o protegem do dano por radical. O DNA mitocondrial não tem histonas, de tal forma que, quando os radicais são formados, o DNA pode ser facilmente oxidado. As respostas A e B não fazem sentido; a superóxido dismutase reduz as concentrações de radical, assim, o fato de ela estar presente nas mitocôndrias deve ajudar a proteger o DNA do dano, e não aumentá-lo, e a glutationa também protege contra o dano por radical, portanto, se o núcleo não a possuísse, seriam esperados níveis mais altos de danos do DNA nuclear, e não níveis reduzidos. As espécies reativas de oxigênio podem se difundir através de membranas, assim, as respostas C e D estão incorretas. Outros fatores que aumentam o dano do DNA mitocondrial em comparação ao DNA nuclear são a proximidade do DNA mitocondrial da membrana e o fato de que a maioria das espécies reativas seja formada a partir da coenzima Q, que é encontrada dentro das mitocôndrias.

Capítulo 25

1. **A resposta é A.** O acetato é convertido em acetil-CoA por outros tecidos, então ele pode entrar no ciclo TCA para formação de ATP. A resposta B é incorreta, porque o acetaldeído, e não o acetato, é tóxico para as células. C é incorreta porque o acetato é excretado pelos pulmões e pelos rins, e não pela bile. D é incorreta porque o acetato não pode entrar diretamente no ciclo TCA. Ele deve ser convertido primeiro em acetil-CoA. E é incorreta porque a álcool-desidrogenase converte etanol em acetaldeído, e não acetato em NADH.
2. **A resposta é a B.** Existe um aumento da proporção de $NADH/NAD^+$ porque o NADH é produzido pela conver-

são de álcool em acetato. Então, D é incorreta. O aumento da proporção de NADH/NAD^+ favorece a conversão de precursores glicogênicos (como lactato e oxaloacetato) em suas formas reduzidas (piruvato e malato, respectivamente), gerando NAD^+ a partir do metabolismo do etanol. Isso reduz a concentração de precursores glicogênicos e diminui a gliconeogênese (então, E é incorreta) e pode levar a acidose láctica. A é incorreta porque o aumento de NADH inibe a oxidação de ácido graxo. C é incorreta porque a cetogênese aumenta, devido ao aumento de NADH. O NADH inibe enzimas-chave do ciclo TCA, desviando, assim, acetil-CoA do ciclo TCA para a síntese de corpos cetônicos.

3. **A resposta é C.** Dissulfiram bloqueia a conversão de acetaldeído em acetato. O acúmulo de acetaldeído é tóxico e pode causar náuseas e vômitos. A e B são incorretas porque o dissulfiram não pode interferir na absorção do álcool ou na primeira etapa de seu metabolismo. D é incorreta porque um inibidor da acetaldeído (como dissulfiram) pode inibir a conversão de etanol em acetato, não aumentando a taxa de conversão. E é incorreta porque o dissulfiram não interfere na excreção de acetato, e o acúmulo de acetato não leva a náusea e vômito.

4. **A resposta é E.** Um aumento na concentração de CYP2E1 (o sistema MEOS) pode resultar no aumento do metabolismo de etanol e na depuração do sangue. Dessa forma, A é incorreta. Um aumento na taxa de produção de acetaldeído pode resultar. Assim, B é incorreta. O aumento na CYP2E1 pode causar um aumento na probabilidade de produzir radicais livres, então, C é incorreta. D é incorreta porque o dano hepático pode ser mais comum de ocorrer, em função de um aumento na produção de radicais livres. E é correta porque o aumento da taxa de depuração do etanol do sangue resulta em maior nível de tolerância ao ácool.

5. **A resposta é E.** A cirrose hepática é irreversível. Ela é um estado final do processo de fibrose hepática. A, B, C e D são, todas, conseqüências de doenças hepáticas, mas todas são reversíveis. Dessa forma, E é a única resposta correta.

Capítulo 26

1. **A resposta é D.** Uma vez que a insulina é injetada, o transporte de glicose para o interior dos tecidos periféricos é estimulado. Se o paciente não se alimentar de modo normal, o nível de glicose em jejum irá se reduzir excessivamente, devido à injeção de insulina, que aumenta o movimento da glicose para dentro do músculo e das células adiposas. O paciente começa a ficar hipoglicêmico, e, como resultado disso, adrenalina é liberada da medula adrenal, o que leva a sinais e sintomas associados a altos níveis de adrenalina no sangue. A e B são incorretas porque, como os níveis de glicose caem, glucagons são liberados do pâncreas para aumentar os níveis sangüíneos de glicose, o que deve aliviar os sintomas. E é incorreta porque a produção de corpos cetônicos não causa sintomas de hipoglicemia, nem deve estar significativamente elevada somente em poucas horas após o choque à insulina que o paciente está apresentando.

2. **A resposta é B.** Quando o glucagon liga-se a seu receptor, a enzima adenilato-ciclase é eventualmente ativada (por meio da ação de proteínas G), a qual aumenta os níveis de AMPc na célula. A AMPc-fosfodiesterase opõe-se a esse aumento e hidrolisa AMPc a 5'-AMP. Se a fosfodiesterase é inibida pela cafeína, os níveis de AMPc podem permanecer elevados por um longo período, realçando a resposta do glucagon. A resposta do glucagon no fígado é de exportar glicose (portanto, E é incorreta) e inibir glicólise (então, D é incorreta). O AMPc ativa proteína-quinase A, fazendo a resposta C também ser incorreta. O efeito da insulina é de reduzir os níveis de AMPc, então, A é incorreta.

3. **A resposta é B.** A liberação de insulina é dependente de um aumento na proporção de [ATP]/[ADP] dentro das células β-pancreáticas. Em MODY, a mutação na glicoquinase resulta em uma menor atividade dessa enzima em concentrações de glicose que normalmente estimulam a liberação de insulina. Então, maiores concentrações de glicose são necessárias para estimular a glicólise e o ciclo TCA para efetivamente aumentar a razão de ATP a ADP. A é incorreta porque níveis de AMPc não são relacionados ao mecanismo de liberação de insulina. C é incorreta porque a transcrição inicial não é envolvida, pois a liberação de insulina é atribuída à exocitose de insulina préformada em vesículas secretoras. D é incorreta porque o pâncreas não irá degradar glicogênio em condições de alta concentração de glicose plasmática, e E é incorreta, porque o lactato não participa da estimulação da liberação de insulina.

4. **A resposta é A.** O cérebro requer glicose porque ácidos graxos não podem prontamente atravessar a barreira hematencefálica e entrar nas células neuronais. Então, a produção de glicose é mantida em um nível adequado, para permitir que o cérebro continue adquirindo glicose para suprir suas necessidades energéticas. Os outros órgãos listados como possíveis respostas podem ser flexíveis e utilizar fontes alternativas de substrato energético (lactato, ácidos graxos e aminoácidos), e não são tão dependentes de glicose para suprir suas necessidades energéticas como o cérebro.

5. **A resposta é E.** Os músculos não apresentam receptores de glucagon, portanto, são refratários às ações desse. Entretanto, eles contêm GTP (formado via ciclo TCA), proteína G, proteína-quinase A e adenilato-ciclase (a estimulação das células musculares pela adrenalina aumenta os níveis de AMPc e ativa a proteína-quinase A).

Capítulo 27

1. **A resposta é E.** O transportador GLUT 5 tem uma afinidade bem maior por frutose do que por glicose e é o facilitador da escolha de captação de frutose pelas células. Os

outros transportadores GLUT não irão transportar frutose em quantidades significativas.

2. **A resposta é A.** O pâncreas produz α-amilase, que digere amido no lúmen intestinal. Se a α-amilase pancreática não pode entrar no lúmen devido a pancreatites, o amido não poderá ser digerido em extensões significativas (α-amilases salivares começam o processo, mas somente no período em que o alimento estiver na boca, porque as propriedades ácidas do estômago destroem a atividade da enzima). O desconforto é aumentado pelo fato de as bactérias digerirem o amido e produzirem ácidos e gases. Lactose, sacarose e maltose são dissacarídeos que podem ser clivados pelas dissacaridases intestinais localizadas nas células da membrana intestinal com borda em escova (então, A, D e E são incorretas). As atividades dessas enzimas são prontamente reduzidas se o pâncreas tiver dificuldade em excretar bicarbonato ao intestino e em função do baixo pH do conteúdo estomacal. Entretanto, as dissacaridases estão presentes em excesso e eventualmente irão digerir os dissacarídeos. Fibras não podem ser digeridas por enzimas humanas, então, C é incorreta.
3. **A resposta é C.** A insulina é necessária para estimular o transporte de glicose para o interior das células musculares e adiposas, mas não cerebrais, hepáticas, pancreáticas e células vermelhas do sangue. Então, o músculo poderia estar sentindo os efeitos da falta de glicose e não ser capaz de reabastecer seu próprio suprimento dessa substância devido à incapacidade de extrair glicose do sangue, mesmo que as concentrações plasmáticas de glicose estejam altas.
4. **A resposta é E.** Farinha contém amido, que levará à produção de glicose no intestino. Leite contém lactose, um dissacarídeo da glicose, e galactose, a qual será quebrada pela sacarase no intestino delgado. Então, glicose, galactose e frutose estarão disponíveis no lúmen do intestino delgado, para serem transportadas através das células epiteliais do intestino e atingir a circulação.
5. **A resposta é A.** As α-amilases salivar e pancreática irão digerir parcialmente o amido a glicose, mas maltose e dissacarídeos irão passar através do intestino e sair com as fezes, devido à atividade limitante das enzimas da membrana em borda em escova. Devido à atividade das enzimas amilase, existirão somente níveis normais de amido nas fezes (então, B é incorreta). Como nem toda glicose disponível entra no sangue, menos insulina será liberada pelo pâncreas (então, E é incorreta), o que leva a menos glicose captada pelos músculos e menor produção de glicogênio (assim, D é incorreta). Como lactose e frutose não podem ser digeridas em larga extensão no lúmen intestinal, será difícil apresentar altos níveis de glicose ou frutose no sangue (então, C é incorreta).

Capítulo 28

1. **A resposta é B**. A glicogênio-fosforilase produz glicose-1-fosfato; a enzima desramificadora hidrolisa pontos de ramificação e, assim, libera glicose livre. Noventa por cento do glicogênio contêm ligações α(1,4), e apenas 10% são ligações α(1,6); dessa forma, mais glicose-1-fosfato será produzida que glicose.
2. **A resposta é D**. Se, após jejum, as ramificações estiverem mais curtas do que o normal, a glicogênio-fosforilase deve ser funcional e capaz de ser ativada por glucagon (portanto, as respostas A e B são incorretas). A enzima ramificadora (amilo-4,6-transferase) também está normal, pois os pontos de ramificação estão presentes dentro do glicogênio (assim, E é incorreta). Devido ao fato de o glicogênio também estar presente, a glicogenina está presente para formar as cadeias de carboidratos, indicando que C é incorreta. Se a atividade desramificadora está anormal (a amilo-1,6-glicosidase), a glicogênio-fosforilase quebraria o glicogênio só até o ponto distante de quatro resíduos de glicose a partir dos pontos de ramificação e, então, pararia. Sem atividade desramificadora, o glicogênio resultante teria o número normal de ramos, mas as cadeias ramificadas seriam mais curtas do que o normal.
3. **A resposta é C**. A paciente tem doença de McArdle, uma doença do armazenamento do glicogênio causada por uma deficiência da glicogênio-fosforilase do músculo. Devido ao fato de ela não poder degradar glicogênio para produzir energia para a contração muscular, ela apresenta fadiga mais rapidamente do que uma pessoa normal (assim, A é incorreta), os níveis de glicogênio em seus músculos serão maiores que o normal devido à inabilidade de degradá-los (assim, D é incorreta), e seus níveis de lactato sangüíneo serão mais baixos devido à falta de glicose para entrar na glicólise. Ela dependerá, contudo, de glicose da circulação para energia; assim, seus níveis de glicose no antebraço estarão diminuídos (indicando que B é incorreta); devido ao fato de o fígado não ser afetado, os níveis de glicose podem ser mantidos por glicogenólise hepática (assim, E é incorreta).
4. **A resposta é A**. Após a ingestão de glicose, os níveis de insulina aumentam, os níveis de AMPc dentro da célula diminuem (assim, E é incorreta), e a proteína-fosfatase I é ativada (assim, D é incorreta). A glicogênio-fosforilase a é convertida em glicogênio-fosforilase b pela fosfatase (assim, B é incorreta), e a glicogênio-sintase é ativada pela fosfatase. As células sangüíneas vermelhas continuam a utilizar a glicose em sua velocidade normal; assim, a formação de lactato permanecerá a mesma (tornando a resposta C incorreta).
5. **A resposta é F**. Na ausência de insulina, as atividades estimuladas por glucagon predominam. Isso leva à ativação da proteína-quinase A, à fosforilação e à inativação da glicogênio-sintase, à fosforilação e à ativação da fosforilase-quinase e à fosforilação e à ativação da glicogênio-fosforilase.

Capítulo 29

1. **A resposta é D.** O gene da aldolase B tem dois alelos. Um ou ambos podem ter mutações. Devido ao fato de o

HFI ser recessivo, ambos os alelos devem estar mutados para essa doença ser expressa. Exame do gel mostra que o gene normal está cortado por AhaII para produzir um fragmento de restrição de 306 pB. Quando uma mutação cria um novo sítio AhaII dentro do gene, esse fragmento de 306 pB é cortado em dois fragmentos de 183 e 123 pB (os quais juntos contêm 306 pB). Jill e o marido, assim, são carreadores. Eles têm um alelo normal que produz o fragmento de 306 pB e um que tem um sítio AhaII adicional, o qual é cortado para liberar os dois fragmentos de 183 e 123 pB. Jack e a esposa têm a doença. Ambos seus alelos têm o sítio adicional para AhaII e produzem apenas fragmentos de 183 e 123 pB.

2. **A resposta é C**. Esse homem poderia ser o pai de ambas as crianças. Ele poderia fornecer um gene normal (o qual produz um fragmento AhaII de 306 pB) ou um gene mutante (o qual produz fragmentos AhaII de 183 e 123 pB) para seus filhos. Essa mãe poderia fornecer apenas o gene mutante (do qual ela tem duas cópias). Jill é uma portadora. Ela recebeu o gene mutante de sua mãe e poderia ter recebido o gene normal desse homem. Jack tem a doença. Ele recebeu um gene mutante de sua mãe e outro de seu pai.

3. **A resposta é C**. A transcetolase necessita de tiamina-pirofosfato como um co-fator, enquanto nenhuma das outras enzimas necessitam. Assim, se uma pessoa tem uma deficiência de tiamina, a atividade da transcetolase, quando isolada das células do sangue de um paciente, será aumentada pela adição de tiamina; em pessoas bem-nutridas, a adição de tiamina não aumentará a atividade da transcetolase.

4. **A resposta é B**. A frutose é convertida em frutose-1-fosfato pela frutoquinase, e a aldolase B no fígado quebra frutose-1-P em gliceraldeído e diidroxiacetona-fosfato. Assim, a principal etapa regulada da glicólise, PFK-1, é desviada, e PEP é rapidamente produzido. Quando a [PEP] aumenta, a piruvato-quinase produz piruvato. Quando a reação da gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase está ocorrendo rapidamente (lembre que frutoquinase é uma enzima de $V_{máx}$ alta, de tal modo que há uma grande quantidade de substrato passando pela rota glicolítica), a razão [NADH]/[NAD^+] intracelular é alta, e o piruvato produzido é convertido a lactato para regenerar NAD^+. Portanto, a etapa da piruvato-quinase não é desviada (portanto, A é incorreta). A aldolase B ou a lactato-desidrogenase não são reguladas alostericamente (assim, C e D são incorretas), e embora a razão [ATP]/[ADP] seja alta no fígado sob essas condições, a razão não afeta a formação de lactato (assim, E é incorreta).

5. **A resposta é B**. Redução de carboidratos aldeídos a alcoóis necessita de NADPH, o qual é primariamente produzido pela rota do pentose-fosfato. O 6-fosfogliconato não é um poliol (assim, A é incorreta; o 6-fosfogliconato é a glicose oxidada na posição 1 para formar um ácido carboxílico); o ribitol não é um produto da rota de pentose-fosfato (assim, C é incorreta; ribulose-5-fosfato é um produto da rota do pentose-fosfato); o desvio HMP utiliza glicose-6-fosfato como material inicial, não glicose livre como na rota do sorbitol (portanto, D e E são incorretas).

Capítulo 30

1. **A resposta é B**. O metabolismo da galactose necessita da fosforilação de galactose a galactose-1-fosfato, que pode ser, então, convertido a UDP-galactose (que é a etapa defeituosa no paciente) e, então, epimerizado a UDP-glicose. Embora a mãe não possa converter galactose e lactose devido à deficiência da enzima, ela pode formar UDP-glicose a partir de glicose-6-fosfato; uma vez que ela tenha formado UDP-glicose, ela pode epimerizá-la para formar UDP-galactose e pode sintetizar lactose (assim, a resposta A é incorreta). Contudo, devido à sua deficiência de enzima, a mãe não pode converter galactose-1-fosfato em UDP-galactose, ou UDP-glicose; assim, a galactose da dieta não pode ser utilizada para a síntese de glicogênio ou a produção de glicose (assim, C e D são incorretas). Após ingerir leite, os níveis de galactose estarão elevados no soro devido ao bloqueio metabólico nas células (portanto, E é incorreta).

2. **A resposta é D.** Os nucleotídeos ligados a carboidratos, como UDP-glicose, UDP-galactose e CMP-ácido siálico, doam sacarídeos para a cadeia de carboidratos em formação. Os outros carboidratos ativados não contribuem para essa síntese.

3. **A resposta é C**. A bilirrubina é conjugada com resíduos de ácido glicurônico para aumentar sua solubilidade. O ácido glicurônico é a glicose oxidada na posição 6; o ácido glicônico é a glicose oxidada na posição 1 e é produzido pela rota de desvio HMP.

4. **A resposta é C**. A glutamina doa o nitrogênio amida para frutose-6-fosfato para formar glicosamina-6-fosfato. Nenhum dos outros compostos contendo nitrogênio (respostas A, B e D) doa seu nitrogênio para carboidratos. O dolicol não contém nitrogênios e é o carregador para a síntese de cadeia de carboidrato de glicoproteínas com ligações N.

5. **A resposta é C**. A doença de Sandhoff é uma deficiência de atividade de ambas hexosaminidase A e B, causada pela perda da subunidade β. A etapa na qual os aminos derivados de carboidratos precisam ser retirados dos glicolipídeos estaria defeituosa, de tal forma que o globosídeo de GM2 se acumula nessa doença. As outras respostas são incorretas; GM1 contém um amino derivado de carboidratos, mas é convertida a GM2 antes de o bloqueio ser aparente.

Capítulo 31

1. **A resposta é D**. O glicerol é convertido em glicerol-3-fosfato, o qual é oxidado para formar gliceraldeído-3-fosfato. O gliceraldeído-3-fosfato formado segue a rota gliconeogênica até a glicose. O lactato é convertido em piruvato, o qual é, então, carboxilado para formar oxaloacetato. O

oxaloacetato é descarboxilado para formar fosfoenolpiruvato e, então, corre pela gliconeogênese até a glicose. Quando o glicerol entra na rota gliconeogênica na etapa do gliceraldeído-3-fosfato e o lactato na etapa PEP, os únicos compostos comuns entre esses dois pontos iniciais são as etapas de gliceraldeído-3-fosfato para glicose. Das escolhas listadas na questão, apenas glicose-6-fosfato está naquela parte da rota.

2. **A resposta é A**. A PEPCK converte oxaloacetato em fosfoenolpiruvato. Em combinação com a piruvato-carboxilase, ela é utilizada para desviar da reação da piruvato-quinase. Assim, os compostos que entram na gliconeogênese entre PEP (como lactato, alanina ou qualquer intermediário do ciclo do TCA) devem utilizar PEPCK para produzir PEP. O glicerol entra na gliconeogênese como gliceraldeído-3-fosfato, desviando da etapa da PEPCK. A galactose é convertida a glicose-1-fosfato, então a glicose-6-fosfato, desviando também da etapa da PEPCK. Os ácidos graxos de cadeia par somente podem originar acetil-CoA, a qual não pode ser utilizada para produzir glicose.

3. **A resposta é C**. O glucagon contrapõe a ação da insulina, por ser um hormônio catabólico (assim, A é incorreta), e seus níveis diminuem quando os níveis de insulina aumentam (assim, E é incorreta). Quando os níveis de insulina se elevarem após uma refeição, os níveis de glucagon diminuirão, indicando que D é incorreta. O músculo não tem receptores para o glucagon e não pode responder a ele; portanto, B é incorreta.

4. **A resposta é B**. Níveis altos de glicose sangüínea sinalizam a liberação de insulina pelo pâncreas; os níveis de glucagon permanecem os mesmos ou diminuem levemente.

5. **A resposta é D**. A hiperglicemia em um diabético não-tratado cria uma diurese osmótica, o que significa que excesso de água é perdido através da urina. Isso pode levar a uma diminuição do volume sangüíneo, levando à pressão sangüínea baixa e à freqüência cardíaca rápida. Ela leva também à desidratação. As respirações rápidas resultam de estimulação induzida por acidose do centro respiratório no cérebro, para reduzir a quantidade de ácido no sangue. Os corpos cetônicos se acumulam, levando à cetoacidose diabética (assim, B é incorreta). Os pacientes com coma hipoglicêmico (o qual pode ser causado por choque insulínico) não exibem desidratação, pressão sangüínea baixa ou respirações rápidas; de fato, eles suam profusamente devido à liberação de adrenalina (assim, C e E são incorretas). A resposta A é incorreta devido ao fato de a falta de um pâncreas ser uma condição fatal.

Capítulo 32

1. **A resposta é B.** Os quilomícrons transportam os lipídeos da dieta, e 80% ou mais do quilomícron são triglicerídeos. Todos os outros componentes estão presentes em menos do que 10%; conseqüentemente, todas as outras respostas estão incorretas.

2. **A resposta é D.** As lipoproteínas de alta densidade transferem as apoproteínas C_{II} e E para os quilomícrons nascentes para convertê-los em quilomícrons maduros. Os sais biliares são requeridos para emulsificar os lipídeos da dieta, o 2-monoacilglicerol é um produto da digestão da lipase pancreática, a lipoproteína lipase digere triacilgliceróis a partir dos quilomícrons maduros, e o sistema linfático entrega os quilomícrons nascentes para a corrente sangüínea.

3. **A resposta é A.** Tanto a ApoB-48 quanto a ApoB-100 são derivadas do mesmo gene e do mesmo mRNA (não há diferenças entre as duas em relação ao *splicing*; portanto, B está incorreta). Entretanto, a edição do RNA introduz um códon de terminação na mensagem de tal forma que interrompe a síntese protéica da B-48 a aproximadamente 48% ao longo da mensagem. Então, a clivagem proteolítica não está correta. A B-48 é encontrada somente em quilomícrons, e a B-100 é encontrada somente em partículas de VLDL.

4. **A resposta é B.** Os sais biliares devem estar acima de sua concentração micelar crítica (a concentração na qual os sais biliares formarão micelas) para formar micelas com os componentes da digestão da lipase, ácidos graxos e 2-monoacilgliceróis. Na ausência da formação de micelas, a absorção de lipídeos não ocorre. A concentração micelar crítica é independente da concentração de triglicerídeo (então, A está incorreta). Os sais biliares não se ligam ou ativam a lipase (então, C e E estão incorretas). A absorção dos sais biliares no íleo não está realmente relacionada à digestão de triglicerídeos (então, D está incorreta).

5. **A resposta é D.** Os quilomícrons nascentes seriam sintetizados e podem obter a apoproteína C_{II} somente a partir da HDL (então, A está incorreta). Os quilomícrons seriam degradados em parte pela lipoproteína-lipase, formando quilomícrons remanescentes. Entretanto, os quilomícrons remanescentes permaneceriam na circulação devido à falta de apoproteína E. B está incorreta porque as partículas de VLDL não são produzidas imediatamente após uma refeição; é o quilomícron que transporta triglicerídeos da dieta por todo o corpo. Devido ao fato de esses remanescentes ainda conterem uma pequena quantidade de triglicerídeos, os níveis séricos de triglicerídeos estariam elevados (então, C e E estão incorretas).

Capítulo 33

1. **A resposta é A.** Ácidos graxos, clivados a partir dos triacilgliceróis das lipoproteínas do sangue pela ação da lipoproteína lipase, são captados pelas células adiposas e reagem com a coenzima A para formar acil-CoA. A glicose é convertida pela diidroxiacetona-fosfato em glicerol-3-fosfato, que reage com o acil-CoA para formar o ácido fosfatídico (o tecido adiposo não possui glicerol-quinase, assim ele não pode utilizar o glicerol diretamente; portanto, B é incorreta). Após a liberação de fosfato inorgânico a partir do ácido fosfatídico, o diacilglicerol

resultante reage com um outro acil-CoA para formar um triacilglicerol, que é armazenado nas células adiposas (o 2-monoacilglicerol é um intermediário da síntese do triacilglicerol apenas no intestino; assim, C é incorreta). A ação da LPL libera ácidos graxos dos triglicerídeos e não está envolvida na sua síntese (assim, D é incorreta), e o acetoacetil-CoA é um intermediário na biossíntese de colesterol e corpos cetônicos, mas não na síntese de triglicerídeos (assim, E é incorreta).

2. **A resposta é D.** O triacilglicerol é degradado pela lipase pancreática, que libera os ácidos graxos nas posições 1 e 3. Os ácidos graxos liberados são, então, transportados para a superfície celular em micelas de sais biliares. A única exceção são os ácidos graxos de cadeia curta (menores do que o ácido palmítico), que podem se difundir para a superfície celular e entrar na célula intestinal na ausência de formação de micelas.

3. **A resposta é B.** Os carboidratos da dieta são convertidos em lipídeos no fígado e exportados via VLDL. Assim, uma dieta pobre em carboidratos poderia reduzir a formação de VLDL e reduziria a hiperlipoproteinemia.

4. **A resposta é C.** A esfingosina é derivada da condensação de palmitoil-CoA e serina. Ela é convertida em ceramida pela reação com um acil-CoA, e não com um UDP-açúcar. Não há glicerol em sua estrutura, e a cardiolipina é derivada de ácido fosfatídico e fosfatidilglicerol. Todas as células sintetizam esfingosina; sua síntese não é restrita às células neuronais.

5. **A resposta é E.** Quando os ácidos graxos estão sendo sintetizados, o malonil-CoA acumula, o que inibe a carnitina-palmitoil-transferase I. Isso bloqueia a entrada de ácidos graxos nas mitocôndrias para oxidação. Muitos tecidos sintetizam e também degradam ácidos graxos (tais como o fígado e o músculo; assim, A é incorreta). NADPH inibe a reação da glicose-6-fosfato-desidrogenase, mas não a oxidação de ácidos graxos (assim, B é incorreta). A insulina não tem efeito sobre a síntese das enzimas envolvidas na degradação de ácidos graxos (ao contrário do seu efeito na indução das enzimas envolvidas na síntese de ácidos graxos; assim, C é incorreta). Finalmente, os ácidos graxos recém-sintetizados são convertidos nos seus derivados de CoA para elongação e dessaturação; portanto, D é incorreta.

Capítulo 34

1. **A resposta é B.** A redução de HMG-CoA a mevalonato é catalisada pela HMG-CoA-redutase, a qual é uma enzima integral do retículo endoplasmático liso. A atividade da HMG-CoA-redutase é cuidadosamente controlada e é o passo limitante para a biossíntese *de novo* do colesterol. Os outros passos listados, embora sejam da via do colesterol, não são catalisados por enzimas reguladas.

2. **A resposta é C.** A reação da esqualeno-monoxigenase utiliza um átomo de oxigênio do O_2 para formar um epóxido em uma das extremidades da molécula de esqualeno, a qual requer NADPH como um co-substrato da reação. Todos os esteróis têm quatro anéis unidos (então, A é incorreta). Uma vez que o epóxido é formado em uma das extremidades da molécula de esqualeno, B é incorreta. D é incorreta porque o NADPH e não o $FADH_2$ fornece o poder redutor, e E é incorreta porque os carbono 1 e 30 permanecem independentes durante a ciclização do esqualeno.

3. **A resposta é C.** A presença de hiperglicemia crônica (normalmente acompanhada por altos níveis de ácidos graxos livres no sangue) causa efeitos tóxicos difusos em múltiplos órgãos ("toxicidade da glicose" e "lipotoxicidade"), em uma extensão que aumenta o risco para um futuro evento aterosclerótico para um nível igual àquele apresentado por um paciente que já tenha sofrido tal evento no passado. Os outros fatores de risco, na ausência de um infarto do miocárdio prévio, não requerem os limites menores sugeridos para o colesterol circulante.

4. **A resposta é B.** A $ApoC_{III}$ mostra-se inibitória da ativação da LPL. A ApoE age como um ligante para o reconhecimento de várias lipoproteínas com o receptor de LDL e com a proteína relacionada ao receptor de LDL (LRP) e, possivelmente, com um receptor ApoE distinto. A ApoB-48 é necessária para a montagem e a secreção normais de quilomícrons a partir do intestino delgado, enquanto a ApoB-100 é necessária no fígado para a montagem e a secreção de VLDL. A $ApoC_{II}$ é a ativadora de LPL.

5. **A resposta é B.** Uma vez que os quilomícrons contêm mais triacilgliceróis, eles são as lipoproteínas do sangue menos densas. Uma vez que a VLDL contém mais proteína, ela é mais densa do que os quilomícrons. Como a LDL é produzida pela degradação dos triacilgliceróis da VLDL, a LDL é mais densa do que a VLDL. A HDL é a mais densa das lipoproteínas do sangue. Ela tem a maior parte de proteína e a menor de triacilglicerol.

Capítulo 35

1. **A resposta é C**. A maioria das prostaglandinas são sintetizadas a partir do ácido araquidônico (*cis* $\Delta^{5,8,11,14}$ $C_{20:4}$), que é derivado do ácido graxo essencial ácido linoléico (*cis* $\Delta^{9,12}$ $C_{18:2}$). Glicose, ácido oléico ou acetil-CoA não podem formar ácido linoléico ou ácido araquidônico, porque os mamíferos não podem introduzir ligações duplas em seis carbonos a partir do ω final de um ácido graxo. Os leucotrienos também são derivados do ácido araquidônico, mas não são precursores das prostaglandinas; eles seguem uma rota diferente.

2. **A resposta é A.** O ácido araquidônico é produzido a partir do ácido linoléico (um ácido graxo essencial) por uma série de reações de elongação e dessaturação. O ácido araquidônico é armazenado nos fosfolipídeos de membrana, liberado e oxidado por uma cicloxigenase (a qual é inibida por ácido acetilsalicílico) no primeiro passo da biossíntese de prostaglandinas, prostaciclinas e tromboxanos. Os leucotrienos requerem a enzima lipoxigenase,

em vez da cicloxigenase, para sua síntese a partir do ácido araquidônico.

3. **A resposta é A.** A Aspirina® acetila a COX-1 e a COX-2, o que inibe essas enzimas. O Tylenol® contém acetaminofen, que é um inibidor competitivo da COX-1 e da COX-2, mas que não se liga covalentemente às enzimas. O Advil® contém ibuprofeno, um outro inibidor competitivo das enzimas COX. O Vioxx® e o Celebrex® contêm inibidores específicos da COX-2, que é a forma da cicloxigenase induzida durante a inflamação. O Vioxx® e o Celebrex® não inibem a atividade da COX-1.

4. **A resposta é C.** A liberação de TXA_2 pelas plaquetas, além de aumentar a agregação plaquetária, induz a vasoconstrição para reduzir o fluxo sangüíneo para a área ferida. O TXA_2 não tem efeito sobre as atividades da COX-1 e da COX-2 e induz broncoconstrição, mas não broncodilatação.

5. **A resposta é B.** A fosfolipase C é ativada por uma proteína Gq acoplada ao receptor de prostaglandina. A ativação da fosfolipase C provoca a hidrólise do fosfatidilinositol-bisfosfato (PIP_2) para produzir diacilglicerol e inositol-trisfosfato (IP_3). O IP_3 leva ao aumento dos níveis intracelulares de cálcio (ver Capítulo 11). A ativação da via da proteína-quinase A, por meio de uma proteína G e da adenilato-ciclase, não leva a um aumento dos níveis intracelulares de cálcio. A proteína-quinase C é ativada por diacilglicerol, um dos produtos da hidrólise do PIP_2, mas a proteína-quinase C não está envolvida no aumento dos níveis intracelulares de cálcio. A fosfolipase A_2 libera ácido araquidônico a partir dos fosfolipídeos, mas essa resposta não é requerida quando as prostaglandinas se ligam aos seus receptores.

Capítulo 36

1. **A resposta é B**. A acetona em sua respiração (que é produzida pela descarboxilação do acetoacetato; assim, E está incorreta) e as cetonas na urina indicam que a mulher está em cetoacidose diabética. Isso é causado pelos baixos níveis de insulina, portanto seus níveis sangüíneos de glicose estão altos, pois a glicose não está sendo captada pelos tecidos periféricos (assim, A e C estão incorretas). Uma injeção de insulina poderia reduzir seus níveis sangüíneos de glicose e diminuir a liberação de ácidos graxos dos triglicerídeos do tecido adiposo. Conseqüentemente, a produção de corpos cetônicos diminuiria. Injeções de glucagon simplesmente exacerbariam as condições atuais da mulher (assim, D está incorreta).

2. **A resposta é D.** Quilomícrons são lipoproteínas sangüíneas produzidas a partir da gordura da dieta. VLDL são produzidas principalmente a partir de carboidratos da dieta. IDL e LDL são produzidas a partir de VLDL. HDL não transporta triacilglicerol para os tecidos.

3. **A resposta é E.** A energia em excesso é armazenada como triglicerídeo; quando o excesso calórico é principalmente de triglicerídeos, para sintetizá-los, a energia é requerida na ativação dos ácidos graxos a seus derivados CoA antes da condensação com o glicerol-3-fosfato. Quando o excesso calórico é derivado principalmente de carboidrato, a energia deve ser utilizada para sintetizar ácidos graxos a partir de glicose; entretanto, essa energia é balanceada pela energia obtida quando a glicose é convertida em duas moléculas de acetil-CoA (2 ATP + 1 NADH). Assim, a quantidade de triglicerídeo que seria armazenada seria similar, a despeito da origem das calorias.

4. **A resposta é B**. O metabolismo do etanol leva à produção de NADH no fígado, que irá inibir a oxidação de ácido graxo nesse órgão. Como o paciente não tem se alimentado por cinco dias, a razão insulina/glucagon está baixa, a lipase hormônio-sensível está ativada, e os ácidos graxos estão sendo liberados pelo adipócito e captados pelo músculo e pelo fígado. Entretanto, como os níveis hepáticos de NADH estão altos, devido ao metabolismo do etanol, os ácidos graxos recebidos do adipócito são reempacotados no triacilglicerol (o NADH alto também promove a conversão de diidroxiacetona-fosfato em glicerol-3-fosfato) e secretados pelo fígado na forma de VLDL. Nenhuma das outras respostas é uma afirmação correta.

5. **A resposta é A**. Os problemas de coagulação são atribuídos à falta de vitamina K, uma vitamina lipossolúvel. A vitamina K é absorvida a partir da dieta em micelas mistas e empacotada nos quilomícrons para ser distribuída para os outros tecidos. Como indivíduos com abetalipoproteinemia não possuem a proteína transferidora de triglicerídeos microssomal e não podem produzir quilomícrons eficientemente, o resultado pode ser a deficiência de vitamina K. Tais pacientes também não podem produzir VLDL, mas a distribuição de vitaminas lipossolúveis não depende das partículas de VLDL, apenas de quilomícrons. As demais respostas são afirmações incorretas.

Capítulo 37

1. **A resposta é C.** O tripsinogênio, o qual é secretado pelo intestino, é ativado pela enteropeptidase, que é uma proteína encontrada no intestino (portanto, D é exatamente o contrário e incorreta). Uma vez que a tripsina é formada, ela irá ativar todos os outros zimogênios secretados pelo pâncreas. A tripsina não ativa o pepsinogênio (assim, B é incorreta), visto que o pepsinogênio é encontrado no estômago e autocatalisa sua ativação quando o pH diminui devido à secreção de ácido. A tripsina não tem efeito na motilidade intestinal (portanto, E é incorreta) e também não tem uma base de substratos mais ampla do que qualquer outra protease (a tripsina cliva no lado carboxi de cadeias laterais básicas, lisina e arginina; portanto, A é incorreta).

2. **A resposta é C.** Ela pode ser transportada por diferentes sistemas para aminoácidos. A leucina é um aminoácido essencial, então o corpo não pode sintetizá-la (portanto, A é incorreta). Se o intestino não pode absorver leucina,

logo os rins não têm a chance de reabsorvê-la, então B é incorreta. Leucina e isoleucina têm estruturas diferentes e não podem substituir uma à outra em todas as posições dentro de uma proteína; portanto, D é incorreta. A leucina é um importante componente das proteínas e é necessária para a síntese protéica, por isso E é incorreta.

3. **A resposta é D.** O kwashiorkor é uma doença que resulta da ingestão de uma dieta suficiente em calorias, mas carente em proteínas. Nenhuma das outras respostas é correta.

4. **A resposta é C.** O pepsinogênio, sob condições ácidas, autocatalisa sua conversão em pepsina no estômago. Tanto a enteropeptidase quanto as aminopeptidases são sintetizadas na forma ativa pelo intestino (assim, A e D são incorretas). A enteropeptidase ativa o tripsinogênio (assim, B é incorreta), o qual, então, ativa a pró-elastase (portanto, E é incorreta).

5. **A resposta é E.** Devido à falta de proteína na dieta, a síntese protéica é prejudicada no fígado (pela falta de aminoácidos essenciais). O fígado ainda pode sintetizar ácidos graxos a partir de carboidratos e de fontes de gordura, mas as partículas de VLDL não podem ser montadas devido à carência de apoproteína B100. Assim, os ácidos graxos permanecem no fígado, levando a um fígado gorduroso. Nenhuma das outras respostas explica esse achado.

Capítulo 38

1. O bebê I tem um defeito na carbamoil-fosfato-sintetase I (CPSI; resposta A) e o bebê IV tem um defeito na ornitina-transcarbamoilase (OTC; resposta B). Bebês com níveis altos de amônia, baixos de arginina e baixos de citrulina devem ter um defeito em uma enzima do ciclo da uréia anterior ao passo que produz citrulina, isto é, CPSI ou OTC. Se a CPSI é funcional e o carbamoil-fosfato é produzido, mas a sua metabolização não pode continuar, uma quantidade maior do que a normal é desviada para a via de síntese de pirimidinas, e o intermediário orotato aparece na urina. Portanto, o bebê I tem um defeito na CPSI (citrulina é baixa, e quantidades de orotato, na urina, menores do que o normal). O bebê IV tem um defeito na OTC; o carbamoil-fosfato é produzido, mas não pode ser convertido em citrulina, então a citrulina é baixa, e o orotato está presente na urina.

   Os bebês II e V têm altos níveis de citrulina, mas baixos níveis de arginina. Portanto, eles não podem produzir arginina a partir de citrulina. A argininossuccinato-sintetase ou a argininossuccinato-liase está defeituosa. Os níveis muito elevados de citrulina no bebê II sugerem que o bloqueio seja na argininossuccinato-sintetase (resposta C). No bebê V, os níveis de citrulina estão mais moderadamente elevados, sugerindo que a citrulina possa ser convertida em argininossuccinato e que o defeito seja na argininossuccinato-liase (resposta D). Assim, os intermediários acumulados do ciclo da uréia são distribuídos entre argininossuccinato e citrulina (os quais podem ser excretados na urina). Os altos níveis de arginina e a hiperamonemia mais moderada no bebê III sugerem que, nesse caso, o defeito seja na arginase (resposta E).

2. **A resposta é D**. Os nitrogênios na uréia são derivados diretamente do carbamoil-fosfato e do aspartato durante uma volta do ciclo. O nitrogênio da cadeia lateral da ornitina nunca é incorporado na uréia, pois ele permanece na ornitina (portanto, as respostas A, B e C são incorretas). A glutamina não doa diretamente um nitrogênio durante o ciclo da uréia; então, as respostas E e F também são incorretas.

3. **A resposta é C**. A glutamato-desidrogenase fixa a amônia no α-cetoglutarato, gerando glutamato, em uma reação reversível que também requer NAD(P)H. A alanina-piruvato-aminotransferase catalisa a transferência do nitrogênio da alanina para um α-cetoácido aceptor, mas não utiliza amônia como substrato. A glutaminase converte glutamina em glutamato e amônia, mas a reação não é reversível. A arginase quebra a arginina em uréia e orinitina, e a argininossuccinato-sintetase forma argininossuccinato a partir de citrulina e aspartato. As únicas outras duas enzimas que podem fixar amônia em compostos orgânicos são a carbamoil-fosfato-sintetase I e a glutamina-sintetase.

4. **A resposta é C**. A glicogênio-fosforilase necessita de piridoxal-fosfato para quebrar as ligações α-1,4 do glicogênio. Nenhuma das outras vias listadas contém uma enzima que necessite desse co-fator.

5. **A resposta é A**. A CPSI é o principal passo regulado, sendo ativada por N-acetilglutamato, a qual tem a síntese estimulada por arginina. Nenhuma das outras enzimas do ciclo da uréia é regulada alostericamente.

Capítulo 39

1. **A resposta é A.** A tirosina é derivada da fenilalanina, a qual requer BH_4, mas não vitamina B6. A vitamina B6 é necessária na síntese de serina (TA), de alanina (outra TA), de cisteína (β-eliminação, β-adição, γ-eliminação) e de aspartato (TA).

2. **A resposta é E.** Os outros produtos finais são acetoacetato, acetil-CoA, fumarato, oxaloacetato, α-cetoglutarato e piruvato.

3. **A resposta é C.** A forma clássica de PKU, uma deficiência de fenilalanina-hidroxilase, irá resultar na elevação de fenilalanina e fenilpiruvato. Entretanto, essa enzima não está entre as opções. Na variante não-clássica de PKU, há um problema na síntese ou na regeneração de BH_4. A enzima que converte BH_2 em BH_4 é a diidropteridina-redutase.

4. **A resposta é B.** A via na qual a metionina se converte em cisteína, e α-cetobutirato requer piridoxal-fosfato em dois passos: na reação da cistationina-β-sintase e na reação da cistationase. A conversão de fenilalanina em tirosina requer BH_4; de propionil-CoA em succinil-CoA requer B12; de piruvato em acetil-CoA requer tiamina-pirofosfato, ácido lipóico, NAD, FAD e coenzima A, e a de glicose em glicogênio não requer nenhum co-fator.

5. **A resposta é C.** O ácido fólico é necessário para a conversão de serina em glicina, e a serina é produzida a partir de 3-fosfoglicerato e alanina. O ácido fólico não é necessário para sintetizar aspartato (a partir de oxaloacetato por transaminação), glutamato (a partir de α-cetoglutarato por transaminação), prolina (a partir de glutamato por uma série de passos que não requerem ácido fólico) ou serina (a partir de 3-fosfoglicerato, sem a necessidade de metabolismo de um carbono).

Capítulo 40

1. **A resposta é D.** A reação de homocisteína para metionina requer N^5-metil-FH_4; a de serina para glicina requer FH_4 livre e gera N^5,N^{10}-metileno-FH_4; a betaína doa um grupo metila à homocisteína para formar metionina sem a participação de FH_4, e o anel de purina requer N^{10}-formil-FH_4 em sua biossíntese.
2. **A resposta é B.** O ácido propiônico é derivado do acúmulo de propionil-CoA. A via normal para a degradação de propionil-CoA é, primeiramente, uma carboxilação biotina-dependente para D-metilmalonil-CoA, uma racemização para L-metilmalonil-CoA e, então, o rearranjo dependente de B12 para succinil-CoA.
3. **A resposta é C.** Uma incapacidade para hidrolisar proteínas da dieta e liberar a B12 ligada levaria a uma deficiência. A insuficiência pancreática resultaria em uma redução das proteases do pâncreas e uma reduzida capacidade para liberar B12 de proteína. Tanto a proteína ligadora-R quanto o fator intrínseco são requeridos para a absorção apropriada de B12. A proteína animal contém altos níveis de B12, e o ácido glutâmico é conjugado ao ácido fólico, e não à vitamina B12. A absorção de ácido fólico não afeta a absorção de B12.
4. **A resposta é B.** As três únicas formas de folato que transferem carbonos são as formas N^5-metil-FH_4, N^5,N^{10}-metileno-FH_4 e N^{10}-formil-FH_4. Nenhuma das outras formas participa de reações nas quais o carbono é transferido. A forma N^5-metil transfere o grupo metila para formar metionina a partir de homocisteína.
5. **A resposta é E.** A colina, derivada da fosfatidilcolina, é convertida em betaína (trimetilglicina). A betaína pode doar um grupo metila à homocisteína para formar metionina mais dimetilglicina. A sarcosina é a N-metilglicina, que é formada quando o excesso de SAM metila a glicina, mas ela não é usada como doadora de metil nessa reação.

Capítulo 41

1. **A resposta é A.** Tanto carbamoil-fosfato-sintetase I quanto carbamoil-fosfato-sintetase II, utilizam dióxido de carbono como fonte de carbono na produção de carbamoil-fosfato. A CPS-I está localizada na mitocôndria, enquanto a CPS-II está no citoplasma (assim, B é incorreta). A CPS-I pode fixar amônia; a CPS-II necessita de glutamina como fonte de nitrogênio (assim, C é incorreta). O N-acetil-glutamato ativa a CPS-I; a CPS-II é ativada por PRPP (assim, D é incorreta). O UMP inibe a CPS-II, mas não tem efeito sobre a CPS-I (assim, E também é incorreta).
2. **A resposta é B.** Uma falta de atividade de glicose-6-fosfato (doença de von Gierke) leva a um acúmulo desse composto, o qual pode levar a níveis elevados de ribose-5-fosfato e, então, a um aumento nos níveis de PRPP. Quando os níveis de PRPP se elevam, a síntese de purinas é estimulada, levando a níveis excessivos de purinas no sangue. A degradação extra de purinas leva à produção de ácido úrico e gota. Uma perda da atividade da PRPP-sintetase ou da atividade da glutamina-fosforribosil-amidotransferase levaria a síntese reduzida de purina e hipouricemia (assim, respostas A e D são incorretas). A falta de glicose-6-fosfato-desidrogenase impediria a produção de ribose-5-fosfato e, portanto, não levaria a produção excessiva de purina. A falta de purina-nucleosídeo-fosforilase impediria a rota de salvação, levando a acúmulo de nucleosídeos. A atividade de purina-nucleosídeo-fosforilase é necessária para sintetizar ácido úrico, assim, na ausência dessa enzima, menos ácido úrico seria produzido (portanto, E é incorreta).
3. **A resposta é C.** O defeito enzimático na síndrome de Lesch-Nyhan envolve a hipoxantina-guanina-fosforribosiltransferase (HGPRT). Essa enzima converte a base livre em um nucleotídeo, especificamente guanina em GMP e hipoxantina em IMP. A adenina-fosforribosiltransferase (APRT) converte adenosina em AMP (portanto, B é incorreta). Não há enzimas para converter guanosina em GMP ou timina em TMP (assim, D e E são incorretas). A nucleosídeo-pirimidina-fosforilase converterá timina em timidina, mas não no nível do nucleotídeo. A timidina-quinase converte timidina em TMP (assim, F é incorreta).
4. **A resposta é B.** O alopurinol inibe a conversão de hipoxantina em xantina e de xantina em ácido úrico. Isso ocorre porque ambas as reações são catalisadas pela xantina-oxidase, o alvo do alopurinol. A resposta A é incorreta porque o AMP não é diretamente convertido em XMP (o AMP, quando degradado, é desaminado para formar IMP, o qual perde seus fosfatos para se tornar inosina, que sofre fosforilação para produzir hipoxantina e ribose-1-fosfato). C é incorreta porque a conversão de inosina em hipoxantina, catalisada pela nucleosídeo-fosforilase, não é inibida por alopurinol. D é incorreta porque a conversão de hipoxantina em xantina ocorre no nível de base livre, não no nível de nucleosídeo. E é incorreta porque o GMP é convertido primeiro em guanosina (perda de fosfato), a guanosina é convertida em guanina e ribose-1-fosfato, e a guanina é, então, convertida em xantina pela guanase.
5. **A resposta é B.** Se o dGTP fosse acumulado na célula, ele iria se ligar ao sítio de especificidade do substrato da ribonucleotídeo-redutase e direcionaria a síntese de dADP. Isso levaria a elevações dos níveis de dATP, os quais inibem a atividade ou a ribonucleotídeo-redutase. A inibição da ribonucleotídeo-redutase leva a uma

interrupção da proliferação celular, quando o suprimento de desoxirribonucleotídeos para síntese de DNA se torna limitado. A é incorreta porque o ATP precisaria se ligar ao sítio de especificidade do substrato para dirigir a síntese de dCTP. C é incorreta porque a enzima funciona apenas sobre difosfatos; o AMP nunca seria um substrato para essa enzima. D é incorreta por que a tiorredoxina é sempre regenerada e não se torna limitante de velocidade para a reação da redutase. E é incorreta porque o dGTP não se liga ao sítio de atividade da redutase, apenas o ATP (ativador) ou o dATP (inibidor) são capazes de se ligarem ao sítio de atividade.

Capítulo 42

1. **A resposta é D.** Níveis altos de aminoácidos no sangue estimulam o pâncreas a liberar glucagon (portanto, as respostas A, C, E e G estão incorretas). A insulina também é liberada, mas a razão glucagon/insulina é tal que o fígado ainda utiliza os carbonos dos aminoácidos para sintetizar glicose (assim, A, E e F estão incorretas). Entretanto, os níveis de insulina estão altos o suficiente para estimular a captação de BCAA para o músculo para oxidação (assim, E, F, G e H estão incorretas).
2. **A resposta é C.** A rota seguida é glutamina a glutamato, a semialdeído do glutamato, a ornitina e, então, após condensação com o carbamoil-fosfato, a citrulina. Aspartato, succinil-CoA, serina e fumarato não fazem parte dessa rota.
3. **A resposta é D.** O cortisol é liberado durante o jejum e em momentos de estresse e sinaliza para as células musculares iniciarem a degradação protéica ubiquitina-mediada. Os outros hormônios listados não têm esse efeito no metabolismo protéico muscular. A insulina estimula a síntese protéica; o glucagon não tem nenhum efeito no músculo, já que o músculo não possui receptores para glucagon. A adrenalina inicia a degradação do glicogênio, mas não a degradação de proteína, e a glicose não é uma molécula sinalizadora para o músculo assim como ela pode ser para o pâncreas.
4. **A resposta é D.** A glutamina é derivada do glutamato, o qual é formado a partir do α-cetoglutarato. Apenas a isoleucina e a valina podem produzir glutamina, porque a leucina é estritamente cetogênica. Esses aminoácidos produzem succinil-CoA, a qual faz a volta no ciclo do TCA para formar citrato (após se condensar com acetil-CoA), que, então, forma isocitrato (a resposta correta), o qual é convertido em α-cetoglutarato. Uréia, piruvato, fosfoenolpiruvato e lactato não são intermediários necessários na conversão dos carbonos dos BCAA em carbonos da glutamina.
5. **A resposta é B.** Um indivíduo em sepse será catabólico, e a degradação de proteína excede a ingestão de proteína (levando a um balanço nitrogenado negativo; assim, A, C e E estão incorretas). O fígado está sintetizando glicose a partir de precursores aminoácidos para aumentar os níveis de glicose sangüínea para as células do sistema imunológico e para o sistema nervoso (assim, a gliconeogênese está ativa, e D e F estão incorretas). A liberação e a oxidação de ácidos graxos também estão estimuladas para fornecer uma fonte de energia para o fígado e o músculo esquelético (indicando que C, D e F estão incorretas).

Capítulo 43

1. **A resposta é E.** Um tumor do córtex adrenal secreta uma quantidade excessiva de cortisol, o qual é liberado no sangue, e afeta desfavoravelmente a tolerância à glicose, suprime a secreção hipofisária de ACTH e, por meio da hipercortisolemia crônica, causa as mudanças físicas descritas nesse paciente. Diabetes melito insulina-dependente e não-insulina-dependente não-complicados podem ser eliminados como um possível diagnóstico, pois não estão associados a níveis plasmáticos elevados de cortisol e baixos de ACTH. Nesse paciente, a hiperglicemia resultou dos efeitos diabetogênicos da hipercortisolemia crônica. Um tumor secretor de ACTH da glândula pituitária anterior poderia causar hipercortisolemia, a qual, por sua vez, poderia afetar adversamente a tolerância à glicose, mas, nesse caso, os níveis plasmáticos de ACTH estariam elevados em vez de 0 pg/mL. A glândula pituitária posterior secreta oxitocina e vasopressina, mas nenhuma delas influencia os níveis de glicose sangüínea, cortisol ou ACTH.
2. **A resposta é A.** Níveis elevados de glicose sangüínea causam uma diminuição nos níveis de hormônio do crescimento no sangue. Esse fato serve como base para o teste de supressão de glicose para o hormônio do crescimento. B, C e D poderiam causar um aumento nos níveis de hormônio do crescimento, enquanto E não afetaria o teste.
3. **A resposta é B.** Quando o iodo está deficiente na dieta, a tireóide não produz quantidades normais de T_3 e T_4. Conseqüentemente, há menos inibição por *feedback* da produção e liberação de TSH; assim, uma secreção aumentada de TSH seria observada. Não há efeito direto sobre a síntese de tireoglobulina (portanto, A está incorreta). TRH é liberado pelo hipotálamo para liberar TSH da pituitária; uma falta de hormônio da tireóide aumentaria, e não diminuiria, a produção de TRH (portanto, C está incorreta). Uma superprodução dos hormônios da tireóide leva ao aumento na produção de calor e perda de peso; a falta dos hormônios da tireóide não provoca esses sintomas (portanto, D e E estão incorretas).
4. **A resposta é A.** A mulher está apresentando hipotireoidismo. O TSH está elevado na tentativa de secretar mais hormônio da tireóide devido ao fato de a dose existente ser muito baixa para suprimir a liberação de TSH.
5. **A resposta é C.** Se 15% do T_4 radioativo estão ligados ao anticorpo, a quantidade de T_4 em 0,1 mL de soro do paciente é de 0,015 μg/0,1 mL, ou 15 μg/dL (1,0 dL = 100 mL).

Capítulo 44

1. **A resposta é A.** A quantidade aumentada de 2,3-bisfosfoglicerato na célula vermelha favorecerá a conformação desoxi da hemoglobina e, então, permitirá que mais oxigênio seja liberado nos tecidos. Isso é útil, pois a hemoglobina não é tão saturada em altitudes elevadas quanto em baixas elevações, devido às menores concentrações de oxigênio em altitudes elevadas. As respostas C e D são incorretas, pois as células vermelhas não sintetizam proteínas. A resposta E é incorreta, pois a redução do pH sangüíneo não ajudará na entrega de oxigênio; o efeito Bohr age melhor quando o pH tecidual é menor do que o pH sangüíneo, para estabilizar a forma desoxi da hemoglobina. Se o pH de ambos (sangue e tecidos) é igual, o efeito Bohr não poderia ocorrer.
2. **A resposta é D**. O menino está apresentando intoxicação por chumbo, que interrompe a síntese do heme nos passos da ALA-desidratase e ferroquelatase. Sem heme, a capacidade de carregamento de oxigênio pelo sangue é reduzida, e o fluxo de elétrons é reduzido através da cadeia de transporte de elétrons, devido à perda dos citocromos funcionais. Juntos, eles conduzem a uma incapacidade de gerar energia, o que resulta em fadiga. A é incorreta, pois, embora uma deficiência de ferro pudesse conduzir aos mesmos sintomas, isso poderia não ser esperado nesse paciente devido a sua ingestão diária de vitamina. A ingestão de chumbo não conduzirá a uma perda de ferro. B e C são incorretas, pois deficiências de B12 e de folato conduzirão a uma anemia macrocítica, devido a uma interrupção da síntese de DNA. E é incorreta, pois a ingestão de fragmentos com tinta provavelmente não leve a uma deficiência de B6 em uma criança, particularmente uma que esteja ingerindo vitaminas diariamente.
3. **A resposta é C**. A ativação do gene que forneceria uma alternativa funcional para o gene β faria com que a deficiência da proteína β fosse superada. Somente a cadeia γ pode fazer isso, mas ela normalmente é encontrada apenas na hemoglobina fetal. A cadeia δ também é uma globina β substituída, mas não foi listada como uma resposta potencial. B é incorreta, pois a cadeia β sofreu mutação, e ela já está sendo expressa. Ao contrário do gene α, no qual há duas cópias por cromossomo, há somente uma cópia para o gene β por cromossomo. Os outros genes listados (respostas A, D e E) são substituições de cadeias α, e a expressão desses genes não aliviará o problema hereditário no gene β.
4. **A resposta é D**. Os únicos dois tipos de células sangüíneas que perdem o núcleo são as células sangüíneas vermelhas maduras e as plaquetas. As plaquetas originam-se a partir do brotamento da membrana do megacariócito e são essencialmente sacos de membrana contendo o conteúdo citoplasmático de sua célula precursora. Todos os outros tipos de células listados contêm um núcleo.
5. **A resposta é D.** As talassemias resultam de um desequilíbrio na síntese das cadeias α e β. As síntese excessiva de cadeia α resulta em sua precipitação nas células vermelhas em desenvolvimento, as quais com freqüência matam a célula que está se desenvolvendo. A criança mais gravemente afetada tem uma razão α/β de 1 para 5, enquanto a criança menos afetada tem uma razão de 1 para 2,5. Quando as cadeias β estão em excesso, elas formam tetrâmeros estáveis que ligam, mas não liberam oxigênio, reduzindo a capacidade da célula vermelha em entregá-lo. Então, essa diferença na razão das cadeias é muito importante na atuação da célula vermelha.

Capítulo 45

1. **A resposta é D**. Sob condições de ingestão protéica reduzida, aminoácidos essenciais estão escassos, e o fígado reduz a síntese protéica, incluindo a das proteínas plasmáticas circulantes. A redução das proteínas plasmáticas resulta em pressão osmótica mais baixa, de tal forma que o excesso de fluido no espaço extravascular não pode retornar para o sangue e permanece fora da circulação, acumulando-se nos tecidos.
2. **A resposta é C**. A varfarina inibe a redução do epóxido de vitamina K, de tal forma que os níveis de vitamina K ativa diminuem. Isso reduz a γ-carboxilação dos fatores de coagulação. Na ausência de γ-carboxilação, os fatores não podem se ligar ao cálcio para formar complexos associados à membrana com outros fatores de coagulação. A varfarina não influencia a capacidade do fígado em sintetizar os fatores de coagulação (o fator sintetizado não se modifica), nem inibe especificamente a ativação do Fator XIII. A inibição é mais global do que o ataque a um passo na cascata de coagulação sangüínea. Os níveis plasmáticos de cálcio não são alterados por varfarina, cuja presença, na verdade, diminui a atividade da proteína C, pois essa é uma das proteínas que é γ-carboxilada em uma reação dependente de vitamina K.
3. **A resposta é C.** A proteína C ativada inibe a cascata de coagulação; na ausência de proteína C, a regulação da coagulação é prejudicada e pode haver a formação desnecessária de coágulos. Mutações em qualquer das outras respostas listadas levariam a um sangramento excessivo, pois um componente essencial da cascata de coagulação poderia ter sido inativado.
4. **A resposta é C.** A hemofilia clássica é a ausência do Fator VIII, o qual é um co-fator necessário para a ativação do Fator X pelo Fator IXa. O Fator II é ativado diretamente pelo Fator Xa, e o Fator IX é diretamente ativado pelo Fator XIa. As proteínas C e S são ativadas diretamente pela trombina, o Fator IIa.
5. **A resposta é B.** A hemofilia B é uma mutação inativadora no Fator IX, de tal forma que o Fator IXa não pode ser formado. O Fator XIa é formado, mas seu substrato, o Fator IX, é defeituoso e resulta em uma proteína inativa.

Capítulo 46

1. **A resposta é C.** O suco de toranja contém um componente que bloqueia a atividade da CYP3A4, que é a isoenzima de citocromo P450, que converte as estatinas em suas formas inativas. Se a enzima de degradação está inibida, os níveis de estatina aumentam acima do normal, acelerando o seu dano às células musculares. O suco de toranja

não afeta a captação hepática de estatinas (assim, A está incorreta), nem acelera o seu metabolismo (assim, B também está incorreta). Embora a HMG-CoA-redutase seja um alvo das estatinas, o suco de toranja não causa *upregulation* nem *downregulation* da quantidade de enzima presente nas células (portanto, D e E estão incorretas).

2. **A resposta é D.** As enzimas citocromo P450 oxidam seus substratos transferindo os elétrons ao oxigênio molecular para formar água e um produto hidroxilado. Essas enzimas requerem NADPH (assim, B está incorreta) e estão localizadas na membrana do retículo endoplasmático (assim, A está incorreta). O oxigênio não induz todos os membros de citocromo P450 (embora ele seja substrato para todas essas enzimas; assim, C está incorreta), e, apesar de essas enzimas agirem por um mecanismo radicalar, os produtos finais não são radicais (indicando que E está incorreta).

3. **A resposta é D.** A doença hepatocelular reduz a síntese protéica no fígado, o que leva a níveis reduzidos de produção de LCAT e triglicerídeo-lipase hepática (assim, as respostas A e C estão incorretas). Como a atividade da LCAT está reduzida, a formação de colesterol-éster nas partículas circulantes será reduzida (assim, B está incorreta). Como um fígado doente tem problemas para sintetizar glicose, a liberação de ácidos graxos dos adipócitos está aumentada para fornecer energia (assim, E está incorreta). Os níveis séricos de triacilglicerol estão aumentados devido à redução da atividade da triglicerídeo-lipase hepática; a atividade da LPL também está reduzida na doença hepática.

4. **A resposta é D.** O etanol induz o sistema CYP2E1 que converte acetaminofen em NAPQI, um intermediário tóxico. Sob condições normais (níveis não-induzidos de CYP2E1), a conversão de acetaminofen em NAPQI resulta na produção de níveis baixos dessa substância que pode ser facilmente destoxificada. Entretanto, quando a CYP2E1 está induzida, os níveis excessivos de NAPQI, produzidos quando o paracetamol é ingerido em altas doses, não podem ser prontamente destoxificados, e o NAPQI se liga a proteínas, inativando-as e levando à morte do hepatócito. A toxicidade não tem relação com os níveis de glicemia (assim, A e C estão incorretas), nem com a secreção de VLDL (a resposta E, portanto, está incorreta). O etanol não inibe a destoxificação do paracetamol *per se*; em vez disso, ele aceleraria um dos destinos metabólicos potenciais do paracetamol.

5. **A resposta é C.** A proteína reguladora da glicoquinase regula a expressão dessa enzima em nível pós-transcricional. A deficiência da atividade da proteína reguladora resulta na menor presença de glicoquinase na célula e na redução global da fosforilação da glicose no fígado. Isso resulta na menor remoção da glicose circulante pelo fígado e no aumento do tempo de *clearance* dos níveis de glicose até seu retorno aos níveis de jejum. A diminuição do K_m ou o aumento da $V_{máx}$ da glicoquinase levaria a um efeito oposto: fosforilação aumentada da glicose pelo fígado e depuração acelerada da circulação (assim, A e B estão incorretas). O fígado não expressa hexoquinase; então, as respostas D e E também estão incorretas.

Capítulo 47

1. **A resposta é C.** O alongamento ajuda na estimulação do fluxo sangüíneo para os músculos, que irão aumentar o metabolismo oxidativo (permitindo o melhor aporte de oxigênio). O alongamento *per se* não estimula a liberação de adrenalina (assim, A está incorreta) nem ativa a glicólise hepática ou muscular.

2. **A resposta é D.** Os triacilgliceróis são o maior estoque de energia do corpo e, como tais, são os substratos energéticos predominantes no exercício aeróbico de longa duração. Durante o exercício, o glicogênio muscular é usado para aumentos explosivos na velocidade, mas não para as necessidades de energia a longo prazo. O glicogênio hepático é utilizado para manter os níveis de glicose sangüínea para a utilização pelo sistema nervoso e como um suplemento para a utilização pelo músculo quando uma velocidade rápida é necessária; entretanto, ele não é projetado como uma fonte de energia a longo prazo. O cérebro não contém níveis significativos de glicogênio, e o ácido láctico produzido pelas células vermelhas do sangue é utilizado como precursor gliconeogênico pelo fígado, mas não como um substrato energético para o músculo.

3. **A resposta é D.** A creatina é sintetizada a partir de glicina, arginina e S-adenosilmetionina (assim, a ingestão de creatina na dieta não é relevante). No músculo, a creatina é convertida em fosfato de creatina, que é ciclizado não-enzimaticamente para formar creatinina (indicando que a escolha C é incorreta). A quantidade de creatinina excretada por dia pelos rins depende da massa muscular corporal, mas é constante em cada indivíduo (assim, se houvesse um aumento na massa muscular corporal, haveria um aumento na excreção de creatinina). Na insuficiência renal, a excreção de creatinina na urina será baixa, e uma elevação na creatinina sérica seria observada.

4. **A resposta é E.** A glicina é necessária para a síntese de heme (combinando-se com a succinil-CoA no passo inicial), para a síntese dos anéis de purina (a molécula inteira de glicina é incorporada na adenina e na guanina) e para a síntese de creatina, na qual a glicina reage com a arginina na primeira etapa.

5. **A resposta é C.** Uma diminuição na concentração de ATP (que ocorre conforme o músculo se contrai) estimula o processo de geração de ATP. O gradiente de prótons através da membrana mitocondrial interna diminui conforme os prótons entram na matriz, via ATPase, para sintetizar ATP; a oxidação de NADH pela cadeia de transporte de elétrons aumenta para restabelecer o gradiente de prótons; a utilização de substratos energéticos também aumenta para gerar mais ATP. A síntese de glicogênio está inibida devido à fosforilação da glicogênio-sintase que é induzida pela adrenalina. O palmitato é oxidado, e a glicólise aumenta devido à ativação da PFK-1 pelo AMP. Conforme o ATP diminui, o AMP aumenta devido à reação da mioquinase (2 ADP produzem ATP + AMP).

Capítulo 48

1. **A resposta é B.** Os sintomas apresentados pelo paciente são causados pela liberação excessiva de adrenalina ou noradrenalina. O ácido vanililmandélico é também o produto de degradação da noradrenalina; portanto, esses hormônios estão sendo produzidos em excesso. A degradação da acetilcolina leva à formação de ácido acético e colina, os quais não são observados (então, A está incorreta). Embora a degradação de DOPA, mas não de serotonina (que produz o ácido 5-hidroxindolacético), pudessem levar à produção do ácido vanililmandélico, os sintomas apresentados pelo paciente não são consistentes com a superprodução de DOPA ou serotonina (então, C está incorreta). A histamina e a melatonina também não produzem os sintomas apresentados pelo paciente (então, D e E estão incorretas).

2. **A resposta é A.** A mielina contém níveis muito altos de colesterol e de cerebrosídeos, particularmente galactosilcerebrosídeos.

3. **A resposta é E.** A proteína básica da mielina (MBP) é uma proteína básica indicando que ela deve conter um número significativo de resíduos de lisina e arginina. A MBP é encontrada no lado intracelular da membrana de mielina, e seu papel é compactar a membrana, ligando-se às cargas negativas em ambos dos lados dessa e, portanto, reduzindo a "espessura" da membrana. Tanto as células de Schwann quanto os oligodendrócitos sintetizam mielina (então, A está incorreta). A MBP não é uma proteína transmembrana (PLP no SNC e Po no SNP o são; então B está incorreta), e, porque MBP é encontrada intracelularmente, as respostas C e D não podem estar corretas.

4. **A resposta é A.** O acúmulo de ácido fitânico e de ácidos graxos de cadeia muito longa indica um problema na oxidação peroxissomal de ácidos graxos, que é onde ocorre a α-oxidação. O transporte lisossomal não é, portanto, requerido para metabolizar esses ácidos graxos (então, C está incorreta). Os achados mostrando que os níveis de palmitato estão baixos indicam que a β-oxidação está ocorrendo; portanto, B está incorreta. Os compostos acumulados não são mucopolissacarídeos, e nem o alongamento de ácidos graxos é requerido no metabolismo desses compostos (então, D e E estão incorretas).

5. **A resposta é D.** A vitamina B6 participa das reações de transaminação e descarboxilação (e indiretamente em reações de desaminação). A única característica comum na síntese de serotonina, GABA, noradrenalina e histamina é uma descarboxilação de um aminoácido, a qual requer vitamina B6. As outras reações não são requeridas na biossíntese desses neurotransmissores.

Capítulo 49

1. **A resposta é E.** O escorbuto é causado pela deficiência de vitamina C. Essa vitamina é um co-fator necessário para a hidroxilação de resíduos de prolina e de lisina no colágeno. Os resíduos de hidroxiprolina que são formados estabilizam a tripla hélice pela formação de pontes de hidrogênio com outras moléculas de colágeno dentro da hélice. A perda dessas forças estabilizadoras reduz bastante a resistência das fibras do colágeno. A hidroxilação da lisina permite que carboidratos possam ser ligados ao colágeno, embora o papel dos carboidratos ainda seja desconhecido. A vitamina C não é necessária para a formação de pontes dissulfeto, ligações cruzadas de lisil (essa enzima é a lisil-oxidase), secreção de tropocolágeno ou formação de fibrilas de colágeno. Então, todas as outras opções estão incorretas.

2. **A resposta é C.** Quando a elastina se expande, devido a forças externas (como quando os músculos respiratórios fazem os pulmões se expandirem com ar), regiões hidrofóbicas da elastina são expostas ao meio aquoso, resultando em uma diminuição da entropia da água. Quando as forças externas são removidas (pelo relaxamento dos músculos respiratórios), a força motriz para a contração da elastina é um aumento da entropia da água, de tal forma que os resíduos hidrofóbicos da elastina sejam novamente isolados do meio. A expansão e a contração da elastina não envolvem modificações covalentes (então, as respostas A, B e E são incorretas), nem envolvem grandes alterações na formação de pontes salinas (então, D também é incorreta).

3. **A resposta é B.** As cadeias de glicosaminoglicanos contêm cargas negativas devido à presença de açúcares ácidos e sulfatados na molécula. Então, em sua estrutura característica de gargalo de garrafa, as cadeias se repelem umas às outras (portanto, a resposta A é incorreta), além de também atrairem cátions carregados positivamente e água para dentro dos espaços entre as cadeias. A água forma pontes de hidrogênio com os açúcares, e é criado um espaço semelhante a um gel. Esse gel age como uma peneira de difusão para materiais, que tanto saem quanto entram nesse espaço. A hidroxilação e as ligações cruzadas de cadeias não ocorrem (então, as respostas D e E são incorretas) nem pontes de hidrogênio entre as cadeias (elas são muito afastadas devido à repulsão de cargas, mas formam pontes de hidrogênio com a água).

4. **A resposta é E.** Para as células migrarem, elas devem se desprender do material da matriz extracelular, o que requer o remodelamento de componentes da matriz. Devido a aspectos estruturais únicos desses componentes, somente um pequeno subgrupo de proteases, as metaloproteinases, é capaz de fazer isso. As outras respostas listadas são todas de componentes da matriz, os quais devem ser remodelados para que a migração celular ocorra.

5. **A resposta é C.** A fibronectina se liga a integrinas na superfície celular, bem como a vários componentes da matriz extracelular (colágeno e glicosaminoglicanos). Essa ligação fixa a posição das células dentro da matriz. A perda desses componentes de ligação pode levar a movimentos celulares indesejáveis. A fibronectina não tem papel em nenhuma das outras funções relacionadas como possíveis respostas.

Índice de Pacientes

Nota: números de página seguidos de "f" indicam figuras.

A

Abietes, Di
- acidose metabólica em, 55
- células β do pâncreas de, 572
- cetoacidose diabética na, 437, 669
  - sinais e sintomas de, 68
- cetoacidose em, 48, 677
- coma hipoglicêmico na, 558
  - níveis sangüíneos de glicose no período do, 569
- desidratação em, 52
- diabetes melito tipo 1 em, 42, 50-51, 572, 672
  - causa de, 483
  - coma cetoacidótico devido a, 420
  - freqüência e urgência urinária devido a, 223
  - hiperglicemia devido a, 490, 5210
  - infecção de trato urinário na, 234
    - tratamento da, 224
  - monitorização de, 68
  - neuropatia periférica devido a, 531
  - tratamento de
    - alterações na, 73, 88
    - Humalog na, 73, 88
    - Humulin na, 73, 88
    - insulina na, 50, 73
      - deficiência de, 42. 674
      - efeitos da administração excessiva de, 569
      - insulina bovina, 84
    - lispro na, 311
    - monitorização do, 93
- diurese osmótica em, 44, 51
- doença arterial coronariana em, fatores de risco para, 677
- glicosilação na, 111-112
- hálito cetônico em, 420
- hiperglicemia na, 194, 673
  - determinação da, 109
- hiperventilação na, 49, 51
- insulina no sangue de, 485
- níveis de glicose sangüínea em, 39
  - monitorização de, 55
- odor adocicado na respiração de, 55
- perda muscular em, 194
- poliúria em, 44
- respiração de Kussmaul em, 48
- resultados laboratoriais para, 44

Anoma, Melvin
- melanocarcinoma em, biópsia excisional para, 318
- melanoma maligno em, 234
  - biópsia de, 334
  - sinais de alerta, 334
- sinal de pele em, 223, 234

Applebod, Evan, perda de peso em, drogas utilizadas para, 882, 893, 902

Applebod, Ivan
- Aspirina® para, 660, 665
- cáries dentárias em, 407
  - causas de, 414-415
- cáries dentárias em, causas de, 401
- consumo de álcool por, 459, 464
- consumo de calorias de, 6, 7
- diabetes melito tipo 2 em, 27
  - exercício para, 27
  - história familiar de, 27
- doença coronariana cardíaca em, fatores de risco para, 620
- fatores de risco cardiovascular em, 650
- fosforilação oxidativa em, desacoplamento da, 466
- ganho de peso em, 11, 12, 22-23, 468
- gasto diário de energia de, 9
- hiperglicemia em, 24
- hiperlipidemia em, 27
- níveis de colesterol em, 650
  - causas de, 640
  - níveis de colesterol total, 23, 26
- níveis de HDL em, 642
- obesidade em, 4, 18-19
  - padrão andróide de, 27
  - razão cintura-quadril alta, 490
- peso de, 9, 10
- restrição calórica em, 27
- taxa metabólica basal de, 10. l0f
- taxa metabólica em repouso, 8, 9

Atotrope, Sam
- acromegalia em, 788, 802
- cefaléias em, 785
- defeitos visuais em, 785
- diabetes melito em, 789, 790, 802
- fadiga progressiva em, 789
- macroadenoma em, 787
- tolerância à glicose diminuída em, 802
- xarope de glicose para, 787

B

Biasis, Amy
- amebíase em, 846, 858
  - tratamento da, 858
- dor abdominal em, 843
- fígado aumentado na, 843
- hemidiafragma direito elevado na, 845
- testes laboratoriais na, 845
- transaminases hepáticas no sangue elevadas na, 844

Bodie, Jim
- convulsão do tipo grande mal em, 513
- hipoglicemia em, 525
- injeção de insulina por, 522
  - efeitos da, 524-525
- níveis sangüíneos de glicose em, 513
- uso de andrógenos por, 513
  - efeitos do, 524-525
- uso de esteróide por, 513

Bolic, Katta
- balanço nitrogenado negativo em, 766, 777
- sepse em, 777-778

Burne, Lofata
- ácidos dicarboxílicos na urina de, excreção de, 431
- corpos cetônicos totais no sangue em, 435
- deficiência de MCAD em, 436-437
- desidratação em, 420
- distúrbio de metabolismo de ácidos graxos, 425
- fadiga em, 420
- jejum por, 420

C

Carbo, Getta
- anorexia na mãe de, 517
- bradicardia fetal em, 512
- cianose em, 512
- hipoglicemia em, 524
- malnutrida, 512
- reservas hepáticas de glicogênio em, 521
- restrição calórica em, 517

Colamin, Katie
- feocromocitoma em, 882
- níveis de catecolaminas em, 890, 902

D

Dopaman, Les
- alterações de marcha em, 440
- doença de Parkinson em, 440, 454, 454f
  - inibidor da monoamina oxidase para, 443
  - lipofuscina para, 444
  - produção diminuída de dopamina devido a, 454
  - terapia medicamentosa para, 454
- parkinsonismo primário em, 454, 454f
- tremor nas mãos de, 440

F

Felya, Rena, glomerulonefrite pós-estreptocócica em, 863, 871, 878

Fibrosa, Sissy
- curvas de crescimento e peso de, 693-694
- digestão de proteínas em, 694
- disfunção no canal de cloreto em, 689

espessamento das secreções pancreáticas exócrinas em, 689
fibrose cística em, 298
bronquite com, 687-088
descrição, 314
diagnóstico de, 298
testes para, 308
má absorção de alimentos em, 687-688
Foma, Arlyn
fadiga em, 274
febre baixa em, 274
inibição da diidrofolato redutase na, 283
leucemia em, metotrexato para, 275. 283, 759
linfoma folicular em, 293
linfoma não-Hodgkin em, 274-275, 293
tipo folicular, 382
doxorrubicina para, 382
tratamento de, 275, 283
doxorrubicina no, 275
interferons no, 289
vincristina no, 275
perda de apetite em, 274
Fusor, Lopa
como perfundidor lento, 400
DBPOC em, 400,414
deficiência de oxigênio no cérebro de, 404
subperfusão dos pulmões em, 413
úlcera estomacal sangrante em, 400-401
hipotensão devido a, resultados de testes, 414

G

Galway, Erin
catarata em, 529, 530
hipergalactosemia e, 532
galactosemia em, 532
causa de, 538-539
icterícia em, 529, 544
terapia dietética para, 532
testes de função hepática em, 532
testes de tolerância à glicose em, 529

J

Jeina, Ann
aspirina para, 660, 665
dieta pobre em gordura para, 111
dor no peito em, 635
exercícios para, 111
filhos de, níveis de colesterol nos, 621
hipercolesterolemia familiar do tipo IIA em, 639, 649
infarto agudo da parede anterior do coração em, 73
infarto miocárdico em, 93
causas de, 83
diagnóstico de, 111
monitorização de, 88
mioglobina sérica em, medidas de, 103
níveis de colesterol em, 621, 623
elevados, 73
níveis de HDL, 642
tratamento de, 635, 649-650, 655-656
níveis de creatinina-fosfoquinase em, 101
níveis sangüíneos de lipídeos em, 639
pravastatina para, 642
pressão sangüínea alta em, 73

K

Klotter, Sloe
deficiência de Fator VIII em, 828, 838-839
hemofilia A em, 828, 838
Kulis, Cal
cálculos renais em, 73
cistinose em, 718
cistinúria em, 78, 688. 691, 694, 718
descrição, 87-88
prevenção de, 88
tratamento de, 88
cólica renal em, 688
defeito no transporte de cistina e aminoácidos básicos em, 691
sintomas semelhantes a pelagra em, tratamento de, 694

L

Lakker, Colleen
deficiência de surfactante pulmonar em, 611
doença da membrana hialina em, 596, 615-616
síndrome de angústia respiratória em, 596. 615-616
terapia respiratória intensiva para, 596
Leizd, Vera
amenorréia secundária em, 650-651
ciclos menstruais de, 621
hiperplasia adrenal em, 650-651
hirsutismo em, 649-650
níveis de DHEAS em, 648
perda de cabelo em, 621
produção de andrógeno em, 644
virilização em, 644
Lloyd, Amy
amiloidose em, 93, 111
biópsia renal em, 96
componente da proteína M em, 106
edema periférico em, 111
formação de amilóide em, 106
parada cardíaca em, 111
Lupus, Sis
anticorpos antinucleares em, 248
diabetes melito em, 918
disfunção de múltiplos órgãos em, 254
dor articular em, 917
fadiga em, 238
LES (lupus eritematoso sistêmico) em, 238
dissolução de cartilagem devido a, 917
processo patológico de, 913
tratamento de, 906
rash em forma de borboleta em, 238
sintomas de, 912

M

Martini, Al
acetaldeído em, 181
acidose metabólica em, 459
alcoolismo em, 116, 139, 181, 529, 558, 584
acidente de carro devido a, 361
efeitos no SNC de, 161
lesão hepática devido a, 129
beribéri úmido em, 377
cardiomiopatia em, tratamento de, 377
cetoacidose induzida por álcool em, 465
convulsão do tipo grande mal em, 558
deficiência de G6PD em, 539
deficiência de tiamina em, 125, 724
beribéri devido a, 535
deficiência de vitaminas em, 367
dirigir sob influência de álcool por
ICC no momento de, 139
suspensão da licença devido a, 158
doença cardíaca do beribéri em, 134
dor abdominal em, 584
esteatorréia em, 587
febre em, 529
fezes de, 586
Haemophilus influenzae em, 539
hemólise em, causas de, 539
hipoglicemia em, 564, 576
ingestão de etanol na ausência de alimentação, 468
inibição por produto da álcool-desidrogenase hepática por NADH em, 144
insuficiência cardíaca em
ICC, 116, 134, 361
relacionada ao álcool, 377
lesões da cabeça em, 153
MEOS em, 151, 175, 181
níveis sangüíneos de álcool em, 139, 142, 153
pancreatite em, 585, 591-592
pneumonia em, TMP/sulfa para, 529
programa de desintoxicação alcoólica para, 361
Melos, Nona
abdômen distendido em, 495
absorção de frutose em, 508
ingestão de suco de fruta por, efeitos de, 501
má absorção de carboidratos em, 495
teste de hidrogênio na respiração em, 501
Moania, Agneu
pneumonia em, 208
Streptococcus pneumoniae e, 259
tratamento de
claritromicina em, 267
cloranfenicol em, 267
descrição, 218
eritromicina em, 208
tosse em, 208
tuberculose em, tratamento de, 265

N

Nari, Cora
angina pectoris em, 342
causas de, 342, 454
Aspirina® para, 660, 665
ataque cardíaco em
causas de, 381
perda de músculo funcional cardíaco devido a, 342
sintomas de, 381
conteúdo de gordura em, 342
coração de, geração de ATP no, 388
falência cardíaca em
ICC, tratamento de, 357
ventricular esquerda, 357
filhos de
níveis de colesterol em, 596
perfis anormais de lipoproteínas em, 596, 605

freqüência cardíaca rápida em, 357
hiperlipidemia combinada em, 615
hiperlipidemia combinada familiar em, 605, 615
tratamento de, 615
hipoxia em, 343
causas de, 381
infarto miocárdico em, 342
deficiência de oxigênio devido a, efeitos de ATP e AMP de, 412
segundo episódio, 381
isquemia em
eventos relacionados a cardiomiócitos durante, 454
geração de ATP comprometida devido a, 448
lesão por isquemia-reperfusão em, 440
produção de ROS pela xantina-oxidase em células endoteliais durante, 443
lise de coágulos sangüíneos nas artérias coronárias de, 440
nitroprussiato para, 388
níveis de colesterol em, 596
níveis intracelulares altos de Na^+ e Ca^{2+} em, 433
placa aterosclerótica em, 440
rompida, 388
reperfusão com O_2 para, 454-455
restabelecimento da oxigenação em, TPA (ativador do plasminogênio tecidual) em, 395-396
Nemdy, Beverly, família de, difteria na, imunizações para, 259
Nemdy, Erna
classificação de doador sangüíneo por, 549
família de, difteria na, 267
imunizações para, 259, 271
grupo sangüíneo ABO e, 552-553
tipagem sangüínea por, 551
trabalho em banco de sangue por, 542-543
vacina para hepatite B para, 297, 310, 313
Niemick, Anne
apatia de, 237-238
β^+-talassemia em, 241, 247, 253, 806
β-talassemia intermédia em, 270
deficiência de CSV em, 294
dor lombar em, 806
gene da β-globina em, 262
heterozigótico composto para mutações em, 824
hemoglobina fetal em, 806
nível de hemoglobina em, 259
talassemia em, 262
talassemia intermédia em, 253, 259, 263
O'Rexia, Ann
amenorréia em, 36
anemia em, 275, 294, 376-377, 386
deficiência de ferro, fadiga devido a, 376-377, 386
hipocrômica, 294
anorexia nervosa em, 19, 36-37, 36f, 139, 201
aconselhamento psicológico para, 31
anemia ferropriva devido a, 361
desnutrição secundária a, 31
psicoterapia para, 19
consumo calórico de, *5,* 153-154
corrida por, 185
ativação da glicogênio fosforilase do músculo por, 147
efeitos de jejum sobre, 153-154
reservas de substratos energéticos para, inadequadas, 152
substratos energéticos utilizados para, 140
deficiência de FAD em, 363
deficiência de pantotenato em, 366
deficiência de riboflavina em, 377
deficiência de vitaminas em, 363
desnutrição em, 19, 31, 363
exercício compulsivo por, 201
fadiga em, 361
razões para, 376-377
falta de sintomas hipoglicêmicos em, 569
fraqueza em, 361
ganho de peso por, 11l, 12, 139
gasto diário de energia de, 9
gliconeogênese no fígado de, 190
glucagon em, 185
jejum em, prolongado, 201
jejum por, 185, 490
liberação de noradrenalina em, 188
modificação de comportamento para, 19
níveis de glicose sangüínea em, 36, 141
jejum, 558
manutenção de, 290
nutrição enteral para, 37
perda de peso por, 4
períodos menstruais de, 31
peso de, 9, 10
programa de exercício de, 4, 201
reservas de ferro em, 294
taxa de metabolismo basal de, 10, 10f
taxa metabólica de repouso de, 8, 9
transporte de glicose em, 165
O'Tyne, Nick
câncer de pulmão em, 234-235, 318
metastático, 334
ressecção cirúrgica de, 318, 334
fumo de cigarro por, 223, 230, 234-235
tosse em, 223

S

Sakz, Jay
desenvolvimento psicomotor em, 543
doença de Tay-Sachs em, 259, 552, 553
fraqueza muscular em, 259
gene da hexosaminidase A em, 259
deficiência do, 270-271
parentesco com judeu Ashkenazi de, 259
Selmass, Bea
exercício por, 669
ganho de peso por, 478, 673
hipoglicemia de jejum em, 478, 480, 483
manejo de, 487
testes para, 483
insulinoma em, 483, 485
exames ultrassonográficos de alta-resolução para, 490
risco familiar de, 677
sintomas neuroglicopênicos em, 480
Shape, Otto
aceleração da oxidação de ácidos graxos em, 428
exercício por, 558
benefícios do, 376
corrida à distância, 875
diminuição de insulina e aumento dos hormônios contra-regulatórios à insulina devido a, 420
glicose utilizada durante, 875, 876
utilização de ATP durante, 435
corrida, antes do café da manhã, 575
diminuição de ATP e aumento de ADP devido a, 369
moderado-a-vigoroso, 356
produção de lactato aumentada devido a, 411
programa para, 363
treinamento para maratona, 419
wind sprints, 401
efeitos de ATP e AMP de, 414
ganho de peso por, 4, 342, 346
leucemia mielóide crônica em
cromossomo Filadélfia e, 318
dor devido a, 318
modificações na dieta para, 356
perda de peso por, 361, 558
plano de perda de peso de, 18. 354
succinato para, 364
suplemento energético de, carnitina no, 424
utilização de substrato energético no, síntese de ATP devido a, 369
Sharer, Ivy
abuso de drogas IV por, 208, 382
agulha "suja" utilizada por, 298
AIDS em, 210, 223, 234, 239, 382
fraqueza devido a, 382
tosse devido a, 238
tratamento de, 224, 391
AZT em, 210, 391, 396
didanosina em, 302
rifampina em, 246, 254
tosse devido a, 238, 298
amigo de, testes para, 302
depleção de mtDNA em, 391
suores noturnos em, 298
tuberculose em, 239, 254, 382
tratamento de, 246
Sichel, Carrie
anemia falciforme em, sintomas de, 298
como portadora de anemia falciforme, 307
gene falciforme em, testagem para, 314
noivo de, testagem para gene falciforme no, 312
Sichel, Will
anemia falciforme em, 73, 78, 81, 216, 299, 821
tratamento de, 87
cálculos biliares em, 73, 591
câncer de pulmão em, 332
colangiopancreatografia retrógrada endoscópica (CPRE) para, 591
colecistite aguda em, 584
crises falciformes em, 93
vaso-oclusiva, 73
CSV em, 81
destruição de, 585
deficiência de vitaminas lipossolúveis em, 588

dor de membros inferiores em, 73, 110-114, 584
dor lombar em, 584
dor lombar em, 73, 110-114
esteatorréia em, 587
gastrenterite em, 73
icterícia em, 591
irmã de
anemia falciforme na, 307
traço de anemia falciforme em, 216
obstrução do ducto biliar comum em, 591
Sistine, Homer
acidente vascular cerebral em, 715
cistationina β-sintase em
atividade da, 724
deficiência de, 728-729
convulsão tipo grande mal em, 715
homocistinúria em, 723, 729
nível de homocistina em, 719
Site, Spiro
contagem de reticulócitos em, 806
fadiga em, 806
Site, Spiro (continuação)
deficiência de espectrina em, 824
esplenectomia para, 824
Solemia, Corti
doença de Cushing em, 793, 802
fraqueza muscular em, 783, 785
hiperglicemia em, 795
níveis de ACTH em,793, 796, 802
níveis de cortisol em, 796
sinais e sintomas de, 795
Sthenia, Mya
cloreto de edropônio em, 187
fraqueza muscular em, 185
liberação de adrenalina em, 188
myasthenia gravis em, 185
descrição, 186
diagnóstico de, 201
Sucher, Candice
dieta de, ausência de frutas e açúcares na, 528-529
hipoglicemia em, 531
intolerância hereditária à frutose em, 538
Sulin, Ann
diabetes melito tipo 1 em
dieta da American Diabetes Association para, 495
dieta de índice glicêmico para, 503
mal controlada, 508
elevação do nível sérico de glicose devido a, 508
terapia com insulina para, 495
diabetes melito tipo 2 em, 669,673
cetoacidose em, 677
glipizide para, 485
hiperglicemia devido a, 490, 521
hipertrigliceridemia em, causas de, 672
insuficiência renal em, diálise para, 906
insulina no sangue de, 485
neuropatia periférica devido a, 531
níveis de HbA1c em, 480
níveis séricos de triacilglicerol em, 673, 674
obesidade em, 478
doença arterial coronariana em, fatores de risco para, 677
intolerância à glicose em, 572
nível sangüíneo de glicose em, 478
resistência à insulina em, 490

T

Teefore, X.S.
bócio tóxico difuso em, 382
distúrbio de tireóide em, 342
tratamento de, 396
doença de Graves em, 382
hipertireoidismo em, 356
diagnóstico de, 356
sinais e sintomas de, 356
hormônios da tireóide em, 347
produção de ATP devido a, 351
perda de peso por, 342, 347
produção de calor em, causas de 351
Tim, Victoria
ataque sexual de, 298
estupro de, 298
amostras de DNA no, 309
"impressão digital" de DNA em, 315
sêmen encontrado em, 305
Tin, Amanda
consumo de cogumelos por, 238-240
função hepática em, 254
função renal em, 254
sintomas gastrintestinais em, 254
Tonich, Jean Ann
alcoolismo em, 459, 842-843
crônico, 738
anemia megaloblástica em, 738
cirrose induzida por álcool em, 468-858
deficiência de folato em, 459
deficiência de vitamina B12 em, 744
depressão em, 459
exames de função hepática para, 468
hepatite induzida por álcool em, 468-469, 733
lesão hepática em, 468
nível de alanina-aminotransferase em, 468
nível sérico de fosfatase alcalina em, 468
Topaigne, Lotta
artrite gostosa em, 116, 189, 748
níveis de ácido úrico devido a, 170
tratamento da
alopurinol no, 116, 132, 134, 181
colchicina no, 158, 178, 181
cobertura sinovial das articulações em, 758
dor em, liberação de leucotrienos e, 189
gota em, 67
dor pulsátil do dedão do pé devido a, 55
causas de, 68
inflamação de articulação devido a, 68
hiperuricemia em, 759
melanocarcinoma em, 318
causas de, 324
fatores hereditários em, 324
melanomas em, 230
resposta inflamatória em, 181
Tuma, Colin
adenocarcinoma em, 208
intestinal, 318
tratamento de, 5-FU no, 318
câncer de cólon, tratamento de
colonoscopia no, 334, 733, 744,
5-FU no, 208, 217, 319, 737, 759
efeitos adversos do, 219
fezes com cor de piche em, 208
pólipos intestinais em, 208
Twelvlow, Bea, absorção de B12 cristalina em, 744

V

Veere, Dennis
choque hipovolêmico em, 185
cólera em, 158-181-182
desidratação devido a, 166
Vibrio cholerae e, 159, 181-182
Desidratação em, 164, 166, 177, 185
Toxina do cólera e, 199
Tratamento da, 201
diarréia em, 164, 177
ingestão de Aspirina® por, 42, 45, 51, 392
ingestão de malatião por, 116, 130
tratamento de, 133
inibição da acetilcolinesterase em, 130
nível sérico de salicilato e, 51
vômitos, 164
Veere, Percy
amiloidose em, radioimunoensaios para, 106
depressão em, 3-4
tratamento da, 596
desidratação em, 3-4, 51
desnutrição em, 3-4
avaliação de, 31
protéico-calórica de grau 1, 30
protéico-calórica, 36
dieta de, ingestão calórica em, 596
encefalopatia hepática em, 706
incipiente, insuficiência hepática com, 704
fonte de folato para, 15
força de vontade de, 3
ganho de peso por, 596
causas de, 596, 607
hiperventilação em, 42, 49, 51
índice creatinina-altura em, 36
índice de massa corporal de, 613, 615
marasmo em, 19
níveis de albumina sérica em, 33
níveis de transferrina em, 33
nível de alanina transaminase em, 701
nível de glicose sangüínea em, 31
nível sérico de corpos cetônicos de, 32
perda de peso por, 13
perseverança de, 201
reservas de gordura de, 32
vírus da hepatite A em, 697, 699
complicações da, 708
vitamina B12 para, 15
Voider, Deria
cólicas abdominais em, 495
deficiência de lactase em, 501
manejo de, 508
diarréia em, 495
distensão gastrintestinal em, 495
intolerância à lactose em, 501
manejo de, 507-508

W

Weitzels, Mannie
cefaléias em, 275
exercício em, tolerância diminuída para, 275
leucemia mielocítica crônica em, 289, 294, 318
cromossomo Filadélfia e, 283, 320
tratamento de, 333-334
inferferons no, 289

Wheezer, Emma
asma em
refratária brônquica, consulta na emergência após, 558
tratamento da, 656
esteróides no, reação a, 665
broncoespasmo asmático em, 657
fraqueza muscular na, 559
intolerância temporária à glicose na, 665
níveis de glicose sangüínea em, elevados, 576
dexametasona e, 567
tosse na, 656

Y

Yuria, Piquet
excesso de fenilalanina em, 715
hiperfenilalaninemia em, 728
nível plasmático de fenilalanina de, 728

Esta página foi deixada em branco intencionalmente,

Índice

Nota: os números de páginas seguidos de "t" denotam tabelas; aqueles seguidos de "f" denotam figuras.

A

α-Amantina, estrutura da, 240f
α-Amilase pancreática, na digestão do amido, 496-497, 496f
α-Amilase salivar, na digestão do amido, 496-496, 496f
Abenzima, definição, 120
Abetalipoproteinemia
  Causa de, 605
  Descrição, 592
  Efeitos da, 605
  No metabolismo de lipídios, 592
  Sintomas de, 592
Absorção, 23-24, 23f
Ação da telomerase, 229, 229f
ACAT. *Ver também* Acil-CoA-colesterol-acil-transferase (ACAT)
Acetaldeído
  Dano por radicais livres devido ao, 466-467, 467f
  Devido à hepatite alcoólica, 466, 467f
  Na oxidação de etanol, 460f, 461
    Efeitos tóxicos do, 466-467, 467f
Acetaminofen
  Ação do, 660f
  Destoxificação do, 848-849, 848f
Acetato, 877
  Metabolismo de, na oxidação de etanol, 461, 462f
  Na dieta, 372
Acetil-CoA
  A partir de ácido mevalônico, na síntese de colesterol, 623, 623f
  A partir de aminoácidos, 725-728, 725f-727f
  A partir de fenilalanina, 725, 726f, 727f
  A partir de malonil-CoA, na síntese de ácidos graxos, 598, 598f, 599f
  A partir de tirosina, 725, 726f, 727f
  Descrição, 360
  E complexo piruvato desidrogenase, 372, 372f
  Em ligações de alta energia, 350f
  Fontes de, no ciclo do TCA, 372, 372f
  Grupo acetila do, 361, 361f
  No ciclo do TCA, 360
  Precursores de, no ciclo do TCA, 371-374, 372f, 373f
Acetil-CoA citosólico, a partir de glicose, na síntese de ácidos graxos, 597-598, 597f, 598f
Acetil-CoA-carboxilase
  Reação catalisada pela, 598, 598f
  Regulação da, 598, 599f
    No fígado, no estado alimentado, 671-672, 671f, 672f
Acetilcolina
  Estrutura da, 188f
  Inativação da, 895
  Liberação de, 185
  Na junção neuromuscular, redução da, na acetilcolinesterase A, 866
  Síntese de, 893-895, 894f
Acetilcolinesterase A, na redução do nível de acetilcolina, 866
Acetoacetato, 33, 33f
  A partir de aminoácidos, 725-728, 725f-727f
  Estrutura do, 55f
  Síntese de, 431, 431f, 432f
α-Cetoglutarato, descarboxilação oxidativa de, 366-367, 366f
  A succinil-CoA, no ciclo do TCA, 362f, 363
α-Cetoglutarato/glutamato, aminoácidos relacionados através de, 720-721, 720f-722f
α-Cetoglutarato-desidrogenase, regulação da, no ciclo do TCA, 371
Acetona
  Estrutura da, 55f
  Odor de, na cetoacidose diabética, 559
  Síntese de, 432f
Acidemia láctica, 412-414, 413f, 414f
  Vias que levam a, 413, 413f
Acidemia lática. *Ver também* Lática, acidemia, 412-414, 413f, 414f
Ácido 9-*cis*-retinóico, estrutura de, 191f
Ácido acético, curva de titulação para, 46, 47f
Ácido aminolevulínico, síntese de, 811, 811f
Ácido aminolevulínico-desidratase, 811
Ácido anídrico, 56f
Ácido araquidônico, 64
  A partir de ácido linoléico, 602, 603f
  Estrutura de, 189f
  Liberação de, a partir de lipídio de membrana, 656f
  Metabolismo de, 654
    Rotas para, 657f
Ácido ascórbico, contra a toxicidade do oxigênio, 451, 452f
Ácido benzóico
  Metabolismo de, 709f, 710
  Para defeitos do ciclo da uréia, 709f, 710
Ácido carbônico, 48, 48f
Ácido carboxílico, 56f
Ácido cólico
  A partir de colesterol, na síntese de sais biliares, 628-629, 628f, 629f
  Estrutura do, 631f
Ácido desoxicólico, estrutura do, 631f
Ácido desoxirribonucléico (DNA)
  Alterações físicas no, 319-320, 319f
  Alterações químicas no, 319-320, 319f
  Base(s) no,
    Pirimidina, 209, 209f, 209t
    Purina, 209, 209f, 209t
  Cadeia polinucleotídica, segmento de, 211f
  Características do, 213-214, 214f
  Clonagem do, 303-305, 305f
  Dano ao,
    Mutações devido a, 319-321, 319f, 321f
    Mutágenos e, 230, 230f, 231f
  Descrição, 207
  Dupla-hélice de, 212-213, 213f
  Efeitos de álcalis sobre, 214f
  Elementos de transposição de, 233, 234f
  Empacotamento de, 214-215, 215f
  Estrutura de, 207, 208-214, 209f-214f, 209t
    Determinação de, 209-210, 209f-211f, 209t
  Eucariótico,
    Procariótico *vs*., 253t
    Seqüências repetitivas no, 251-253, 252f, 253t
  Fitas antiparalelas do, 212, 212f
  Formas de, 213, 213f
  Fragmentos de restrição de, 299-300, 299f, 299t, 300f
  Hibridização de, 214f
  Localização do, 208-209
  Metilação de, na regulação eucariótica para a transcrição, 282
  Mitocondrial, e doenças de OXPHOS, 389-390, 389t
  Mutações na, câncer devido a, 317
  Pares de bases do, 210, 211f
  Polimorfismo do, no diagnóstico de doenças, 306
  Reações de radical de oxigênio com, 445, 446f
  Rearranjo do, na regulação eucariótica para a transcrição, 283, 283f
  Recombinante. *Ver* DNA recombinante.
  Reparo de, 230-232, 230f-232f
    Acoplado a transcrição, 232
    Etapas no, 230, 231f
    Excisão de base no, 231, 232f
    Excisão de nucleotídeo no, 231, 232f
    Mecanismos para, 230-232, 231f, 232f
    Troca de bases, 231, 232f
  Repetitivo, polimorfismo devido a, detecção de, 308-310, 308f, 309f
  Seqüências de,
    Amplificação de,
      Clonagem de, 303-305, 305f
      PCR em, 305-306, 306f
      Técnicas para, 303-306, 305f, 306f

Homologia, entre recombinação, 232-233, 233f
Identificação de
Eletroforese de gel em, 301, 301f
Método do dideoxinucleotídeo em, 302, 304f
Método Sanger na, 302, 304f
Northern blot em, 302, 303f
Papel de nitrocelulose em, 301-302, 302f
Sondas na, 300-301, 301f
Southern blot na, 302, 303f
Técnicas para, 300-302, 301f-304f
Western blot em, 302, 303f
Síntese de, 222-236
Deficiências de folato e, 744-745
Em eucariótos, 226-229, 226f, 227t, 228f, 228t, 229f
Em procariótos, 223-226, 223f-226f, 224t
Forquilha de replicação, 225-226, 225f
Rearranjos genéticos em, 232-233, 233f, 234f
Replicação em, 222, 222f
Transcriptase reversa em, 233, 234f
Síntese química do, 300
Tamanho eucariótico *vs*. tamanho procariótico, 251-253, 252f, 253t
Transcriptase reversa e, 300
Translocação de, 233, 234f
Ácido fitânico, oxidação de, 430, 430f
Ácido fólico. *Ver* Folato
Ácido fosfatídico, 64, 64f
Ácido fosfórico (H_3PO_4), dissociação do, 49
Ácido gama-aminobutírico (GABA)
Estrutura de, 66f, 188f
Síntese de, 895-896
Ácido gástrico, secreção de, 50
Ácido glicocólico, precursores e funções do, 850t
Ácido glicoquenodesoxicólico, precursores e funções do, 850t
Ácido hidroclorídrico, secreção de, 50
Ácido hipocloroso (HOCl), 439
Ácido K, 45
Ácido láctico. *Ver* Lactato
Ácido linoléico, ácido araquidônico a partir de, 602, 603f
Ácido litocólico, estrutura de, 631f
Ácido mevalônico
A partir de acetil-CoA, na síntese de colesterol, 623, 623f
Isoprenos ativados a partir de, na síntese de colesterol, 625, 626f
Ácido oléico, 64
Ácido palmitoléico, 64, 65
Ácido pantotênico
Deficiências de, 14t
Fontes de, 14t
Ácido quenocólico
A partir de colesterol, na síntese de sais biliares, 628-629, 628f, 629f
Estrutura do, 631f
Ácido ribonucléico (RNA)
Características de, 216-217, 216f, 217f
Descrição, 209
Efeitos de álcali sobre, 214f
Estrutura de, 207, 216-218, 216f-218f
Eucariótico,
Edição de, 290, 292f
Procariótico *vs*., 253t
Processamento pós-transcricional de, 290, 291f, 292f
Hibridização de, 214f
Primers de, função de, 225, 225f
Síntese de, 237-257. *Ver também* Transcrição
Tipos de, 218
Ácido siálico, precursores e funções de, 850t
Ácido sulfúrico, 50
Ácido todo-*trans*-retinóico, estrutura do, 191f
Ácido úrico, *pk* do, 758
Ácido(s), *Ver também tipos específicos, p. ex.,*
Acido cólico, 41-53, 44-46, 44f, 46t
Amino. *Ver* Aminoácidos
Araquidônico, 64, 602, 603f, 654, 656f, 657f
Carbônico, 48, 48f
Carboxílico, 56f
Cólico, 628-629, 628f, 629f, 631f
A partir de colesterol, na síntese de sais biliares, 628-629, 628f, 629f
Desoxicólico, 631f
Desoxirribonucléico. *Ver* Ácido desoxirribonucléico (DNA)
Dissociação de, 45, 46f
Fitânico, 430, 430f
Fólico. *Ver* Folato
Forte e fraco, 45-46, 46f
Fosfatídico, 64, 64f
Gástrico, secreção de, 50
Glicocólico, 850t
Glicoquenodesoxicólico, 850t
Graxo. *Ver* Ácidos graxos
Hidroclorídrico, 50
K, 45
Linoléico, 602, 603f
Litocólico, 631f
Metabólico, 41, 47-50, 48f, 49f
Mevalônico, 623, 623f
No sangue, 46t
Nucléico, 207-221
Oléico, 64
Palmitoléico, 64, 65
Patogênico, 14t
Produção de, na glicólise anaeróbica, 407
Quenocólico, 628-629, 628f, 629f, 631f
Sulfúrico, 50
Ácido(s) graxo(s), 63-64, 63f, 64f
Armazenamento de, 338
Ativação de, especificidade de tamanho de cadeia, 421, 422t
Biossíntese de, 400f
Como fonte de substratos energéticos, 420-429, 579, 579f
Caractrísticas de, 420-421
De cadeia ímpar, 426, 427f, 428f
De cadeia longa
Ativação de, 421, 422f, 422t
β-oxidação de, 424-426, 424f, 425f, 427f, 428f
Captação celular de, 421, 422f
Mitocondrial, visão geral de, 419f
Transporte de, 421-424, 422f, 422t, 423f
Para a mitocôndria, 423-424, 423f
De cadeia longa ramificada, 430-431, 430f
De cadeia muito longa, 429-430, 429f, 430f
Oxidação peroxissomal de, 855
Descrição, 63
Dessaturação de, na síntese de ácidos graxos, 601-602, 603f
Elongação de, 600-601, 602f
Essencial
Deficiências dietéticas de, 656
Requerimentos de, 12
Insaturado, oxidação de, 426, 427f
Liberação de, a partir de triacilgliceróis do tecido adiposo, 607-608, 608f
Ligações duplas em, 64, 64f
Livre, como fonte de ATP, 876-877, 876f
Metabolismo de, 579, 579f
Alterações no, metabolismo de etanol e, 464, 465f
Nas células musculares, 866, 868, 868f
Monoinsaturados, 63-64, 63f
Na homeostasia de substratos energéticos, 434-435, 434f, 436f
Oxidação de, 418-431
De cadeia média, 426
No fígado, 854-855
Peroxissomal, 429-430, 429f, 430f
Peroxissomal, de cadeia muito longa, no fígado, 855
Rotas alternativas de, 429-431, 429f-431f
Velocidade de, 419
Para a síntese de VLDL no fígado, 606
Síntese de, 594-595, 596-602
Complexo ácido graxo sintase em, 698-600, 599f-602f
Conversão de acetil-CoA em malonil-CoA em, 598, 598f, 599f
Conversão de glicose em acetil-CoA citosólico em, 597-598, 597f, 598f
Dessaturação de ácidos graxos em, 601-602, 603f
Elongação de ácidos graxos em, 600-601, 602f
Fontes de NADPH para, 597, 598f
Utilização pelo músculo, regulação da, durante jejum, 676
Utilização preferencial de, 434-435, 434f
Ácidos graxos de cadeia muito longa, oxidação peroxissomal de, 855
Ácidos graxos essenciais
Deficiências dietéticas de, 656
Requerimentos para, 12
Ácidos graxos livres, como fonte de ATP, 876-877, 876f
Ácidos metabólicos, 41, 47-50, 48f, 49f
Ácidos nucleicos, estrutura de, 207-221
Acidose láctica
Causas de, 413-414, 413f
Metabolismo de etanol e, 465f, 466
Acidose lática
Causas de, 413-414, 413f
E metabolismo de etanol, 465f, 466
Acilação, de proteína, 85, 86f
Acilação, de proteínas, 85, 86f
Acil-carnitina, estrutura de, 423f
Acil-CoA

Destinos de, 421-423, 423f
Entrada na mitocôndria de músculo, regulação da, 868, 868f
Acil-CoA-colesterol-aciltransferase (ACAT), 627, 628f
Acilglicerol(óis), 64, 64f
Aciltransferase(s), 135
Ações autócrinas, de mensageiros químicos, 187-188, 187f
Ações endócrinas, mensageiros químicos das, 187-188, 187f
Ações parácrinas, de mensageiros químicos, 187-188, 187f
Aconselhamento, genético, no tratamento e na prevenção de doença, 311-312
Aconselhamento genético, no tratamento e prevensão de doenças, 311-312
Acoplamento
Do transporte de elétrons, na fosforilação oxidativa, 390-393, 391f-393f
Regulação do, 391, 391f
Regulação através do, 391, 391f
Açúcar(es). *Ver também* Glicose
Absorção de, 503-506, 504f, 504t, 505f, 505t, 507f
Monossacarídeos e, 506, 507f
Pelo epitélio intestinal, 503-506, 504f, 504t, 505f, 505t
D, 59, 59f
De nucleotídeos. *Ver* Nucleotídeo-açúcares
L, 59, 59f
Metabolismo de,
Bactérias colônicas em, 500, 500f
Rotas de, 527-541. *Ver também via da pentose-fosfato; açúcares e rotas específicas*, p. ex., Frutose
Oxidados, 61-62, 61f
Para a síntese de glicolipídeos, formação de, 546-548, 546t, 547f, 548f
Para a síntese de glicoproteínas, formação de, 546-548, 546t, 547f, 548f
Reduzidos, 61-62, 61f
Substituintes, 59, 61, 61f
Adaptação, regulação da expressão gênica para, 275
Adenilatociclase
AMPc-fosfodiesterase e, 199, 199t, 200f
Isoformas de, regiões invariáveis na, 83-84, 84f
Adenina, no DNA, 209, 209f
Adenina fosforribosiltransferase (APRT), 747
Adenina-nucleotídio translocase (ANT), 381
Definição, 394
Adenoma(s), definição, 208
Adenovírus, na prevenção e tratamento de doença, 313
α-D-Frutofuranose, 60f
α-D-Glicopiranose, 60f
ADH. *Ver* Álcool-desidrogenase (ADH)
Adipócito, efeitos do hormônio da tireóide sobre, 798
ADP. *Ver* difosfato de adenosina (ADP)
Adrenalina
Ações da, 791-792, 792f
Descrição, 783, 791
Efeitos fisiológicos de, 791-792, 792f
Estimulação da glicogenólise no músculo por, 874, 874f
Estrutura de, 188f, 489f
Meia-vida de, 792
Na regulação do glicogênio hepático, 521-522, 522f
Na regulação do metabolismo energético, 783, 784t
Ações fisiológicas de, 481, 482t
Na síntese de AMPc, 153
Secreção de, 791
Síntese de, 888-892, 889f-891f
Transdução de sinal por, 489-490
Adrenérgico, definição, 489
Aflatoxina B1, detoxificação da, 848
Agentes redutores de lipídeos
Eficácia de, 650, 650t
Mecanismo de ação de, 650, 650t
Agregado de proteoglicanos, 914, 915f
Água, 41-53, 42-44, 42f, 43f, 44t
Como solvente, 43, 43f
Desidratação e, 51-52, 51f
Dissociação de, 44f, 45f
Na regulação térmica, 43-44
Perda de, 51-52, 51f
pH de, 44-45
Pontes de hidrogênio em, 43, 43f
Produto iônico de, 45, 45f
Requerimentos de, 16
α-Hélice, na estrutura secundária de proteínas, 95, 95f
AIDS. Ver Síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS)
Alanina
Códons para, 260f
Na remoção de nitrogênio de aminoácido, 766-767
No transporte de nitrogênio de aminoácido para o fígado, 702-703, 703f
Síntese de, 716f, 718
Alanina-aminotransferase (ALT), 420, 718, 859
Albumina, 828-829, 829t
Álcali
Efeitos no DNA por, 214f
Efeitos no RNA por, 214f
Alcaptonúria, 725
Álcool-desidrogenase (ADH)
De cadeia média, isoenzimas da, 460t
Na oxidação do etanol, 460-461, 460f
Alcoolismo
Crônico, deficiências de folato com, 733
Níveis de NADH no fígado no, 606
Aldeído, 56f
Aldolase(s) 135, 135f, 403
Aldosterona
Estrutura da, 191f
Síntese de, 645f, 646-647
Aldosteronismo, primário, 647
Aldosteronismo primário, 647
Alelo(s), 215-216, 215f
Alimento, metabolismo de, 342
Alopurinol, estágios intermediários de reação semelhante, 131-132, 133f
Aloxantina, 133f
ALT. *Ver* Alanina-aminotransferase (ALT)
Altura, medidas antropométricas de, 28
Ambiente, aquoso, solubilidade de proteínas globulares em, 99
AMD. *Ver* Degeneração macular relacionada à idade
Amida(s), 56, 56f
Formação de, 58f
Amido, 62, 62f
Digestão de, 493, 494f
Estrutura de, 5f
Amigdalina, estrutura de, 388f
Amilase
α, salivar, na digestão do amido, 496-497, 496f
Atividade de, 497
Amilina, efeitos no metabolismo de substratos energéticos, 800t
Amiloidose, descrição, 93
Amilopectina, estrutura de, 493f
Amilose, estrutura de, 493f
Amina quaternária, 56f
Amina(s), quaternária, 56f
Aminoácido(s), 66. *Ver também* Tipos específicos, p. ex., serina
A partir de fontes de carbono, 561, 562f
Abreviações para, 75, 76f, 77t
Absorção de, 690-691, 691f, 691t
Ação da insulina sobre os, 486
Ação do glucagon sobre os, 486
Acetil-CoA a partir de,725-728, 725f-727f
Acetoacetato a partir de,725-728, 725f-727f
α-Cetoglutarato/glutamato e, 720-721, 720f-722f
Ácido, 76f, 77t, 78-79, 79f, 80f
Apolar, alifático, 75-77, 76f, 77t
Aromático, 76f, 77, 77t
Básico, 76f, 77t, 78-79, 79f, 80f
Cadeias laterais de, 75-79, 76f, 77, 77f
Alifática, polar, sem carga, 76f, 77-78, 77t
Apolar, alifática, 75-77, 76f, 77t
Aromática, 76f, 77, 77t
Contendo enxofre, 76f, 77t, 78
Dissociação de, 80f
Cetogênico, 725f
Classificação dos, 72
Contendo enxofre, cadeias laterais de, 76f, 77t, 78, 78f
D, estrutura de,74f
De cadeia ramificada, 877
Conversão em glutamina, 770-771, 772f
Degradação de, 724, 724f
Distúrbios genéticos associados com, 730t
Oxidação de, em músculo esquelético, 770, 771f
De intermidiários do ciclo do TCA, 718, 720-725, 720f-724f
Degradação de, 712-731
Descrição, 713-714, 714f
Intermediários do ciclo do TCA a partir de, 375, 376f
Piridoxal-fosfato na, 712
Tetraidrobiopterina na, 712
Tetraidrofolato na, 712
Em proteínas, 72-91
Estrutura de, 73f
Variações em, 79, 81-84, 82f, 84f, 85f

Modificações pós-traducionais de, 85, 86f, 87
Essencial
Expressão mnemônica para, 12
Requerimentos para, 12
Estrutura de, 6f, 66f, 73f-75f, 74-75
Fluxo de
Após refeição rica em proteína, 775-776, 775f
Durante sepse, 762, 762f
Mediação de, citocinas e hormônios na, 778f, 779
Durante trauma, 762, 762f
Entre tecidos, princípios governando o, 766-767, 767t
Interórgão, no estado pós-absortivo, 763-766, 764f-766f
Fumarato a partir de, 721-722
Glicose a partir de, 474, 474f
L, estrutura de, 74f
Liberação de, pelo músculo esquelético, durante jejum, 764, 765f
Livre, no sangue, manutenção de, 763-767, 764-766f, 767t
Metabolismo de
Co-fatores no, 715-716, 716f
Distúrbios genéticos do, 730t
Efeitos dietéticos do, 775-777, 775f
Efeitos do estado fisiológico sobre, 776-777, 776f
Efeitos do estado hipercatabólico sobre o, 776-777, 776f
Em doença hepática, 858
No fígado, 857-858
Durante jejum, 764-766, 765f, 766f
No intestino, 772, 773f
Nos tecidos, durante jejum, 765f, 766
Piridoxal-fosfato no, 715-716, 716f
Relações interteciduais no, 762-780
Vários tecidos no, 698f
Modificações regulatórias de, 85-87, 86f
Modificado, 84-87, 86f, 87f
Na dieta, 685, 685t
Não-essencial, 712, 713f
No estado alimentado, 26-27
Oxaloacetato e, 721, 722f
Pool de, síntese de neurotransmissores e, 774
Propriedades gerais dos, 72
Propriedades químicas dos, 74-75, 75f
Remoção de nitrogênio a partir de, alanina no, 766-767
Selenocisteína, 87, 87f
Sem carga, alifático, polar, cadeias laterais de, 76f, 77-78, 77t
Seqüência de, 75
Síntese de, 684, 684t, 712-731
Coenzimas em, 712
De intermediários da glicólise, 716-718, 716f, 717f, 719f
Descrição, 712-713, 713f
Regulação de, 712-713
Sódio e, co-transporte de, 690, 691f
Substituições de, 72
Transporte através da barreira hematencefálica, 886
Transporte de,
Para as células, 691, 691t
Transepitelial, 691f
Usos de, 767-775, 767f-769f, 768t, 769t, 771f-774f
Cérebro, 774-775, 774f
Hepático, 773-774
Intestino, 772-773, 773f
Músculo esquelético, 770-772, 771f-773f
Renal, 767-769, 767f-769f, 768t, 769t
Tecido nervoso, 774-775, 774f
Aminoácidos ácidos, 76f, 77t, 78-79, 79f, 80f
Aminoácidos aromáticos, 76f, 77, 77t
Aminoácidos básicos, 76f, 77t, 78-79, 79f, 80f
Aminoácidos de cadeia ramificada, 877
Degradação de, 724, 724f
Doenças genéticas associadas a, 730t
Aminoácidos essenciais
Mnemônica para, 12
Requerimentos para, 12
Aminoacil-tRNA
Formação de, 262-263, 263f
Ligação de, 265-266, 266f
Aminotransferase(s), 135
Amônia
A partir de íon amônio, formação de, 699, 701f
Eliminação de, no fígado, 850, 850t
Excreção renal de, 768, 768f
Nitrogênio de aminoácido como, remoção de, 699-702, 701f
AMP. *Ver* Monofosfato de adenosina (AMP)
AMPc. *Ver também* monofosfato de Adenosina cíclica (AMPc)
AMPc-fosfodiesterase, adenilil-ciclasee, 199, 199t, 200f
Amplificação gênica, regulação eucariótica para a transcrição, 283
Amplificação por *feedback*, regulação através de, 836
Análogos de estados de transição, 131-132, 132f, 133f
Anandamida
Degradação de, 664f
Síntese de, 664f
Anaplerose, 724
Âncora de glicosilfosfatidilinositolglicano (GPI), 162-163, 163f
Andrógeno(s), adrenal, síntese de, 645f, 647, 647f
Andrógenos adrenais, síntese de, 645f, 647, 647f
Androstenediona, 647
Anel de tromboxano, 659f
Anemia falciforme, 103
Causas de, 262
Mutações que causam, 307
Anemia hemolítica, 810
Anemia perniciosa, 739, 740
Anemia por deficiência de ferro, fadiga devido a, 381
Anemia(s)
Classificação de, morfologia de CVS, 808, 808t
Falciforme. Ver anemia falciforme
Causas de, 262
Ferropriva, fadiga devido à, 381
Hemolítica, 810
Nutricional, 820-821
Perniciosa, 739, 740
Anemias nutricionais, 820-821
Angina, definição, 73
Angina pectoris, definição, 73
Anidrido(s)
Ácido, 56f
Formação de, 58f
Animais transgênicos, na prevenção e no tratamento de doenças, 313, 314f
Ânion bicarbonato, dissociação de, pK_a para, 48
Ânion(s), dissociação de grupos ácidos e, 57f
Anorexia nervosa, 36-37, 36f
ANT. Ver adenosina-nucleotídio-translocase (ANT),
Antibiótico(s)
Macrolide, inibição da translocação por, 267
Na inibição da síntese protéica, 271-272, 271t
Anticódon, 207
Pareamente de base de códons de alanina com, 206f
Antioxidante(s)
Endógenos, contra a toxicidade do oxigênio, 453, 453f
Não-enzimáticos, contra a toxicidade do oxigênio, 450-453, 451f-453f
Antioxidantes endógenos, contra a toxidade do oxigênio, 453, 454f
Antitrombina III, na regulação da trombina, 837
Antropometria, 27-28
Do braço, 28
Apoproteína(s), características de, 631-632, 632t
Apoptose, 317
Câncer e, 328-331, 329f-331f, 330t
Caspases em, 329, 329f, 330f
Componentes em, 329, 329f
Definição, 328
Desvio em células cancerosas, 331, 331f
Mitocôndria e, 396
Regulação de, rota da MAP-quinase em, 331
Rota de integridade mitocondrial para, 329-330, 331f
Rota do receptor de morte celular para, 329, 330f
Rotas normais para, 329-331, 329f-331f
APRT. Ver adenosina-fosforribosiltransferase
Arginina
Aminoácidos relacionados com, 721, 722f
Clivagem de, uréia a partir de, 705-706, 705f
Óxido nítrico a partir de, 896-897, 897f
Para defeitos do ciclo da uréia, 710
Produção de, pelo ciclo da uréia, 704-705, 705f, 706f
Síntese de, 721, 722f
Árvore hetamopoética, 818f
Asparagina, 700-701
Aminoácidos relacionados com, 721, 722f
Degradação de, 721, 722f
Síntese de, 721, 722f
Aspartato
Aminoácidos relacionados com, 721, 722f
Degradação de, 721, 722f

Fumarato a partir de, 721-722
Produção de, 704, 705f
Síntese de, 721, 722f, 896
Aspartato-aminotranferase (AST), 420, 718, 859
Aspirina®, ação de, 600f
AST. *Ver* Aspartato-aminotranferase (AST)
Astrócito(s), 883-884
Aterosclerose
Aspectos anatômicos de, 641-642, 641f, 643f
Aspectos bioquímicos de, 641-642, 643f
Ativação de plasmina, regulação da, 838, 838f
Ativador de plasminogênio tecidual (TPA), na prevenção e tratamento de doenças, 311
Ativadores alostéricos, 145-146, 146f
Atividade ciclina/CDK, inibição pela CKI da, 324, 324f
Atividade física, gasto diário de energia e, 8-9, 9t
ATP. *Ver* trifosfato de adenosina (ATP)
Autofagia, 170-171, 171f

B

Bactéria
Células humanas vs, 182
Colônica, no metabolismo de açúcares, 500, 500f
Descrição, 159
Balanço calórico, 10-11, 11f
Balanço energético, 355-356, 355f
Balanço nitrogenado
Descrição, 703-704
Negativo, durante infecção, 776-777, 776f
Requerimentos para, 12-13, 13t
Barreira hematencefálica, 881, 884-886, 885f
Combustíveis da, transporte de, 885
Estrutura capilar na, 884-885, 885f
Transporte através, 885-886
Transporte de glicose através, 506-507, 507f
Base(s), 41-53, 44f, 46t
Em nucleotídios, 209, 209t
Metabólica, 41
Trocada, reparo do DNA de, 231, 232f
Bases de pirimidina
Degradação de, 758-759, 759f
Recuperação de, 755, 755t, 756f
Bases de purina
Átomos de, origens dos, 747, 747f
Degradação de, 757-758, 758f
Bases metabólicas, 41
Basófilo(s), 807
β-D-Glicopiranose, 60f
β-D-Glucuronato, 61f
Benzoato, metabolismo de, 856, 856f
Beribéri, 377
β-Hidroxibutirato, 33, 33f
Estrutura de, 55f
Síntese de, 431, 431f, 432f
Bicarbonato
Como tampão, 48, 48f
Hemoglobina nas CVS e, 48-49, 49f
Bicicleta de Krebs, 706f
Bioenergética, celular, 341-359
Bioenergética celular, 341-359
Bioquímica, fundamentos químicos e biológicos de, 39-40, 40t
Biossíntese
Ácido graxo, 400f
Nucleotídio, fígado em, 850-851
Nucleotídio de purina, regulação de, 747-748
Biossíntese de nucleotídeos, no fígado, 850-851
Biotina,125-126, 127f
Deficiências de, 14t, 375
Descrição, 375
Fontes de, 14t
Birradical(is), definição, 439
Bloqueadores de amido, 496
Bomba SERCA, 878
β-Oxidação, 418
De ácidos graxos de cadeia longa, 424-426, 424f, 425f, 427f, 428f
Energia produzida de, 425, 425f
Epiral, 424-425, 424f, 425f
Especificidade de tamanho de cadeia em, 425-426
Passos de, 424-425, 424f
Regulação de, 427-429, 428f
Visão geral, 424, 424f

C

Cadeia polipeptídica, elongação da, 265-266, 266f
Cadeia transportadora de elétrons, 380
Componentes da, 384, 385f
Componentes de oxirredução da, 384-386, 385f, 386f
NADH-desidrogenase na, 384, 385f
Produção de energia a partir da, 387-388
Cadeias de globina
Estrutura de, doenças na, 821
Quantidade de, doenças na, 821
Cadeias laterais, de aminoácidos, grupos funcionais em, 124-125, 124t
CAH. Ver hiperplasia adrenal congênita (CAH)
Cálcio, na regulação do glicogênio hepático, 521-522, 522f
Cálcio-calmodulina, família de proteínas moduladoras, 148-149, 149f
Cálculo(s), definição, 73
Calicreína, 834
Caloria(s)
Definição, 5
Na dieta americana típica, porcentagem de gorduras na, 584
Canais regulados, nas membranas plasmáticas, 166, 166f
Câncer colorretal, não-poliposo hereditário, causa de, 231
Câncer colorretal não-poliposo hereditário, causa de, 231
Câncer de cólon, desenvolvimento de, etapas do, 332, 332f
Câncer. Ver também tumor(es)
Apoptose e, 328-331, 329f-331f, 330t
Biologia molecular do, 317-316
Causas de, 318-319
Cólon, desenvolvimento de, etapas no, 332, 332f
Colorretal, não-poliposo hereditário, causa de, 231
Descrição, 317, 318
Desenvolvimento de, 317, 317f
HIV e, 335
HTLV-1 e, 334
Mortes devido a
Gênero-relacionado, 333f
Local-relacionado, 333f
Mutações no,
Múltiplas, 332-333, 332f
No DNA, 317
Nível molecular no, 333
Tratamento do, agentes no, 388
Vírus de DNA e, 335
Vírus e, 334
Carbamoil-fosfato, síntese de, 704, 705f
Carbamoil-fosfato-sintetase I, ativação da, 704, 705f, 706, 707f
Carbamoil-fosfato-sintetase II, 748
Carbamoil-fosfato-sintetase(s), comparação de, 754, 755t
Carboidrato(s), 58-63, 59f-62f, 493-510. Ver também glicose; glicogênio; monossacarídio(s); amido
Classes de, 54t
Conteúdo calórico de, 5t
Da dieta, 5, 473, 473f, 493f, 495-496
Absorção de açúcares e, Ver também açúcar(es), absorção de, 503-506, 504f, 504t, 505f, 505t, 507f
Digestão de, 24, 496-502, 496f-501f, 498t, 502t
α-amilase pancreática na, 496-497, 496f
α-amilase salivar na, 496-497, 496f
Bactéria colônica na, 500, 500f
Complexo β-glicosidase na, 498, 499f
Complexo sacarase-isomaltase na, 497, 499f
Dissacarídeos na, 497-500, 498f, 498t, 499f
Glicoamilase na, 497, 499f
Intolerância à lactose e, 501-502, 502t
No intestino, 498, 500
Trealase na, 498, 499f
Estruturas de, 493, 493f
Destinos de, 22, 22f
Digestão de, visão geral da, 473, 473f, 494f
Estrutura de, 5, 5f
Fibras da dieta, 502-503, 502t
Glicosídeos, 62-63, 62f
Indigerível, 500, 500f
Metabolismo de, 473-476, 473f-476f
Metabolismo de lipídeos e, integração do, 668-681
No fígado, 853t
Regulação do
Durante o jejum, 673-676, 674f-676f, 675t
No estado alimentado, 669-672, 669f-673f
No fígado, 678f
Monossacarídeos, 58-62, 59f-61f
Necessidades para o, 11-12
No fígado, destinos de, 853t
Regulação da piruvato-desidrogenase no, no estado alimentado, 670, 670f

Carbono(s), identificação de, sistemas para, 57-58, 58f
Carboxilase(s), 136
Carcinogênicos químicos, e promotores de tumor, 235
Carcinógenos, produtos químicos, e promotores de tumor, 235
Cardiolipina, síntese de, 610, 611f
Carga(s)
  Grupos funcionais que possuem, 56-57, 57f, 58f
  Parcial, 57, 58f
Carnitina-palmitoiltransferase, inibição da, malonil-CoA na, 600, 602f
Carotenóide(s), contra a toxicidade do oxigênio, 451-452, 452f
Cascata de coagulação sangüínea,832, 833f, 833t
  Inibição de, drogas em, 839
Cascatas de transdução de sinal, oncogenes e, 322-324, 323f
Caspase(s), 396
  Na apoptose, 329, 329f, 330f
Caspase-9, 396
Catalase, contra a toxicidade do oxigênio, 450, 450f
Catalisador(es)
  Descrição, 115
  Enzimas como, 115-137
  Locais de, 115
Catálise
  Coenzimas na, 125-129, 126f-128f
  Covalente, 123
  Grupos funcionais na, 123-129
  Íons metais na, 129, 129f
Catecolamina(s), 791-792, 792f. Ver também tipos específicos, e.g., adrenalina
  Descrição, 791
  Efeitos fisiológicos de, 791-792, 792f
  Estoque de, liberação do, 888, 890, 890f
  Inativação de, 792
  Metabolismo de, 792
  Neurotransmissores de,
    Inativação e degradação de, 890, 891f
    Síntese de, 888, 889f
  Secreção de, 791
  Síntese de, 791
Cauda poli(A), síntese da, 246, 246f
CDD. *Ver* Clorodibenzo-p-dioxina (CDD)
Célula de Schwann, 884
Célula diplóide, masculino, cromossomos humanos de, 216f
Célula(s). *Ver também* Lisossoma (s); tipos específicos, p. ex., células gliais
  β, liberação de insulina pela, 484f
  Biologia da, bioquímica e, 157-183
  Citoesqueleto da, 178-181, 178f-180f, 181t
  Compartimentalização na, 158-159
  Complexo de Golgi da, 176-178, 176f, 177f
  De adesão, efeitos do gene supressor de tumor sobre, 328, 328f
  Descrição, 157
  Endotelial, no fígado, 843f, 844. *Ver também* Tipos específicos, p. ex., hepatócito(s)
  Estrelar, hepática, 844
  Glial, 881
  Humana,
    Bactéria *vs*., 182
    Componentes da, 157f
    Mecanismos de transporte para, 164, 164f
    Natureza diplóide da, 251
  Kupffer, no fígado, 844
  Lisossomas, 168-171, 169f-171f
  Membrana plasmática, estrutura da, 157-163, 160f-163f
  Membrana plasmática da, 157-158, 157f
  Microglial, 884
  Neurológicas, no SNC, 883-884
  Núcleos, 172-175, 172f, 173t, 174f
  Peroxissomas, 172, 172f
  Pit, no fígado, 845
  Reação da fosfoglicomutase na, reversibilidade da, 349-350
  Retículo endoplasmático da, 175, 175f
  Sistema nervoso, 881
Células de Kupffer, no fígado, 844
Células endoteliais, no fígado, 843f, 844
Células ependimais, 884
Células estreladas hepáticas, 844
Células gliais, 881
Células HeLa, 227
Células intestinais, enzimas de, na digestão de proteínas, 690
Células microgliais, 884
Células musculares
  Glicólise e metabolismo de ácidos graxos em, 866, 868, 868f
  Metabolismo por, 782
  Tipos de, 863-865, 863f, 864t
Células neurogliais, no SNC, 883-884
Células sangüíneas. *Ver também* Células vermelhas sangüíneas (CVS); tipos específicos, e.g. leucócito(s), 806-808, 806t, 808t
  Bioquímica de, 805-826
  Concentração de, em adultos, valores normais de, 806t
  Granulócitos, 807
  Leucócitos mononucleares, 807-808
  Trombócitos, 808
Células vermelhas sangüínes (CVS)
  Bioquímica de, 805-826
  Citoesqueleto de, visão geral de, 816f
  Desenvolvimento de, inativação gênica durante, 281, 281f
  Funções metabólicas de, 781
  Hemoglobina em, bicarbonato e, 48-49, 49f
  Madura, 808-810, 809f
  Metabolismo de glicose em, 25-26
  Metabolismo por, 781, 808-813, 809f-815f
  Morfologia de, na anemia, 808, 808t
  Transporte de glicose através, 506
Ceramida
  Esfingolipídeos da, síntese dos, 613, 614f
  Síntese de, 613, 613f
Cérebro
  Metabolismo da glicose no, 25
  Metabolismo da glutamina no, 774-775, 774f
  Síntese de lipídeos no, 899-902, 900f, 901t
  Utilização de aminoácido no, 774-775, 774f
Cerebrosídeo(s), estrutura de, 550f
Cetoacidose
  Alcoólica (álcool-induzida), 465, 465f
  Diabética, paciente comatoso em, odor de acetona em, 559
Cetona, 56f
Cetose, prevalência de, 434
CETP. *Ver* Proteína transferidora de éster de colesterol (CETP)
CFTR. *Ver* Regulador de condutância transmembrana da fibrose cística (CFTR)
CGRP. *Ver* Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP)
Chaperona(s), 258
Chips de ácido desoxirribonucléico (DNA), 310
Cianeto, 388
Ciclina, síntese de, 324f
Ciclo celular
  Eucariótico, 226-227, 226f
  Oncogenes e, 324, 324f, 325f
  Pontos de checagem no, 317
  Regulação do, genes supressores de tumor na, 326-327, 326f, 327f
  Supressão, 317
Ciclo da uréia, 703-711
  Descrição, 703-704
  Distúrbios de, 757
    Perigos associados a, 708-709
    Tratamento de, 709-710
  Durante jejum, 707-708, 707f, 708f
  NH_4^+ para, fontes de, 701, 701f
  Produção de arginina por, 704-705, 705f, 706f
  Reações de, 704-706, 705f
  Regeneração de ornitina por, 706, 706f
  Regulação de, 706, 707f
  Síntese de carbamoil-fosfato em, 704, 705f
Ciclo de Cori, 408, 408f
Ciclo de Krebs. *Ver* Ciclo do ácido tricarboxílico (TCA)
Ciclo de nucleotídeos da purina, 747-748
Ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), 4, 360-379
  α-cetoglutarato em, descarboxilação oxidativa a succinil-CoA em, 362f, 363
  CoA em, 365-366, 366f
    Acetil
      Fontes de, 372, 372f
      Precursores de, 371-374, 372f, 373f
  Coenzimas de, 364-368, 364f-368f
  Complexo piruvato-desidrogenase em, 372-374, 372f, 373f
  Complexos α-cetoácido-desidrogenase em, 366-368, 366f-368f
  Eficiência de, 369, 369t
  Energética de, 368-369, 368f, 369t
  FAD em, 364-365, 364f, 365f
  FAD na diidrolipoil-desidrogenase em, 368
  Função deficiente de, conseqüências da, 361
  Intermediários a partir de. *Ver* Intermediários do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA)
  Isocitrato em, formação e oxidação de, 362f, 363, 365f
  Local de, 361
  NAD^+ em, 364-365, 364f, 365f
  Produção energética de, 369t

Reações anapleróticas para, 374-375, 375f, 376f
Reações cineticamente e termodinamicamente reversíveis e irreversíveis em, 369
Reações de, 361-364, 361f, 362f
Regulação de, 369-371, 370f, 370t, 371f
α-cetoglutarato-desidrogenase, 371
Alostérica, da isocitrato-desidrogenase, 371, 371f
Citrato-sintase, 370-371, 370f
Intermediários, 371
Resumo de, 360f
Rotas metabólicas em, regulação de, generalizações da, 370t
Vias anapleróticas de, 375, 376f
Ciclo do TCA. *Ver* Ciclo do ácido tricarboxílico (TCA)
Ciclo gama-glutamil, 695, 695f
Ciclo glicose-alanina, 702, 703f, 771-772, 772f, 773f
Ciclo trifosfato de adenosina (ATP)-ADP, 4, 4f, 341, 341f
Princípio do, 342-343
5-Fluorouracil (5-FU), estrutura do, 217f
5-Fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP), síntese de, 749, 749f
Cincunferência da cintura, medidas antropométricas de, 28
Cininogênio de alto peso molecular (HMWK), 834
Circunferência muscular do braço (CMB), 28
Circunferência muscular medial do braço (CMMB), 28
Cirrose, hepática, disfunção do fígado devido à, 468
Cirrose hepática, disfunção hepática devido a, 468
Cistationinúria, 718, 729
Cisteína, 76f, 77t, 78f
Degradação de, 718, 719f
Síntese de, 718, 719f
Cistinose, 718
Cistinúria, 718
Citidina-trifosfato (CTP), 747
Citocina, no DNA, 209, 209f
Citocina(s), 188, 470
Hematopoese e, 819, 820f
Na mediação do fluxo de aminoácidos durante a sepse, 778f, 779
Citocromo c, 396
Citocromo oxidase, 386
Citocromo P450
Metabolismo de xenobióticos e, 846-847, 846t, 847f
Reações de detoxificação de, exemplos de, 847-849, 848f
Citocromo P450, rota do, na síntese de eicosanóides, 663, 663f
Citocromo P450 monoxigenases, 355, 355f
Citocromo $P450_{C11}$, 644
Citocromo(s), na fosforilação oxidativa, 386, 386f
Citoesqueleto, 158, 178-181, 178f-180f, 181t
Filamentos de actina do, 179-180, 179f
Filamentos intermediários do, 180, 180f, 181t
Microfilamentos do, 180
Microtúbulos do, 178-179, 178f
Citoqueratina, filamento de, formação do, 180, 180f
Citrato
No citosol, destinos do, 597, 597f
Síntese de, regulação da, no ciclo do TCA, 370-371, 370t
Citrato-liase, regulação da, no fígado, no estado alimentado, 670, 671f
Citrulina, síntese de, 704, 705f, 706f
Claritromicina, inibição da translocação por, 267
Clivagem proteolítica, mudanças conformacionais através de, 150-151
Clonagem
De DNA, descrição, 303
Na amplificação de seqüência de DNA, 303-305, 305f
Cloranfenicol
Inibição da peptidiltransferase por, 267
Inibição da síntese protéica por, 271t, 272
Cloreto de vinil, detoxificação de, 847-848, 848f
Clorodibenzo-p-dioxina (CDD), estrutura de, 59, 59f
Clorofila, descrição, 810
Clostridium perefringens, toxinas bacterianas secretadas por, 159
CMB. *Ver* Circunferência muscular do braço (CMB)
CMMB. *Ver* Circunferência muscular medial do braço (CMMB),
C-myc, síntese de, 324
CoA. *Ver* Coenzima(s), CoA; Coenzima A (CoA)
Coagulação sangüínea
Processo de, 832, 834-836, 834f, 835f
Proteínas de, 832, 833t
Serina-proteases em, 121
Vitamina K para, necessidades de, 835-836, 835f
Coagulação. *Ver* Coagulação sangüínea
Coágulo sangüíneo, definição, 827
CoASH, 366
Coberturas de metil, tipos de, 245f
Cobre, redução do oxigênio e, na fosforilação oxidativa, 386
Código genético
Como "degenerado", mas não-ambígüo, 260-261, 260f, 260t
Falta de pontuação em, 261
Na tradução, 259-261, 260f, 260t
Natureza de não-sobreposição do, 261
Universalidade do, 261
Códon(s)
Descrição, 258
Na tradução, 258, 258f
Pareamento de bases, 252
Pareamento de bases, para alanina com 5'-IGC-3', 260f
Coenzima(s)
CoA, 125-126, 127f
Acetil, malonil-CoA a partir de, na síntese de ácidos graxos, 598, 598f, 599f
Acil, destinos do, 421-423, 423f
Malonil
A partir de acetil-CoA, na síntese de ácidos graxos, 598, 598f, 599f
Inibição da CPT I por, 600, 602f
No ciclo do TCA, 365-366, 366f
Propionil
A partir de ácidos graxos de cadeia ímpar, 426, 427f
Conversão a succinil-CoA, 426, 428f
Succinil. *Ver* Succinil-CoA
Conversão em propionil-CoA, 426, 428f
CoQ
Na fosforilação oxidativa, 385-386, 385f
Superóxido gerado por, 442, 443f
De transferência de ativação, 125-127, 126f, 127f
Na catálise, 125-129, 126f-128f
No ciclo do TCA, 364-368, 364f-368f
Oxirredução, 127-129, 128f
Coenzimas de oxirredução, 127-129, 128f
Coenzimas de transferência de ativação, 125-127, 126f, 127f
Cofator(es), papel não-catalítico de, 129
Colágeno
Ligações cruzadas no, formação de, 908f
Na matriz extracelular, 906-910, 906f-909f, 908t, 910t
Secreção de, 909-910, 910t
Síntese de, 909-910, 910t
Tipos de, 907-909, 908t, 909f
Colchicina, 179
Colecistocinina, efeitos sobre o metabolismo de substratos energéticos da, 801t
Cólera
Descrição, 508
Desidratação na, tratamento da, 168
Patogênese da, 508-509
Tratamento da, 509
Vibrio cholerae e, 158, 159
Colesterol, 619-653. *Ver também* Lipoproteína(s)
Absorção intestinal do, 621-622
Ácido cólico e ácido quenocólico a partir de, na síntese de sais biliares, 628-629, 628f, 629f
"Bom", 642
Captação de, endocitose mediada por receptor na, 637-638, 637f
Como precursor de hormônios esteróides, 643
Descrição, 619
Destinos do, 627-628, 628f
Estrutura do, 622, 622f, 623f
Fontes de, 619
HDL, destinos do, 635-636
Hormônios esteróides derivados de, 620
Intracelular, 619
LDL
Concentração de, determinação de, 621-622
Tratamento baseado em, 621, 621t, 622t
Metabolismo do, 579, 579f
Na membrana plasmática, 161, 161f
Nos quilomícrons, 619
Placas ateroscleróticas e, 620
Sais biliares a partir de, 620

Síntese de, 622-627, 622f-624f, 626f, 627f
Condensação de seis isoprenos de 5-carbonos ativados para formar esqualeno de 30-carbonos na, 625, 627f
Esqualeno na, 625, 626f
Controle transcricional na, 623-624, 624f
Conversão de esqualeno em núcleo esteróide de quatro anéis na, 626-627, 627f
Conversão de mevalonato em isoprenos ativados na, 625, 626f
Degradação proteolítica da HMG-CoA-redutase na, 624f, 625
Estágio 1, 623-624, 623f, 624f
Estágio 2, 625, 626f
Estágio 3, 625, 627f
Estágio 4, 626-627, 627f
Regulação de modificação covalente na, 624f, 625
Síntese de mevalonato a partir de acetil-CoA na, 623-625, 623f, 624f
Síntese e exportação de, fígado na, 849
Transporte de,
HDL no, 632t, 634-637, 635f, 636f. *Ver também* Lipoproteína(s), alta densidade
IDL no, 632t, 633-634
LDL no, 632t, 633-634
Por lipoproteínas sangüíneas, 631-637, 632t, 633f, 635f
Quilomícrons no, 631-632, 632t
VLDL no, 632-633, 632t, 633f
Colina
Deficiências de, 14t
Estrutura da, 58f
Fontes de, 14t
Compartimentalização, canalização de substratos através, 153
Complexo α-cetoglutarato-desidrogenase
Lipoato em, 367-368, 368f
No ciclo do TCA, 366-368, 366f-368f
Tiamina-pirofosfato em, 367
Complexo ácido graxo sintase
Na síntese de ácidos graxos, 598-600, 599f-602f
Redução do grupo β-cetoacil, efeitos sobre, 599, 600f
Regulação de, no fígado, no estado alimentado, 672
Resíduo fosfopanteteinil do, 599, 599f
Síntese de palmitato no, 599, 600f
Complexo β-glicosidase, na digestão do amido, 498, 499f
Complexo de Golgi, 176-178, 176f, 177f, 258, 269
Complexo piruvato-desidrogenase (PDC)
Acetil-CoA a partir de, 372, 372f
Deficiências de, 373
Estrutura de, 372-373, 373f
No ciclo do TCA, 372-374, 372f, 373f
Regulação de, no ciclo do TCA, 3730374, 373f
Complexo poro nuclear, 173, 174f
Complexo protease, 693, 693f
Complexo sacarase-isomaltase, na digestão do amido, 497, 499f
Complexo xantina-enzima, 133f
Complexos de α-cetoácido-desidrogenase, no ciclo do TCA, 366-368, 366f-368f
Complexos de estados de transição, na reação enzimática, 119-120, 120f
Complexos de fatores, 834-835, 835f
Componentes da dieta, metabolismo dos, vias para, 1, 1f
Componentes do fluido, no corpo, 42-43
Composto(s)
Biológico, 55, 55f
Contendo nitrogênio, 54, 66-67, 66f, 67f
De organofósforo, 116, 116f
Estágios intermediários de reação semelhantes a, 131-132, 132f, 133f
Estrutura de, 54-71
Nomenclatura associada a, 57-58, 58f
Radicais livres, 67-68
Reatividade de, 57, 58f
Solubilidade de, 57, 58f
Sulfatados, precursores e funções de, 850t
Compostos biológicos, 55, 55f
Compostos organofosforados, 116, 116f
Compostos sulfatados, precurosores e funções de, 850t
Concentração de substrato
Descrição, 138
Regulação enzimática por, 140-143, 141f, 142f
Velocidade e, 140-143, 141f, 142f
Condrócito(s), na síntese e degradação de proteoglicanos, 917, 917f
Condroitina-sulfato, síntese do, 914f
Conformação nativa, 106
Constante de dissociação, K_a, 41
Consumo de álcool, 56f
Cetoacidose devido ao, 465, 465f
Efeitos agudos do, 458
Recomendações dietéticas para o, 6, 17
Consumo de oxigênio, controle do, 391
Contração(ões), músculo, 866, 867f
Controle transcricional, na síntese de colesterol, 623-624, 624f
Convulsão(ões), epiléptica, manuseio de, dietas cetogênicas no, 433
CoQ. *Ver* Coenzima(s), CoQ
Co-repressor(es), na regulação da expressão gênica procariótica, 277, 278f
Corpos cetônicos, 30
Formação de, no fígado, 850
Metabolismo de, 431-433, 431f-433f
Rota alternativa de, 433
Na homeostasia de substratos energéticos, 434-435, 434f, 436f
Oxidação de, como substratos energéticos, 433, 433f
Produção de, no fígado, durante jejum, mecanismos que afetam, 673-674, 675t, 676
Síntese de, 432-433, 432f
Regulação de, 435, 436f
Tecidos que utilizam, 435
Cortisol
Bioquímica do, 792
Descrição, 477
Estrutura do, 191f
Na regulação do metabolismo de combustíveis, ações fisiológicas do, 481, 482t
Secreção de, 793, 793f, 794f, 794t
Síntese de, 644, 645f, 646, 646f
Transdução de sinal por, 489
Creatina
A partir de creatina-fosfato, 871, 871f
Precursores e funções da, 850t
Creatina-fosfato
Creatina a partir de, 871, 871f
Ligações de alta energia na, 350f
No músculo esquelético, 869-871, 870f, 871f
CREs. *Ver* Elementos responsivos a AMPc (CREs)
Cromatina, 214
Remodelagem da, na regulação eucariótica para a transcrição, 282, 282f
Cromossoma(s)
Circular, replicação bidirecional de, 223, 223f
Estrutura de, 214-216, 215f, 216f
Homólogo, produtos protéicos de, 216f
Terminações de, replicação das, 229, 229f
Translocação de, 233, 234f
CTP. *Ver* Citidina-trifosfato (CTP)
CVS. *Ver* Células vermelhas sangüíneas (CVS)
CYP2E1, 462

D

D-Alanina, estrutura da, 66f
D-Aminoácidos, estrutura de, 74f
DDT. *Ver* Diclorodifeniltricloroetano (DDT)
Defeitos do tubo neural, deficiências de folato e, 744
Defesa imunológica, proteínas que auxiliam na, 829
Defesas contra radicais livres, compartimentalização de, 448-449, 449f
Deficiência de fator de von Willebrand, 831
Deficiência de frutoquinase, 527
Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), 810
Deficiência de piruvato-carboxilase, descrição, 375
Deficiência de tiamina, beribéri devido a, 14t, 377
Degeneração macular relacionada à idade (AMD), 452
Degradação de proteínas, regulada, 151
Deleção(ões), 262, 262f
Deleções gênicas, regulação eucariótica para a transcrição, 284
Desacopladores químicos, da fosforilação oxidativa, 391-392, 392f
Desacoplamento, entre a síntese de ATP e o transporte de elétrons, 391-393, 392f, 393f
Descarboxilase(s), 135, 135f
Desgranulação, 807
Desidratação
Água e, 51-52, 51f
No cólera, tratamento da, 168
Desidratase(s), 135
Desidrogenase(s), 134

Desoxinucleotídeo(s), 209
Desoxirribonucleotídeo(s), produção de, 757, 757f, 757t
Desoxirribonucleotídeos-trifosfatos, 222
Desoxirribose, 61f
  No DNA, 209, 209f
Desoxitimidina-monofosfato (dTMP), 732, 737-738, 747
Desoxiuridina-monofosfato (dUMP), 732, 737
Desvio do bisfosfoglicerato, na glicólise, 408-409, 409f
Desvio(s)
  De bisfosfoglicerato, na glicólise, 408-490, 409f
  De hexose-monofosfato. *Ver* Via da pentose-fosfato
Dextran, estrutura do, 414f
D-Galactose, 60f
D-Gliceraldeído, 60f
  Em proteínas, 74f
  Estrutura de, 59, 59f
D-Glicose, 60f
D-Gluconato, 61f
DHAP. Ver Diidroxiacetona-fosfato (DHAP)
Diabete juvenil de início da maturidade (MODY), 483
Diabetes melito, 559
  Diagnóstico de, 50
  Tipo I, 483
Diabetes melito insulino-dependente (IDDM), 483
Diclorodifeniltricloroetano (DDT), estrutura do, 69, 69f
Dideoxinucleotídeo(s), na identificação de seqüências de DNA, 302, 304f
Dieta(s). *Ver também componentes específicos, p. ex.*, Carboidrato(s)
  Acetato na, 372
  Cetogênica, para a convulsão epiléptica, 433
  Fibras na, 494, 502-503, 502t
  Hiperprotéica de Atkins, bases da, 776
  Metabolismo de aminoácidos, efeitos da, 775-777, 775f
  Pobre em proteína, para defeitos no ciclo da uréia, 710
  Recomendações para, 16-18, 17f
    Álcool, 17
    Frutas, 16, 17f
    Gorduras, 5, 6f, 16-17, 17f
    Grãos, 16, 17f
    Minerais, 18
    Proteínas, 5, 6f, 12-13, 13t, 17, 17f
    Recomendações gerais, 16, 17f
    Vegetais, 16, 17f
    Vitaminas, 18
  Requerimentos na, 3, 11-16
    Ácidos graxos essenciais, 12
    Água, 16
    Aminoácidos essenciais, 12
    Balanço nitrogenado, 12-13, 13t
    Carboidratos, 5, 5f, 11-12
    Minerais, 15-16, 15t
    Proteína, 12-13, 13t
    Vitaminas, 13-15, 14t
    Xenobióticos, 18-19
Dietas cetogênicas, para convulsões epilépticas, 433
Dietas pobres em proteínas, para os defeitos do ciclo da uréia, 455-456, 455f
Diferenciação, regulação da expressão gênica para, 275
Difosfato de adenosina (ADP), 4
  Na regulação da glicólise, 409-412, 410f, 411f
Difteria, 267
Difusão facilitada, através da membrana plasmática, pela ligação a proteínas transportadoras, 164-165, 165f
Difusão simples, através da membrana plasmática, 164, 164f
Digestão, 23-24, 23f
  De amido, 493, 494f
  De dissacarídeos, 493
  De proteínas, 24, 687-690, 688, 689f. Ver também Proteína(s), digestão de,
Diidrolipoil-desidrogenase, FAD e, no ciclo do TCA, 368
Diidroxiacetona-fosfato (DHAP), 563-564, 565f
Dímero receptor de hormônio da tireóide/receptor de retinóide (TX-RXR), atividade do, 286, 287f
Dímeros de pirimidina
  Locais de, 231
  Reparo de, 230
Dímeros de timina, reparo de, 230, 231f
Dinamina, 168f
Dinitrofenol (DNP), 392f
Dióxido de carbono (CO_2)
  Conversão de glicose em, 25
  Efeitos sobre a ligação de oxigênio, 816-817, 817f
Dissacarídeos, 62-63, 62f
  Da membrana com borda em escova intestinal, na digestão do amido, 497-500, 498f, 498t, 499f
  Digestão de, 493
Dissulfeto, 56f
Distrofia muscular
  De Becker, 863
  De Duchenne, 863
Distrofia muscular de Becker, 863
Distrofia muscular de Duchenne, 863
Divisão celular, FH_4 na, 737
D-Manose, 60f
DNA ligase,
  Ação da, 226f
  Função da, 226, 226f
DNA mitocondrial, e doenças OXPHOS, 389-390, 389t
DNA polimerases, 222
  Bacterianas, funções das 224, 224t
  Eucarióticas, funções das, 227, 227t
  Procarióticas, na replicação, 224, 224t, 225f
DNA recombinante
  Aplicações clínicas de, 297
  Produção de, 300, 300f
  Técnicas para, 297-316
    Na obtenção de fragmentos de DNA e cópias de genes, 299-300, 299f, 299t, 300f
    Na prevenção e tratamento de doenças, 310-311, 311f, 312f
    Aconselhamento genético, 311-312
    Adenovírus, 313
    Animais transgênicos, 313, 314f
    Eritropoetina, 311
    Fatores de crescimento hematopoético, 311
    Fatores estimuladores de colônia, 311
    Hormônio do crescimento em, 311, 311f
    Insulina, 311, 311f
    Interleucinas, 311
    Proteínas complexas, 311
    Proteínas terapêuticas, 311, 311f
    Retrovírus, 312, 312f
    Terapia gênica, 312-312, 312f
    TPA, 311
    Vacinas, 310
  No diagnóstico de doenças, 306-310, 308f, 309f
DNA. *Ver* Ácido desoxirribonucléico (DNA)
DNP. Ver Dinitrofenol (DNP)
Dobra(s)
  De actina, em proteínas globulares, 98f, 99
  Definição, 99
  Ligação de nucleotídio, em proteínas globulares, 97f, 99
Doença da célula I, 269
Doença da proteína ativadora de Sandhoff, 554
Doença de Hartnup, 690
Doença de imunodeficiência combinada severa (SCID), 759-760, 760t
  Ligada ao X, linfócitos em, 819
Doença de McArdle, 516, 516t
Doença de Parkinson, degradação neuronal na, ROS e RNOS na, modelo para o papel de, 454f
Doença de Sandhoff, mutação do gene da HexB e, 553
Doença de Tay-Sachs, deficiência de hexosaminidase A na, 553, 553f
Doença do xarope de bordo, desidrogenase de α-cetoácidos de cadeia ramificada na, 724, 724f
Doença epiléptica mioclônica com fibras vermelhas rotas (MERRF), 390
Doença granulomatosa crônica, 447
Doença hepática, 858-859
  Álcool-induzida (alcoólica),
    Crônica, fibrose na, 469-470, 469t, 470f
    Metabolismo do etanol e, 458
  Metabolismo de aminoácidos em, 858
  Metabolismo de lipídeos em, 856-857
Doença hepática alcoólica
  Crônica, fibrose na, 469-470, 469t, 470f
  Metabolismo do etanol e, 458
Doenças da OXPHOS, 389-390, 389t
  DNA mitocondrial e, 389-390, 389t
  Tipos de, 389t
Doenças de depósito de glicogênio, 516t
  Causa de, 516
  Tipo II, 516, 516t
Doenças genéticas. *Ver também doenças específicas*
  Fosforilação oxidativa e, 390
  Relacionadas ao metabolismo de aminoácidos, 730t
Doenças mitocondriais, 171
Doenças peroxissômicas, 172

2,3-Bisfosfoglicerato (2,3-BPG)
Efeitos sobre a ligação de oxigênio, 815, 816f
Na glicólise, 408-409, 409f
2,3-BPG. Ver 2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG)
Dopamina
Descrição, 791
Estrutura da, 58f
Síntese da, 888-892, 889f-891f
Droga(s). *Ver também* tipos específicos, p. ex., Drogas não-nucleosídicas
Estágios intermediários de reação semelhantes a, 131-132, 132f, 133f
Na inibição da cascata de coagulação sangüínea, 839
Drogas antiinflamatórias, não-esteróides (NSAIDs), ação de, 600f
Drogas de sulfa, 734
Drogas não-nucleosídicas, para AIDS, 256
D-Sorbitol, 61f
dTMP. *Ver* Desoxitimidina-monofosfato (dTMP)
dUMP. *Ver* Desoxiuridina-monofosfato (dUMP)
Dupla-hélice, do DNA, 212-213, 213f

E

Efeito Bohr, 816, 816f, 817f
"Eicosa", definição, 656
Eicosanóide(s), 189, 189f
Descrição, 64
Fontes de, 654, 655f, 656-657, 656f
Função de, 654
Mecanismo de ação de, 663-665, 664t
Meia-vida de, 654
Metabolismo de, 654-667
Visão geral do, 655f
Síntese de, 579, 579f, 656
Vias para, 657-663, 657f-663f, 660t
Via da cicloxigenase, 657-661, 657f-660f, 660t
Via da citocromo P450, 663, 663f
Via da lipoxigenase, 661-663, 661f, 662f, 663t
TXA2, 659-660
eIF2, na síntese protéica, 265
Elastina,
Na matriz extracelular, 910-911, 910f
Propriedades elásticas da, 911
Elemento regulatório de esteróis, 624
Elementos promotor-proximais, 274
Elementos responsivos ao AMPc (CREBs), na transdução de sinal, 488
Eletroforese,
Definição, 79
Gel de, na identificação de seqüências de DNA, 301, 301f
Eletroforese de gel, na identificação de seqüência de DNA, 301, 301f
Eletrólitos, 44
Elongação de polipeptídeo, na tradução, etapas da, 258
EM. *Ver* Esclerose múltipla
Encefalopatia hipoglicêmica, 897-898, 898f
Encefalopatia hipoxêmica, 898-899
Encefalopatia(s)
Hipoglicêmica, 897-898, 898f
Hipóxica, 898-899
Metabólica, 897-899, 898f
Endocanabinóide(s), síntese de, 663
Endocitose, 169-170, 170f
Mediada por receptor, 169-170, 170f
Captação de colesterol por, 637-638, 637f
Entrada de lipoproteínas na célula por, 637-638, 637f
Endocitose mediada por receptor, 169-170, 170f
Captação de colesterol por, 637-638, 637f
Lipoproteínas que entram na célula por, 637-638, 637f
Endoglicosidase(s), 915
Endossoma(s), 169
Endotélio, vascular, tromborresistência do, 837
Energia,
A partir da oxidação de substratos energéticos, 341-342, 351-354, 352f-354f, 353t
De ativação, 115
Disponibilidade de, para trabalho, 342-345, 343f, 344t, 345f, 345t
Gasto diário de, 7-11, 8t, 9t, 10f, 11f. *Ver também* Gasto diário de energia (GDE)
Livre,
De Gibbs, 338, 341, 344, 348
Durante reações, mudanças na, 343-344
Na síntese de glicose, 568
No transporte ativo, 166-168, 167f
Transformações na, para o trabalho mecânico e de transporte, 345-347, 346f
Energia livre
De Gibbs, 338, 341, 344, 348
Durante a reação, alteração na, 343-344
Enovelamento de proteína, 106-109, 108f
Estrutura primária, 108-109, 108f
Ensaios imunorradiométricos (IRMA), 803
Envenenamento por arsênico, causa de, 368
Enzima anaplerótica, piruvato carboxilase como, 375, 375f
Enzima málica, regulação da, no fígado, no estado alimentado, 670, 671f
Enzima(s)
Alostéricas, 138, 138f
Em vias metabólicas, 146-147
Ligação de substrato em, cooperatividade em, 145, 145f
Mudanças conformacionais em, 145-147, 145f, 146f. *Ver também* Enzimas alostéricas,
Anaplerótica, piruvato-carboxilase como, 375, 375f
Atividade de
Interações proteína-proteína em, 138
Modificações covalentes, 138
Ausência de, na reação, 120-121
Classificação de, 134
Como catalisadoras, 115-137
Concentração de,
Mudanças na, 138
Velocidade e, 142
Defeito, em gangliosídeos, 552, 552t
Descrição, 115
Fígado, regulação de, 567t
Funções de, 116
Inibição reversa de, 138
Limitante, 138, 138f
Málica, regulação da, no fígado, no estado alimentado, 670, 671f
Mitocondrial, compartimentalização de, 377-378
Na regulação da gliconeogênese, 565-566, 566f, 567t
No metabolismo do glicogênio, a respeito da nomenclatura com, 518, 518f
Nomes de, 115
Oxidação, específica por tamanho de cadeia, 421, 422t
P450
Estrutura da, 847f
Na oxidação de etanol, 462-463, 462f
Pancreática, na digestão de proteínas, 689-690, 689f
Poder catalítico de, 115, 115f
Proteolítica, 687
Quantidade de, na regulação enzimática, 151
Regulação de, 138-156
Alterações conformacionais na, 145-151, 145f-150f. *Ver também* Alterações conformacionais, regulação enzimática através das rotas metabólicas na, 151-153, 152f
Fosforilação na, 520
Inibição reversível no centro ativo, 143-144, 143f, 144f
Pela concentração de substrato e produto, 140-144, 141f-144f
Quantidade de enzima na, 151
Síntese protéica na, 151
Regulatória, 138, 138f
Reparo, mutações em, 320-321
Restrição, ação de, 299, 299f
Restrição, seqüências clivadas por, 299t
Scavenging antioxidante, contra a toxicidade do oxigênio, 449-450, 449f-451f
Sítios de ligação em, 115
Velocidade de, concentrações de substrato e, 140-143, 141f, 142f
Enzimas alostéricas, 138
Em rotas metabólicas, 146-147
Ligação de substrato a, cooperatividade em, 145, 145f
Mudanças conformacionais em, 145-147, 145f, 146f
Enzimas de oxidação, especificidade pelo tamanho da cadeia, 421, 422t
Enzimas de reparo, mutações em, 320-321
Enzimas de restrição
Ação de, 299, 299f
Seqüências clivadas por, 299t
Enzimas limitantes, 138, 138f
Enzimas mitocondriais, compartimentalização de, 377-378
Enzimas P450
Estrutura de, 847f
Na oxidação do etanol, 462-463, 462f
Enzimas proteolíticas, 687
Enzimas *scavenging* de antioxidantes, contra a toxicidade do oxigênio, 449-450, 449f-451f
Eosinófilos, 807
Epidermólise bolhosa simples, 181

Epimerase, na via da pentose-fosfato, 533, 534f
Epímero(s), 59
Epitélio, intestinal, absorção de açúcares por, 503-506, 504f, 504t, 505f, 505t
Epitélio intestinal, absorção de açúcares pelo, 503-506, 504f, 504t, 505f, 505t
Equação de Henderson-Hasselbalch, 41, 45
  Para o sistema tampão de bicarbonato, 48
Equação de Michaelis-Menten, 140-142, 141f
  Gráfico de, 141f
Ergosterol, 648
Eritrócito(s). *Ver* Células vermelhas sangüíneas (CVS)
Eritromicina, inibição da síntese protéica por, 271t, 272
Eritropoiese, 819, 820f
Eritropoietina, na prevensão e no tratamento de doenças, 311
Escape de prótons, taxa metabólica de repouso e, 393
Escherichia coli
  Na expressão gênica, 274, 275
  RNA-polimerase de, 279-280
Esclerose múltipla, mielina e, 902-903
Escore de Apgar, descrição, 512
Esfingolipídeo(s), 64-65, 65f, 542
  A paritr de ceramida, síntese de, 613, 614f
  Composição de, 595
  Descrição, 595
  Estruturas de, 596f
  Metabolismo de, 608-613, 609f-614f
  Síntese de, 613, 613f, 614f
  Tipos de, 608, 609f
Esfingomielina, 159, 160f
  Estrutura de, 596f
  No líquido amniótico, 615, 615f
Esfingosina, precursores e funções de, 850t
Espécies reativas de nitrogênio e oxigênio (RNOS), 440
  Inflamação e, 448
  Óxido nítrico e, 445-447, 446f
  ROS e, 441, 442t
  Toxicidade de, 446-447, 446f
Espécies reativas de oxigênio (ROS), 439
  Caractrísticas de, 441-442, 442f, 442t
  Fontes celulares de, 442-443, 443f, 444f
  Geração de, oxigênio e, 440-443, 441f-444f, 442t
  Hemólise devido a, 537, 537f
  RNOS e, 441, 442t
Espessura de prega cutânea, medidas antropométricas de, 28
Esqualeno, núcleo esteróide de quatro-anéis a partir de, na síntese de colesterol, 626-627, 627f
Esqualeno de 30 carbonos, a partir de seis isoprenos de 5 carbonos ativados, na síntese de colesterol, 625, 627f
Esqueleto peptídico, estrutura do, tridimensional, 94-95, 94f
Estado absortivo, 22-29. *Ver também* Estado alimentado
Estado alimentado, 22-29
  Aminoácido em, 26-27
  Definição, 22
  Fontes de glicose sangüínea em, 556, 558f
  Glicemia em, 569-571, 570f, 571f
  Lipoproteínas em, 26
  Metabolismo de triacilgliceróis em, 579, 580f
  Regulação do metabolismo de carboidratos em, 669-672, 669f-673f. *Ver também* Carboidrato(s), metabolismo de, regulação do, no estado alimentado
  Regulação do metabolismo de lipídeos em, 669-672, 669f-673f
  Substratos energéticos em, destinos de, 22f
Estado basal, 32
Estado de inanição, fontes de glicose sangüínea no, 556, 558f
Estado de jejum, 30, 31-33, 32f, 33f
Estado de transição, energia de ativação e, 115
Estado fisiológico, efeitos sobre o metabolismo de aminoácidos do, 776-777, 776f
Estados hipercatabólicos, efeitos sobre o metabolismo de aminoácidos, 776-777, 776f
Estearato, estrutura de, 6f
Éster(es), 56, 56f
  Formação de, 58f
Estereoisômero(s), 59, 60f
Esteróide(s), 65-66, 66f
Esterol(óis), estrutura do anel de, 622, 622f
Estômago, digestão de proteínas no, 688f, 689
Estoques de substratos energéticos, 3
Estreptomicina
  Inibição da síntese protéica por, 271, 271t
  Na síntese protéica, 265
Estresse oxidativo, 440f
  Causas de, 663
Estrogênio(s), síntese de, 645f, 648
Estrutura *beads on a string*, 215, 215f
Estrutura primária
  De proteínas, 92, 92f
  No enovelamento de proteínas, 108-109, 108f
Estrutura quaternária de proteínas, 92f, 93, 101
Estrutura secundária de proteínas, 92, 92f, 95-97, 95f-97f
Estrutura terciária
  De mioglobina, 102f, 103
  De proteína, 92-93, 92f, 97f, 98-101, 98f, 100f
  De proteínas transmembrana, 100-101, 100f
Estruturas de anel, contendo nitrogênio, 66-67, 67f
Etanol. *Ver também* Consumo de álcool
  Descrição, 458, 459-460
  Metabolismo de, 458-471
    Acetaldeído-desidrogenase no, 460f, 461
    Acetato no, 461, 462f
    ADH no, 460-461, 460f
    Doença hepática alcoólica devido a, 458
    Efeitos hepáticos de, no metabolismo de lipídeos, 464, 465f
    Efeitos tóxicos de, 464-468, 465f, 467f
      Acidose lática, 465f, 466
      Cirrose hepática, 468
      Formação de radicais livres, 467, 467f
      Hiperuricemia, 465f, 466
      Hipoglicemia, 465f, 466
      Metabolismo de ácidos graxos, 464, 465f
      Relação NADH/NAD elevada, 464-466, 465f
      Toxicidade do acetaldeído, 466-467, 467f
    Gênero em, 463
    Genótipo em, 463
    História de ingestão de álcool, 463
    MEOS em, 461-463, 462f
    Padrão de, variações em, 463
    Quantidade em, 463
    Rota para, 458, 458f
    Via de, 460, 460f
  Oxidação de, produção de energia de, 463-464
Éter, 56f
Eucarióto(s), 157
  DNA em,
    Seqüências repetitivas em, 251-253, 252f, 253t
    Síntese de, 226-229, 226f, 227t, 228f, 228t, 229f
    Tamanho de, 251-253, 252f, 253t
  Expressão gênica em,
    Pós-transcricional, 290, 291f, 292f
    Regulação de, 274
      Em níveis múltiplos, 281
    Transcrição e, 237
  Procariótos *vs*., 244, 253t
  Promotores em, 242f
  Reciclagem de, EF1 em, 266, 266f
  Tradução em
    Iniciação da, 290-291, 292f, 293f
    Regulação da, 281-293, 281f-283f, 285f-293f
      Estabilidade de mRNA e, 290-291, 292f, 293f
      No nível da transcrição, 284-290, 285f-290f
  Transcrição de mRNA em
    Estabilidade de, 291, 293
    Transporte de, 291, 293
  Transcrição em, 244-251, 245f-250f. *Ver também* Transcrição, deleções de genes eucarióticos em, 284
  Translocação em, 267
Excisão de base, no reparo do DNA, 231, 232f
Excisão de nucleotídeos, no reparo de DNA, 231, 232f
Exercício
  De alta intensidade, glicólise anaeróbica durante, 874-875
  De longa duração,
    De intensidade moderada, 875-877, 876f
    Leve, 875-877, 876f
  Duração do, diminuição da liberação de lactato com, 875
  Glicogênio-fosforilase durante, ativação da, 523, 523f
  Glicólise anaeróbica a partir de glicogênio durante, 873-874, 873f, 874f
  Glicólise anaeróbica em fibras glicolíticas de contração rápida tipo IIB durante, 872
  Glicólise anaeróbica no início do, 872
  Lactato liberado durante, destino do, 875
  Metabolismo muscular durante, 862-880

Níveis de glicose sangüínea durante, 575
Utilização de substrato energético durante, 872-875, 873f, 874f
Exoglicosidase(s), 915
Expressão gênica
Descrição, 274
Em *Escherichia coli*, 274, 275
Regulação de, 274-296
Eucariótica, 274
Em múltiplos níveis, 281
Para adaptação e diferenciação, 275
Procariótica, 274, 276-281, 276f-280f. Ver também Procarionte(s), expressão gênica em, regulação de,
Síntese de proteínas e, 205-336

F

FAD. *Ver* Flavina-adenina dinucleotídeo (FAD)
FADD, 201-202, 202f
Fadiga, anemia ferropriva e, 381
Fagocitose, 170-171, 171f
Formação de radiais livres durante, 447-448, 448f
Família Ras, de proteínas G monoméricas, 173, 173t
Fas/CD95, 329
Fase oxidativa, da via da pentose-fosfato, 532-533, 533f
Fator de von Willebrand, 830
Fator(es) de crescimento, 189-190, 322
Fatores de crescimento hematopoético, no tratamento e prevenção de doenças, 311
Fatores de crescimento tipo-insulina (IGF)
Ações de, 790, 790f
Na regulação do hormônio do crescimento no fígado, 790-791, 790f
Produção de, 790, 790f
Fatores de transcrição, 323-324, 323f
Na transformação da hemoglobina, 823, 823f
Regulação de, 288-289
Reguladores múltiplos de promotores em, 289-290, 289f
Fatores de transcrição específicos, 274
Fatores estimuladores de colônia, no tratamento e prevenção de doença, 311
Fatores respiratórios nucleares (NRF-1, NRF-2), 390
Fenilacetato, para os defeitos do ciclo da uréia, 710
Fenilalanina
Acetoacetato a partir de, 276f, 725, 727f
Degradação de, 725, 726f
Doenças genéticas associadas a, 730t
Fumarato a partir de, 722
Hidroxilação de, 726, 727f
Fenilbutirato
Metabolismo de, 709f, 710
Para os defeitos do ciclo da uréia, 709f, 710
Fenilcetonúria, 729-730
Ferro
Absorção de, 812
Armazenamento de, 812
Deficiência de, efeitos da, 814
Fontes de, 811-812, 813f
Metabolismo de, 812, 813f
RDA para, 811
Regulação da transcrição por, 294
FH_4. *Ver* Tetraidrofolato (FH_4)
Fibras da dieta, 494, 502-503, 502t
Tipos de, 502t
Fibras musculares, tipos de, propriedades das, 864t, 865
Fibrato(s), 856
Fibrilação ventricular, 440
Fibrina, ligação cruzada de, 834, 834f
Fibrinogênio
Clivagem de, formação de coágulo devido a, 831-832, 831f
Descrição, 831
Função de, 827
Fibrinólise, 837-838, 838f
Regulação da, 838
Fibrose
Fígado, 468
Na doença hepática alcoólica crônica, 469-470, 469t, 470f
Fibrose cística
Causa de, 298
Seqüenciamento de DNA na, 308
Fibrose hepática, 468
Fígado. *Ver também hepático(a)*, p. ex., Doenças hepáticas
Anatomia de, 843, 843f
Biossíntese de nucleotídeos em, 850-851
Células endoteliais em, 843f, 844
Cirrose de, hipertensão portal devido a, 851
Como central de recebimento e reciclagem para o corpo, 845-846
Compostos nitrogenados produzidos por, 850t
Doenças de. *Ver* Doenças hepáticas
Durante jejum, 31-32
Durante jejum prolongado, 33-35, 35f, 35t
Efeitos do hormônio da tireóide sobre, 798
Efeitos do hormônio do crescimento sobre, 790-791, 790f
Em *pit cells*, 845
Enzimas em, regulação de, 679t
Funções de, 845-852, 846t, 847f, 848f, 850t, 851t, 852f
Efeitos da cirrose hepática sobre, 468
Glicemia em, durante jejum, mecanismos que afetam, 673, 674f, 675f
Glicogênio em, função do, 512, 513-514, 513f
Hepatócitos em, 843f, 844
Injúria de, características da, 469, 469t
Metabolismo de aminoácidos em, 857-858
Durante jejum, 764-766, 765f, 766f
Metabolismo em, 842-861
Mudanças no, fluxograma de, 679t
Na eliminação da amônia do corpo, 850, 850t
Na formação de corpos cetônicos, 850
Na glicogenólise, 513, 513f
Na glicólise, 556, 557f
Na gliconeogênese, 556, 557f
Na glicose da dieta, destino de, no estado alimentado, 570, 571f
Na inativação e destoxificação de compostos xenobiótico e metabólitos, 846-849, 846t, 847f, 848f
Na oxidação de ácido graxo de cadeia média, 854-855
Na produção de corpos cetônicos, durante jejum, mecanismos que afetam, 673-674, 675t, 676
Na regulação da citrato-liase, no estado alimentado, 670, 671f
Na regulação da enzima málica, no estado alimentado, 670, 671f
Na regulação da fosfofrutoquinase-1, no estado alimentado, 669f, 670
Na regulação da fosfofrutoquinase-2, 868
Na regulação da glicemia, 849
Na regulação da glicogênio-sintase, no estado alimentado, 670, 670f
Na regulação da glicoquinase, no estado alimentado, 669-670, 669f
Na regulação da glicose-6-fosfato-desidrogenase, no estado alimentado, 670, 671f
Na regulação da piruvato-carboxilase, no estado alimentado, 670, 670f
Na regulação da piruvato-quinase, no estado alimentado, 669f, 670
Na regulação do complexo ácido graxo sintase, no estado alimentado, 672
Na síntese de glicogênio, 669-672, 669f-672f
Na síntese de glicoproteína, 851-852, 852f
Na síntese de proteínas do sangue, 851, 851t
Na síntese de proteoglicanos, 851-852
Na síntese de triacilglicerol, 604, 604f, 669-672, 669f-672f
Na síntese e exportação de colesterol e triacilglicerol, 849
Na via da pentose-fosfato, 852
Nas células de Kupffer, 844
Nas células estrelares, 844
No metabolismo da glicose, 559
No metabolismo de carboidratos, 853, 853t
Regulação de, 678f
No metabolismo de lipídeos, 854-857, 855t, 856f
Efeitos do metabolismo de etanol sobre, 464, 465f
Regulação de, 678f
No metabolismo do glicogênio, regulação de, 517-522
PPAR em, 855-856, 855t
Regulação da acetil-CoA-carboxilase em, no estado alimentado, 671-672, 671f, 672f
Substratos energéticos para, 852-858, 853t, 854f, 855t, 856f
Tipos de células em, 843-845, 843f
Transporte de nitrogênio de aminoácidos para,
Alanina em, 702-703, 703f
Glutamina em, 702-703, 703f, 704f
Utilização de aminoácidos em, 773-774
Xenobióticos metabolizados como ácidos graxos em, 856, 856f
FIGLU. *Ver* Formiminoglutamato (FIGLU)
Filamentos de actina, do citoesqueleto, 179-180, 179f
Filamentos intermediários, do citoesqueleto, 180, 180f, 181t
Filoquinona, estrutura de, 835f

Fitas-mãe de DNA, desenrolamento de, na replicação de DNA, 224, 224f
Flavina mononucleotídeo (FMN), a partir de riboflavina, 384, 384f
Flavina-adenina dinucleotídeo (FAD)
Na diidrolipoil-desidrogenase, no ciclo do TCA, 368
No ciclo do TCA, 364-365, 364f, 365f, 368
Flavonóide(s), contra a toxicidade do oxigênio, 453, 453f
Flavoproteína(s), na fosforilação oxidativa, 384-385, 385f
Fluido corporal, manutenção do, entre tecidos e o sangue, 828
Fluido que reveste o pulmão, proteção contra ozônio no, 455-456, 455f
FMN. *Ver* Flavina mononucleotídeo (FMN)
Folato
Deficiências de, 14t
Alcoolismo crônico e, 733
Defeitos do tubo neural devido a, 744
E síntese de DNA, 744-745
FIGLU devido a, 736
Fontes de, 14t
Síntese de, 734-735, 734f
Tetraidrofolato a partir de, 733, 734f
Fondaparinux
Ação de, mecanismo de, 840f
Estrutura de, 839, 840f
Formil-metionina, tRNA bacteriano que contém, 265f
Formiminoglutamato (FIGLU), deficiência de folato e, 736
Forquilha de replicação, 222, 223f
Síntese de DNA na, 225-226, 225f
Fosfatase(s), proteína, regulação de, 520
Fosfatidilcolina, 64, 64f, 159, 160f
Componentes de, 610, 610f
No líquido amniótico, 615, 615f
Síntese de, 609-610, 610f
Fosfatidiletanolamina, 159
Síntese de, 609-610, 610f
Fosfatidilinositol, 194, 194f
Fosfatidilinositol, síntese de, 610, 611f
Fosfatidilinositol-bisfosfato, 159, 161f
Fosfatidilinositol-fosfatos, na transdução de sinal, 194, 194f
Fosfatidilserina, 159
Síntese de, 609-610, 610f
Fosfato(s)
Fosfatidilinositol, na transdução de sinal, 194, 194f
Triose, conversão de glicose em, 402, 403f
Fosfoacilglicerol(óis), 64, 64f
Fosfodiesterase, 488
Inibição de, metilxantina na, 489
Fosfoenolpiruvato
A partir de piruvato, 562-563, 563f, 564f
Na regulação da gliconeogênese, 566-567
Frutose-1,6-bisfosfato a partir de, 563-564, 565f
Ligações de lata energia em, 350f
Fosfoenolpiruvato-carboxiquinase (PEPCK), na gliconeogênese, 562, 564f, 566, 567
Fosfoéster(es), 56f
Formação de, 58f
Fosfofrutoquinase-1 (PFK-1), 402
Descrição, 412
Inibição de, alostérica, no sítio do citrato, 412
Na regulação da glicólise, 410f, 411-412, 411f
Regulação de
Alostérica
AMP e, 411, 411f
ATP em, 411, 411f
Frutose-2,6-bisP em, 411-412, 411f
No fígado, no estado alimentado, 669, 670
Fosfofrutoquinase-2 (PFK-2), regulação da, no fígado, 868
Fosfoglucomutase, 344
Fosfolipase(s), quebra de ligação por, 612-613, 613f
Fosfolipídeo(s)
Glicerol em, síntese de, 608-612, 609f-612f
Em membrana celular de mamíferos, 160f
Fosforilação
Da glicogênio sintase, 520
Direcionada por glucagon, inibição da glicogênio sintase por, 520
Enzimas reguladas por, 520
No nível do substrato, oxidação e, 403f, 404
Fosforilação dirigida por glucagon, inibição da glicogênio sintase por, 520
Fosforilação no nível do substrato, oxidação e, 403f, 404
Fosforilação oxidativa, 380-389, 380f
ATP-sintase em, 383-384, 384f
Bombeamento de prótons em, 387, 387f
Citocromos em, 386, 386f
Cobre em, 386
CoQ em, 385-386, 385f
Desacopladores químicos de, 391-392, 392f
Descrição, 380
Doenças da OXPHOS devido a, 389-390, 389t
Doenças genéticas de, 390
Escape de próton em, e taxa metabólica de repouso, 393
Flavoproteínas em, 384-385, 385f
Função mitocondrial e, 380-398
Gradiente de potencial eletroquímico em, 383, 383f
Inibição da cadeia respiratória em, 388-389
Liberação de energia livre de, 387-388
Succinato-desidrogenase em, 384-385, 385f
Transferência de elétrons em, de NADH a O2, 382-383
Transferência de energia a partir de substratos energéticos através de, 351-354, 352f, 353f, 353t
Transferência seqüêncial em, 388-389
Transporte através das membranas mitocondriais, 393-395, 394f, 395f. *Ver também* Membranas mitocondriais, transporte através
Transporte de elétrons em
Acoplamento de, 390-393, 391f-393f
Desacoplamento da síntese de ATP de, 391-393, 392f, 393f
UCP em, termogênese e, 392, 393f
Visão geral de, 380f, 382-384, 383f, 384f
Fosforilação/desfosforilação, na regulação enzimática no fígado, 679t
Fragmento(s) de restrição, de DNA, estratégia para a obtenção de, 299-300, 299f, 299t, 300f
Fragmentos de Okazaki, 222, 225f, 228
Fruta(s), recomendações dietéticas de, 16, 17f
Frutose
Absorção de, transportadores de glicose na, 505, 506
Descrição, 527, 527f, 529
Estrutura de, 59f
Frutose-1-fosfato a partir de, 531, 854
Metabolismo de, 473, 474f, 529-530, 530f
Frutose-1-fosfato a partir de, 531, 854
Vias de, 527-541
Síntese de,
Na rota do poliol, 530-531, 530f
Vias de, 527
Frutose-1,6-bisfosfato, 402
Frutose-1-fosfato
Conversão de frutose em, 531, 854
Metabolismo de frutose e, 854
Frutose-2,6-bisfosfato
Na regulação do colesterol, 676-677
Na regulação da PFK-1, 411-412, 411f
Frutose-6-fosfato, a partir de frutose-1,6-bisfosfato, 564
Na regulação da gliconeogênese, 567-568
Frutose-6-fosfato a partir de,
Na regulação da gliconeogênese, 564
A partir de fosfoenolpiruvato, 567-568
Frutosúria, 527
Fumarato
A partir de fenilalanina, 722
A partir de tirosina, 722
Aminoácidos a partir de, 721-722
Síntese de, 705, 706f
Função mitocondrial, fosforilação oxidativa e, 380-398. *Ver também* Fosforilação oxidativa

G

GABA. Ver Ácido gama-aminobutírico (GABA)
Galactose
Absorção de, transportadores de glicose na, 505f, 506
Metabolismo de, 473, 474f, 531-532, 531f
Para glicose-1-fosfato, 531-532, 531f
Rotas de, 527-541
Galactosemia clássica, 527
Galanina, efeitos sobre o metabolismo energético, 800t
Gânglio(s), basais, 440
Gânglios da base, 440
Gangliosídeo(s)
Deficiências enzimáticas em, 552, 552t
Estrutura de, 550f
Ganho de peso, gasto diário de energia e, 10-11, 11f
Gasto diário de energia (GDE), 7-11, 8t, 9t, 10f, 11f
Atividade física e, 8-9, 9t
Cálculo do, 9, 9t
Equação para, 8t
Perda e ganho de peso e, 10-11, 11f

Peso corporal saudável e, 9-10
Gastrina, efeitos sobre o metabolismo energético, 801t
GED. *Ver* Gasto energético diário (GED)
Gene ADA. *Ver* Gene adenosina desaminase (ADA)
Gene da adenosina desaminase (ADA), defeito do, 312
Gene da apoproteína-B, 588-589, 589f
Gene da fosfoenolpiruvato-carboxiquinase (PEPCK), região regulatória do, 290f
Gene da PEPCK. *Ver* Gene da fosfoenolpiruvato-carboxiquinase (PEPCK)
Gene de retinoblastoma (rb), na regulação do ciclo celular, 326, 326f
Gene do Fator V, mutação em, 836
Gene HexB, mutação do, doença de Sandhoff devido a, 553
Gene(s). *Ver também tipos específicos*, p. ex., Genes supressores de tumor
ADA, defeito de, 312
Apoproteína B, 588-589, 589f
Bacteriano, transcrição de, 243-244, 243f, 244f
Estrutural, 276
Eucariótico, transcrição e, 237
Expressão de. *Ver* Expressão gênica
HexB, mutação de, doença de Sandhoff devido a, 553
Para mRNA, regiões promotoras de, 241-243, 242f, 243f
PEPCK, 290f
Rearranjo de, troca de segmento de DNA e, 232-233, 233f, 234f
Reconhecimento de, na transcrição, 240-241
Regiões de, 237, 237f
Retinoblastoma, na regulação do ciclo celular, 326, 326f
Seqüências de, na transcrição, 239-240, 240f
Supressor de tumor. *Ver* Genes supressores de tumor
Gênero
Na oxidação de etanol, 463
Nas mortes por câncer, 333f
Genes bacterianos, transcrição de, 243-244, 234f, 244f
Genes estruturais, 276
Genes supressores de tumor, 317, 325-328, 325t, 326f-328f
Efeitos sobre células de adesão de, 328, 328f
Na regulação do ciclo celular, 326, 327, 326f, 327f
Gene de retinoblastoma, 326, 326f
Proteína p53, 326-327, 327f
Receptores efetados por, 327-328, 327f
Transdução de sinal afetada por, 327-328, 327f
Genoma humano, 215-216, 216f
Mapeamento de, 315
Genótipo, na oxidação de etanol, 463
Geração de ROS e, 440-443, 441f-444f, 442f
GHRH. *Ver* Hormônio liberador do hormônio do crescimento (GHRH)
GHRIH. *Ver* Hormônio inibidor da liberação do hormônio do crescimento (GHRIH)
Gibbs, energia livre de, 338, 341, 344, 348
Glicerofosfolipídeos
Degradação de, 612-613, 613f
Estrutura de, 595f
Metabolismo de, 608-613, 609f-614f
Tipos de, 608, 609f
Gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase, mecanismo de reação, 415-416, 415f
Glicerol(óis)
A partir de fontes de carbono, 561, 562f
Estrutura de, 6f
Fosfolipídeos que contêm, síntese de, 608-612, 609f-612f
Glicerolipídeo(s), éter, síntese de, 610-612, 612f
Glicina
Doenças genéticas associadas a, 730t
Incorporação em precursores de purina, 749, 750f
Metabolismo de, 716, 717f
Síntese de, 716-718, 717f, 881, 896
Glicoamilase, na digestão do amido, 497, 499f
Glicocálice, de membrana plasmática, 163
Glicocorticóide(s), 792-795, 793f, 794f, 794t
Ações fisiológicas não-metabólicas de, 793, 794t
Bioquímica de, 792
Descrição, 559
Efeitos de, 793, 795
Secreção de, 793, 793f, 794f, 794t
Glicogênio, 511-526
Composição de, 511
Conversão de glicose em, 25
Da dieta, armazenamento de, 7, 7f
Degradação de, 514-516, 514f-516f. *Ver também* Glicogenólise
Glicemia e,
No músculo esquelético, regulação de, 522-524, 523f
Regulação de, 516-524
Enzimas hepáticas em, 679t
Descrição, 511
Estrutura de, 5f, 511f, 513
Formação de, 511
Função de
No fígado, 512, 513-514, 513f
No músculo esquelético, 513-514, 513f
Glicólise anaeróbica a partir de, durante exercício, 873-874, 873f, 874f
Glicose sangüínea a partir de, 475, 475f, 511-512
Metabolismo de
Enzimas no, conceitos de nomenclatura de, 518, 518f
No fígado,
Insulina em, 520
Regulação de, 517-522
Adrenalina na, 521-522, 522f
Cálcio na, 521-522, 522f
Fosforilação ativada por glucagon na, 519-520, 519f
Glucagon na, 518-519, 519f
Inibição da glicogênio sintase na, 520
Insulina na, 518-519
Proteína-fosfatases, 520
Síntese de, 512, 514-516, 514f-516f
Energética de, 347, 347f
Glicemia e, 521
Intermediários ativados na, 348, 349f
No fígado, 669-672, 669-672f
No músculo esquelético, regulação da, 522-524, 523f
Regulação de, 516-524
Enzimas hepáticas na, 679t
No fígado, 517-522
Glicogênio-fosforilase
Ativação de, glucacon na, 519-520, 519f
Formas ativa e inativa de, conversão de, 518f
Na glicogenólise, 511
Glicogênio-fosforilase muscular, 147-148, 147f
Glicogênio-sintase
Formas ativa e inativa de, conversão de, 518f
Inibição de, 520
Regulação de, no fígado, no estado alimentado, 670, 670f
Glicogenólise, 30, 556
Estimulação de, no estado de jejum, 571-572, 572f
Glicogênio-fosforilase em, 511
No fígado, 513, 513f
No músculo esquelético, 513, 513f
Glicolipídeo(s), 549-551, 550f, 551f
Estrutura de, 549, 550f, 551f, 596f
Função de, 549
Síntese de, 542-555, 551
Formação de açúcares para, 546-548, 546t, 547f, 548f
Nucleotídeo-açúcares em, 475, 475f
Glicólise, 399-417, 805
Aeróbica, *vs*. anaeróbica, produção de energia da, 406-407
Anaeróbica, 354, 354f, 399, 400f, 406-408, 406f, 407t, 408f. *Ver* Glicólise anaeróbica
A partir de glicogênio, durante exercício, 873-874, 873f, 874f
Durante exercício
De alta intensidade, 874-875
Em fibra glicolítica de contração rápida do tipo IIB, 872
Lactato em, 408, 408t
No início do exercício, 872
Produção de ácido na, 407
Tecidos dependentes de, 407, 407t
Vs. aeróbica, produção de energia da, 406-407
Descrição, 399, 401
2,3-BPG em, 408-409, 409f
Em células musculares, 866, 868, 868f
Enzimas de, regulação das, 567t
Funções biossintéticas de, 408-409, 409f
Funções de, 408-409, 409f
Intermediário de
Aminoácidos a partir de, 712, 713f, 716-718, 716f, 717f, 719f
Conversão de ribose-5-fosfato em, 533-536, 534f-536f
Geração de ribose-5-fosfato a partir de, 536
Lançadeira do glicerol-3-fosfato em, 405, 405f
Lançadeira malato-aspartato em, 405-406, 406f
No fígado, 556, 557f
Oxidação de NADH em, 404-406, 405f

Oxidação de piruvato em, 404
Reações de, 401-404, 402f, 403f
Regulação de
ADP na, 409-412, 410f, 411f
AMP na, 409-412, 410f, 411f
ATP na, 409-412, 410f, 411f
Durante jejum, 673, 675f
Hexoquinases na, 410f, 411
PFK-1 na, 410f, 411-412, 411f
Piruvato-quinase na, 412
Visão geral de, 399, 400f
Gliconeogênese, 30
Definição, 556
Descrição, 559
Estimulação da, no estado de jejum, 572-573, 573f
Intermediários da, a partir de fontes de carbono, formação de, 561, 562f
Na manutenção dos níveis de glicose sangüínea, 556-578
No fígado, 556, 557f
Precursores para, 560-561
Reações-chave da, 559-560, 560f
Regulação da, 564-568, 566f, 567t, 568f
Disponibilidade de substrato na, 565
Durante jejum, 673, 675f
Enzimas na, 565-566, 566f, 567t
Rota da, 562-564, 563f-565f
Seqüências na, regulação da, 565, 566f, 567t
Glicoproteína(s), 548-549, 548f-550f
Estrutura de, 548, 548f
Função de, 548
Ramificadas, 548f
Síntese de, 542-555, 548-549, 549f, 550f
Fígado na, 851-852, 852f
Formação de açúcares para, 546-548, 546t, 547f, 548f
Nucleotídeo-açúcares na, 475, 475f
Glicoquinase
Reação catalisada por, 116-117, 117f
Regulação de, no fígado, no estado alimentado, 669-670, 669f
Sítio de ligação de glicose em, 118, 118f
Glicosaminoglicano(s)
Funções de, 913t
Unidos a proteínas, 912, 914f
Glicose
Acetil-CoA citosólico a partir de, na síntese de ácidos graxos, 597-598, 597f, 598f
Aminoácidos e porções glicerol e ácido graxo de triacilgliceróis a partir de, 474, 474f
Após a refeição, 25-26, 26f
Armazenamento de, insulina no, 477, 478f
ATP a partir de, 399-417. *Ver também* Glicólise
Como precursor da síntese de açúcares, 473
Como precursor de compostos não-glicídicos, 473
Conversão em glicose-6-fosfato, 401-402, 402f
Conversão em triose-fosfatos, 402, 403f
Da dieta
Como substrato energético, 853-854, 854f
No fígado, 401
No fígado, destino de, no estado alimentado, 570, 571f
Nos tecidos periféricos, destino de, no estado alimentado, 570-571, 571f
Estrutura de, 5f
Homeostasia da, 475
Lactato ou CO2 a partir de, 473-474, 474f
Lactose a partir de, 545, 546f
Ligação a hexoquinase, mudança conformacional resultante da, 119f
Metabolismo da, 25-26, 26f
No fígado, 559
Rotas de, 475, 476f
Na homeostasia metabólica, 479
Na regulação da gliconeogênese, 568
Na regulação da insulina, 473
No metabolismo, 473
Nos tecidos, 545, 546f
Reciclagem de, 577, 577f
Sangue. *Ver* Glicose sangüínea
A partir de glicogênio, 475, 475f
Glicogênio como fonte de, 511-512
Manutenção de, 30
Síntese de, energia para, 568
Transporte de
Absorção de frutose através, 505f, 506
Absorção de galactose através, 505f, 506
Através da barreira hematencefálica, 506-507, 507f, 885
Através de CVS, 506
Facilitado, 503-504, 504f, 505t
Sódio-dependente, 504, 505f
UDP-galactose a partir de, 564
A partir de glicose-6-fosfato, 568
Utilização de, 339, 339f
Utilização pelo músculo de, regulação da, durante jejum, 676
Valores de Km para, 141, 142f
Glicose sangüínea
A partir do glicogênio, 475, 475f, 511-512
Após a refeição, mudanças na, 568-575, 568f, 569t, 570f-575f
Como substrato energético, 875-876
Degradação da, regulação da, enzimas hepáticas na, 679t
Durante o exercício, 575
Durante o jejum, 569t, 571-573, 572f, 573f
Prolongado, 573-574, 575f
Fontes de, 574-575, 575f
No estado alimentado,556, 558f
No estado de inanição, 556, 558f
No estado de jejum, 556, 558f
Manutenção da, 30, 556-578
Na síntese e degradação do glicogênio, 521
No estado alimentado, 569-571, 570f, 571f
Regulação da
Fígado na, 849
No fígado, mecanismos afetando, 673, 674f, 675f
Retorno aos níveis de jejum, no estado alimentado, 571
Síntese de, regulação da, enzimas hepáticas na, 679t
Glicose-1-fosfato, metabolismo da galactose para, 531-532, 531f
Glicose-6-fosfatase, 512
Glicose-6-fosfato, 399
Conversão de glicose em, 401-402, 402f
Destino de, 473-475, 474f, 475f
Estrutura de, 58f
Glicose a partir de, 564
Na regulação da gliconeogênese, 568
Metabolismo de, 401-402, 402f
Oxidação de, 473-474, 474f
Pela via da pentose-fosfato, 474, 474f
Rotas metabólicas de, 473, 473f
UDP-glicose a partir de, 475, 475f
Glicose-6-fosfato desidrogenase, regulação da, no fígado, no estado alimentado, 679, 671f
Glicose-oxidase, estrutura da, 68f
Glicosidase(s), borda em escova, formas de, 497, 498t
Glicosídeo(s), 62-63, 62f
Síntese de, 542-555
Glicosilação, de proteínas, 85, 86f
Glicosiltransferase(s), 135, 543f
Glucagon
Descrição, 783
Efeitos contra-regulatórios de, 785
Efeitos fisiológicos de, 785-786
Efeitos sobre o metabolismo energético, 800t
Homeostasia metabólica de, 480-483, 481f, 482f, 482t
Liberação de,
Reguladores de, 486t
Rotas reguladas por, 476, 476f
Na ativação da glicogênio fosforilase, 519-520, 519f
Na regulação do metabolismo do glicogênio hepático, 518-519, 519f
Na regulação do metabolismo energético, 477-492, 783, 784t
Ações fisiológicas de, 481, 482t
Locais de, 480, 481f
Na síntese de AMPc, 153
No metabolismo da glicose, 476, 476f
Resposta celular a, 478, 478f
Secreção de, 485-486, 486f, 486t
Síntese de, 485-486, 486f, 486t
Locais de, 483, 484f
Transdução de sinal por, 488-489
Glucuronato, formação de, 544f
Glucuronídeo(s), formação de, 544-545, 545f, 545t
Glutamato, 79
Na produção de uréia, 702, 703f
No metabolismo de nitrogênio de aminoácidos, 702, 702f, 703f
Síntese de, 895, 896f
E vias anapleróticas da piruvato-carboxilase e metilmalonil-CoA-mutase, 899
Usos de glutamato, 720, 720f
Glutamato-descarboxilase, 895
Glutamato-desidrogenase, 699-701, 701f
Reação catalisada por, 699-700, 701f
Glutamina
A partir de aminoácidos de cadeia ramificada, 770-771, 772f
Aminoácidos relacionados através de, 720, 720f
Como substrato energéticos para o rim, 769, 769f, 769t

Degradação de, 720, 720f
Funções de, 767, 767t
Metabolismo de, no cérebro, 774-775, 774f
No tamponamento da urina, 767-769, 767f, 768f, 768t
No transporte de nitrogênio de aminoácidos para o fígado, 702-703, 703f, 704f
Produção de, 720
Síntese de, 720, 720f
Glutationa, precursores e funções da, 850t
Glutationa-peroxidase, contra a toxicidade do oxigênio, 450, 450f, 451f
Glutationa-redutase, contra a toxicidade do oxigênio, 450, 450f, 451f
Gordura(s)
Conteúdo calórico de, 5t
Da dieta, 5, 6f
Armazenamento de, 7, 7f
Digestão de, 24
Destino de, 22
Marrom, para a termogênese sem tremores, 392, 393f
Na dieta americana típica, 584
Recomendações dietéticas para, 16-17, 17f
Gota, 748
Causas de, 757
Gráficos de Lineweaver-Burk, 154, 155f
Granulócito(s), 807
Grão(s), recomendações dietéticas de, 16, 17f
Grelina, efeitos sobre o metabolismo energético, 800t
GRP. *Ver* Peptídeo liberador de gastrina (GRP)
Grupamentos funcionais, 55-57, 56f-58f
Carga carregada por, 56-57, 57f, 58f
Grupos carbono-enxofre, 56, 56f
Grupos carbono-nitrogênio, 56, 56f
Grupos carbono-oxigênio, 56, 56f
Grupos oxidados, 56, 56f
Grupos reduzidos, 56, 56f
Grupo acetila
Do acetil-CoA, 361, 361f
No ciclo do TCA, 361, 361f, 362, 362f
Grupo fenil aromático, estrutura de, 55f
Grupo isopentenil alifático, estrutura do, 55f
Grupo sulfidrila, 56f
Grupos carbono-enxôfre, 56, 56f
Grupos carbono-nitrogênio, 56, 56f
Grupos carbono-oxigênio, 56, 56f
Grupos de um carbono. *Ver também Pool* de um carbono
Fontes de, carregados por FH4, 735-736, 735t, 736f
Oxidação e redução de, 735, 736f
Recipientes de, 737-738, 737f
Grupos sangüíneos ABO, característica dos, 552, 552t
GTP. *Ver* Guanosina-trifosfato (GTP)
Guanina, no DNA, 209, 209f
Guanosina-monofosfato (GMP)
Cíclica (cGMP), estrutura da, 202f
Fosforilação de, 750
Síntese de, 750, 751f
Guanosina-trifosfato (GTP), geração de, no ciclo do TCA, 362f, 363

H

HDL. Ver Lipoproteína(s) de alta densidade
Hélice de DNA, replicação, 222f
Hematopoiese, 817-821, 818f, 820f
Citocinas e, 819, 820f
Heme
Degradação de, 812-813, 814f, 815f
Descrição, 810
Estrutura de, 104f
Função de, 810
Ligação de oxigênio e, 103, 104f
Precursores e funções de, 850t
Síntese de, 805, 810-811, 811f-813f
Regulação da, 811f, 812
Heme A, em citocromos, 386, 386f
Hemoglobina
Componentes de, 111
Curvas de saturação de oxigênio para, 103f
Em CVS, bicarbonato e, 48-49, 49f
Estrutura tetramérica de, 102-103, 103f
Fetal, persistência hereditária de. Ver Persistência hereditária de hemoglobina fetal (HPFH)
Glicosilação não-enzimática de, 109, 110f
Ligação do oxigênio em, cooperatividade da, 105-106, 105f
Relação estrutura-função em, 102-106, 102f-105f
Hemoglobina fetal, persistência hereditária de, 822
Hemoglobinopatia(s), 821
Hemólise, espécies reativas de oxigênio na, 537, 537f
Hemostasia, plaquetas na, 782
Heparina
Complicações de, 839
Efeitos adversos de, 839
Hepatite alcoólica, acetaldeído e, 466, 467f
Hepatócito(s), no fígado, 843f, 844
Hexoquinase(s)
Isoenzimas de, 153
Ligação de glicose a, mudança conformacional resultante da, 119f
Na regulação da glicólise, 410f, 411
Hexosaminidase A
Deficiência de, na doença de Tay-Sachs, 553, 553f
Especificidade de substratos de, 553, 553f
Hexosaminidase B, especificidade de substratos de, 553, 553f
Via da hexose-monofosfato (via da HMP). *Ver* Via da pentose-fosfato
Hidrocortisona, bioquímica da, 792
Hidrolase(s), 135
Lisossomais, 169, 169f
Hidrólise
De intermediário acil-quimotripsina, 123
Definição, 120
Hidrólise da trifosfato de adenosina (ATP), 391
Hidroxilase(s), 134
Hiperamonemia, 775
Hipercolesterolemia, familiar, 312
Hiperglicemia, complicações da, 480
Hipermetioninemia, 729
Hiperomocisteinemia, 743, 743f
Hiperplasia adrenal congênita (HAC), 647
Hipertensão portal, cirrose hepática e, 851
Hipertireoidismo, 396
Hiperuricemia, metabolismo do etanol e, 465f, 466
Hipoglicemia
Estresse e, 487
Metabolismo do etanol e, 465f, 466
Hipótese do seqüestro de metil, 742
Hipoxantina, 133f, 260
Hipoxantina-guanina-fosforribosiltransferase (HGPRT), 747
Histamina, síntese de, 893, 894f
Histidina
Curva de titulação de, 80f
Degradação de, 721, 722f
Liberação de aminoácidos através de, 721
História de ingestão de álcool, na oxidação de etanol, 463
HMG-CoA-redutase, degradação proteolítica da, na síntese de colesterol, 624f, 625
HMWK. *Ver* Cininogênio de alto peso molecular (HMWK)
hnRNA, junções de *splice* em, 247, 247f
HOCl. *Ver* Ácido hipocloroso (HOCl)
Hogness *box*, 241
Hogness-Goldberg *box*, 241
Homeostasia
Definição, 806
Metabólica, 478-480, 479f
Hormônios de, 480-483, 481f, 482f, 482t
Homocisteína, 719, 732
Homocistina, 719
Homocistinúria, 729
Hormônio do crescimento, 787-789, 787f-790f, 789t
Bioquímica de, 787-788, 787f
Efeitos hepático de, 790-791, 790f
Efeitos musculares de, 790
Efeitos sobre o metabolismo energético, 789, 789f
Efeitos sobre o tecido adiposo, 790
No tratamento e prevenção de doenças, 311, 311f
Secreção de, controle da, 788-789, 788f, 789t
Hormônio inibidor da liberação de hormônio do crescimento (GHRIH), 786-787. *Ver também* Somatostatina
Estrutura de, 788f
Hormônio liberador de hormônio do crescimento (GHRH), estrutura do, 788f
Hormônio liberador de tireotrofina (TRH), efeitos sobre o metabolismo de substratos energéticos de, 801t
Hormônio(s) da tireóide, 795-799, 795f-797f
Bioquímica de, 795-799, 795f, 796f
Efeitos calorigênicos de, 798-799
Efeitos fisiológicos de, 797-798
Efeitos hepáticos de, 798
Efeitos musculares de, 798
Efeitos pancreáticos de, 798
Efeitos sobre o adipócito de, 798
Estrutura de, 191f

Secreção de, 797, 797f
Síntese de, 795-796, 796f
Hormônio(s) esteróide(s), 643-648, 645f-647f. *Ver também hormônios específicos*, p. ex., Cortisol
A partir de colesterol, 620
Precursores de, 643
Síntese de, 645f
Hormônio(s). *Ver também tipos específicos*, p. ex., Hormônio(s) esteróide(s)
Contra-regulatórios da insulina
Na regulação do metabolismo energético, ações fisiológicas de, 482t, 487
Tipos de, 481, 482f, 483
Esteróide. *Ver* Hormônio(s) esteróide(s)
Estresse, 479, 479f
Gastrintestinais, efeitos sobre o metabolismo energético, 477-492, 799, 800t-801t
Homeostasia metabólica de, 480-484, 481f, 482f, 482t
Interação de receptor intracelular de, 489
Ligação à membrana plasmática de, 487-489
Lipofílico, 481, 482f, 483
Mecanismos de, 486-490, 489f
Na mediação do fluxo de aminoácidos durante sepse, 778f, 779
Na regulação do metabolismo energético, 477-492, 783-804, 799, 800t-801t. *Ver também hormônios específicos*, p. ex., Insulina
Secreção de, contra-regulatória, 801
Tireóide. *Ver* Hormônio da tireóide
Transdução de sinal por, 487-489
Hormônios contra-regulatórios da insulina
Na regulação do metabolismo energético, ações fisiológicas de, 481, 482t
Tipos de, 481, 482f, 483
Hormônios de estresse, 479, 479f
Hormônios gastrintestinais, efeitos sobre o metabolismo energético, 799, 800t-801t
Hormônios lipofílicos, 190
HPFH. *Ver* Persistência hereditária de hemoglobina fetal (HPFH)
HTLV-1, 334

I

Ibuprofeno, ação do, 660f
ICC. *Ver* Insuficiência cardíaca congestiva (ICC)
Icterícia, descrição, 459
IDDM. *Ver* Diabetes melito insulino-dependente (IDDM)
IDL. *Ver* Lipoproteína(s), de densidade intermediária
IDR. *Ver* Ingestão diária de referência (IDR)
IGF. *Ver* Fatores de crescimento tipo-insulina (IGF)
Ilhas-GC, 282
IMC. *Ver* Índice de massa corporal (IMC)
IMP. *Ver* Inosina-monofosfato (IMP)
Importação nuclear, 173, 174f
Impressões digitais de DNA, 297, 308
Imunoglobulina(s)
Afinidade de ligação forte de, 106
Classes de, 106, 108f
Estrutura de, 107f
Relações estrutura-função em, 106, 107f, 108f
Inanição, 30. *Ver também* Jejum
Glicemia em, 573-574, 575f
Utilização de substratos energéticos em, 871-873
Índice de massa corporal (IMC), cálculo do, 9-10
Indução/repressão, na regulação de enzima hepáticas, 679f
Indutor(es), na regulação da expressão gênica procariótica, 277, 277f, 278f
Infarto do miocárdio, causa de, 865
Infecção, balanço nitrogenado negativo durante, 776-777, 776f
Inflamação
Definição, 665-666
Descrição, 665-666
Formação de radiais livres durante, 447-448, 448f
Mediadores químicos de, 666
RNOS e, 448
Ingesta adequada (IA), 11
Ingestão diária de referência (IDR), 19-20
Inibição
Acompetitiva, 144
Competitiva, 143-144, 143f
De produto simples, 144
Não-competitiva, 144, 144f
Reversível, no sítio ativo, 143-144, 143f, 144f
Inibição da cadeia respiratória, na fosforilação oxidativa, 388-389
Inibição não-competitiva, 144, 144f
Inibição por *feedback*, 836
Inibição simples por produto, em rotas metabólicas, 144
Inibidore(s)
Covalente, 130, 131f
Mecanismo baseado em, 115, 130-133, 131f-133f
Inibidores alostéricos, 145-146, 146f
Inibidores covalentes, 130, 131f
Injúria intestinal, devido a deficiência secundária de lactase, 501-502
Inosina-monofosfato (IMP), 747
AMP a partir de, 750, 751f
Estrutura de, 750f
GMP a partir de, 750, 751f
Inserção(ões), 262, 262t
Insulina
Clivagem da proinsulina em, 483, 484f
Composição de, 101
Descrição, 84, 479, 479f, 783
Efeitos fisiológicos de, 785
Efeitos regulatórios de, 525
Estrutura de, primária, variações de espécie em, 84, 85f
Fatores neurais que controlam, 801
Forma ativa de, composição da, 483, 484f
Hipersecreção autônoma de, 483
Homeostasia metabólica de, 480-483, 481f, 482f, 482t
Liberação de
Em resposta a refeição hiperprotéica, 486, 486f
Estimulação e inibição de, 484-485, 484f, 485t
Reguladores de, 485t
Na prevenção e tratamento de doenças, 311, 311f
Na regulação do metabolismo do glicogênio hepático, 518-519
Na regulação do metabolismo energético, 477-492, 783, 784t
Ações fisiológicas de, 481, 482t
Locais de, 480, 481f
Na síntese protéica, 265, 491
No armazenamento de glicose, 477, 478f
No metabolismo da glicose, 476, 476f
No metabolismo de glicogênio, no fígado, 520
Regulação de, glicose na, 473
Respostas celulares a, 490-491
Secreção de, 483, 484f
Síntese de, 483, 484f
Locais de, 483, 484f
Transdução de sinal por, 487-488
Síntese de, 749, 749f, 750f
Insuficiência cardíaca congestiva (ICC), 357
Integrina(s), na matriz extracelular, 915-916
Interações proteína-proteína
Mudanças conformacionais a partir de, 148-150, 149f, 150f
Na modulação da atividade enzimática, 138
Interferon(s), β, recombinante, na prevenção e tratamento de doenças, 311
Interleucina(s), na prevenção e tratamento de doenças, 311
Intermediário acil-enzima, formação de, 121-123
Intermediário acil-quimotripsina, hidrólise do, 123
Intermediários do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), 374-375, 374f-376f
Aminoácidos a partir de, 712, 713f
Degradação de, 375, 376f
Aminoácidos relacionados a, 718, 720-725, 720f-724f
Efluxo de, 374, 374f
Regulação de, 371
Rotas biossintéticas e, 374, 374f
Intestino
Metabolismo de aminoácidos em, 772, 773f
Utilização de aminoácidos em, 772-773, 773f
Intolerância à lactose, 494, 501-502, 502t
Causas de, 501
Definição, 501
Intolerância hereditária à frutose, 527
Íntron(s), no mRNA, remoção de, 247-248, 247f
Íon(s)
Amônio, urinário, 50
Fosfato, 50
Metálico, em catálise, 129, 129f
Nos fluidos corporais, distribuição de, 44, 44t
Ionóforo(s), próton
Da fosforilação oxidativa, 391-392, 392f
Desacopladores químicos de, 391-392, 392f
Ionóforos de prótons, da fosforilação oxidativa, 391-392, 392f

Ionóforos de prótons, desacopladores químicos da, 391-392, 392f
Íons amônio
  Amônia a partir de, formação de, 699, 701f
  Dissociação de, pK_2 para, 51
  Urinário, 50
Íons fosfato, 50
Íons hidrogênio, urinários, 50
Íons metálicos, na catálise, 129, 129f
IRMA. *Ver* Ensaios imunorradiométricos (IRMA)
Isocitrato, no ciclo do TCA
  Formação de, 362f, 363, 365f
  Oxidação de, 362f, 363, 365f
Isocitrato-desidrogenase, regulação da, alostérica, no ciclo do TCA, 371, 371f
Isoenzima(s)
  Hexoquinase, valores de K_m para glicose, 141, 142f
  Teciduais, de proteínas regulatórias, 152
Isoenzimas da hexoquinase, valores de K_m para glicose, 141, 142f
Isoenzimas teciduais, de proteínas regulatórias, 152
Isoleucina
  Acetil-CoA a partir de, 725f, 728
  Acetoacetato a partir de, 725f, 728
  Succinil-CoA a partir de, 723f, 724-725, 724f
Isomerase(s), 136, 136f
  Na via da pentose-fosfato, 533, 534f
Isopreno(s)
  Ativado, a partir de mevalonato, na síntese de colesterol, 625, 626f
  Seis ativados de 5 carbonos, esqualeno de 30 carbonos a partir de, na síntese de colesterol, 625, 627f
Isoprostano(s)
  Geração de, 663, 664f
  Síntese de, 663, 664

J

Jejum, 30-38
  Excreção de nitrogênio durante, 707, 707f
  Fígado durante, 31-32
  Fontes de glicose sangüínea durante, 556, 558f
  Função do ciclo da uréia durante, 707-708, 707f, 708f
  Glicólise durante, regulação da, 673, 675f
  Gliconeogênese durante, regulação da, 673, 675f
  Liberação de aminoácidos do músculo esquelético durante, 764, 765f
  Metabolismo de aminoácidos no fígado durante, 764-766, 765f, 766f
  Metabolismo de aminoácidos nos tecidos durante, 765f, 766
  Metabolismo de triacilglicerol durante, 580, 581f
  Níveis de glicose sangüínea durante, 569t, 571-573, 572f, 573f
  Prolongado
    Alterações metabólicas durante, 33-35, 34f-36f, 34t, 35t
    Fígado durante, 33-35, 35f, 35t
    Glicemia em, 573-574, 575f
    Tecido adiposo durante, 35
  Regulação do metabolismo de carboidratos durante, 673-676, 674f-676f, 675t
  Regulação do metabolismo de lipídeos durante, 673-676, 674f-676f, 675t
  Tecido adiposo durante, 32-33, 33f
Jejum breve, alterações metabólicas durante, 32f, 33, 34t
Journal of Nucleic Acid Research, 89-90
Junção nervo-músculo, 865, 865f
Junção neuromuscular, 865, 865f
  Níveis de acetilcolina em, redução pela acetilcolinesterase A, 866

K

K_m
  De substrato enzimático, 140, 140f, 141, 141f
  Para glicose, 141, 142f
Kwashiorkor, 688

L

Lac óperon, produtos protéicos do, 277, 278f
Lactase
  Atividade de, 501
  Deficiência de,
    Injúria intestinal e, 501-502
    Tardia, prevalência de, 501, 502t
  Não-persistante, 501
  Persistente, 501
Lactase-glicosilceramidase, na digestão do amido, 498, 499f
Lactato
  A partir de fontes de carbono, 561, 562f
  Glicose a partir de, 473-474, 474f
  Liberação de, durante exercício, 875
  Na glicólise anaeróbica, 408, 408t
  Produção de, 767
    Locais teciduais de, 407, 407t
Lactato-desidrogenase (LDH), 408
Lactose, 5, 62, 62f
  Estrutura de, 493f
  Síntese de, 542-555
    A partir de glicose, 545, 546f
L-Alanina, estrutura da, 66f
Lâmina β, na estrutura secundária de proteínas, 95-96, 96f
Laminina
  Biossíntese de, 911
  Estrutura de, 911, 911f
  Na matriz extracelular, 911, 911f
L-Aminoácidos, estrutura de, 74f
Lançadeira do glicerol-3-fosfato, 399, 400f
  Na glicólise, 405, 405f
Lançadeira malato-aspartato, na glicólise, 405-406, 406f
L-Ascorbato, contra a toxicidade do oxigênio, 451, 452f
LDH. *Ver* Lactato-desidrogenase
LDL. *Ver* Lipoproteína(s), de baixa densidade
Leite, humano, composição de ácidos graxos do, 585
Leito capilar, na barreira hematencefálica, 884-885, 885f
LES. *Ver* Lúpus eritematoso sistêmico (LES)
L-Estereoespecificidade, 74
Leucemia(s), causas de, 818
Leucina
  Acetoacetato a partir de, 725f, 728
  Acetil-CoA a partir de, 725f, 728
Leucócito(s), 806
  Classificação de, 807-808
  Funções de, 807-808
  Mononuclear, 807-808
Leucotrieno(s)
  Formação de, 662f
  Funções de, 663t
  Síntese de, 662, 662f
L-Gliceraldeído
  Em proteínas, 74f
  Estrutura de, 59, 59f
Liase(s), 135
Ligação carbono-carbono, sintases na, 362
Ligação de oxigênio
  Agentes que afetam, 815-817, 816f, 817f
    Dióxido de carbono, 816-817, 817f
    2,3-bisfosfoglicerato, 815, 816f
    Prótons, 816, 816f, 817f
  Na hemoglobina, cooperatividade de, 105-106, 105f
Ligação de substrato, 115
  Modelo chave-fechadura para, 118, 118f
  Modelo de "encaixe induzido" para, 117f, 118-119, 119f
Ligação dissulfeto, 78f
Ligação peptídica, 75, 75f
  Formação de, 267
Ligação(ões)
  Carbono-carbono, sintases na, 362
  De alta energia, compostos com, 350, 350f
  Dissulfeto, 78f
  Dupla
    Cis, 64, 64f
      Em ácidos graxos, 64, 64f
    Trans, 64f
  Fosfato, de alta energia, do ATP, 343, 344f, 347-350, 347f348t, 349f, 350f
  Glicosídica
    N, 62, 62f
    O, 62, 62f
  Hidrofóbica, 77f
  Hidrogênio, 77f
    Na água, 43, 43f
  Peptídica, 75, 75f
  Polar, 57, 58f
  Polaridade de, 57, 58f
Ligações duplas
  Cis, 64, 64f
  Em ácidos graxos, 64, 64f
  Trans, 64f
Ligações duplas *cis*, 64, 64f
Ligações duplas *trans*, 64, 64f
Ligações hidrofóbicas, 77f
Ligações *N*-glicosídicas, 62, 62f
Ligações *O*-glicosídicas, 62, 62f
Ligações polares, 57, 58f
Ligase(s), 136
Linfócito(s), na SCID ligada ao X, 819
Linfoma de Burkitt, 320
Linoleato, oxidação de, 426, 427f

Lipase pancreática, na digestão de triacilglicerol, 585-586, 586f, 587f
Lipídeo(s), 63-66, 63f-65f. *Ver também tipos específicos*, p. ex., Ácidos graxos
Ácidos graxos, 63-64, 63f, 64f
Acilgliceróis, 64, 64f
Classes, 54
Da dieta
Absorção de, 586-587, 587f
Digestão e transporte de, 583-593
Transporte no sangue, 590, 590f
De membrana, síntese de, 595, 608-613
De mielina, síntese de, 900-901, 901t
Esfingolipídeos, 64-65, 65f
Esteróides, 65-66, 66f
Formação de, 444, 444f
Fosfoacilgliceróis, 64, 64f
Metabolismo de, 579-581, 579f-581f, 580t
Integração de, 668-681
Na doença hepática, 856-857
No fígado, 854-857, 855t, 856f
Efeitos do metabolismo de etanol sobre, 464, 465f
Regulação de, 678f
Regulação de,
Durante jejum, 673-676, 674f-676f, 675t
No estado alimentado, 669-672, 669f-673f
No fígado, 678f
Na membrana plasmática, 159-162, 161f
Reações de radical de oxigênio com, 444, 444f
Síntese de,
Em SNP, 899-902, 900f, 901t
No cérebro, 899-902, 900f, 901t
Tipos de, 579
Lipídeos da mielina, síntese de, 900-901, 901t
Lipoato
Função de, 368f
No complexo α-cetoglutarato-desidrogenase, 367-368, 368f
Lipofuscina, 444
Lipogênese, 594
Lipólise
Estimulação de, no estado de jejum, 573, 574f
No tecido adiposo, regulação de, durante jejum, mecanismos que afetam, 673, 676f
Lipoproteína de baixa densidade (LDL). Ver Lipoproteína(s), de baixa densidade, 710
Lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL), 579
Lipoproteína lipase, 579, 580t
Lipoproteína(s)
Acesso celular por, na endocitose mediada por receptor, 637-638, 637f
Características de, 631-632, 632t
De alta densidade, 580, 642
Colesterol em, 619-620
Destino de, 635-636
Interações com outras partículas, transporte de colesterol por, 636-637, 636f
Nascente, maturação de, 634
Síntese de, 632t, 634
Transporte de colesterol por, 632t, 634-637,m 635f, 636f
Transporte reverso, 634-635, 635f
Transporte reverso de colesterol por, 634-635, 635f
De baixa densidade, 579
Colesterol em, 619
Concentração de, determinação da, 621-622
Proteína relacionada ao receptor, 640
Receptores para, 638-640, 639f, 640f
Transporte de colesterol por, 632t, 633-634
De densidade intermediária
Colesterol em, 619
Transporte de colesterol por, 632t, 633-634
De densidade muito baixa
Colesterol em, 619
Composição de, 605, 605f
Destino de, no estado alimentado, mecanismos que afetam, 672
Processamento de, 605, 606f
Secreção de, 605, 606f
Síntese de, 605, 606f
A partir de glicose no fígado, 605, 606f
Transporte de colesterol por, 632-633, 632f, 633f
Descrição, 642
Do sangue, 580t
Estrutura de, 588f
Transporte de colesterol por, 631-637, 632t, 633f, 635f. *Ver também* Colesterol, transporte de
No estado alimentado, 26
Receptores para, 638-641, 639f, 640f
LDL, 638-640, 639f, 640f
LRP, 640
Scavenger de macrófagos, 640-641
Lipoxina(s)
Ações de, 663
Formação de, 662f
Síntese de, 662f, 663
Líquido amniótico
Esfingomielina em, 615, 615f
Fosfatidilcolina em, 615, 615f
Lise, celular, definição, 158
Lise celular, definição, 158
Lisina
Acetil-CoA a partir de, 725f, 728
Acetoacetato a partir de, 725f, 728
Lisossoma(s), 168-171, 169f-171f
Autofagia de, 170-171, 171f
Descrição, 168-169
Endocitose de, mediada por receptor, 169-170, 170f
Fagocitose de, 170-171, 171f
Formação de, 169
Locus da α-globina, estrutura e regulação transcricional de, 823-824
Locus da β-globina, estrutura e regulação transcricional de, 823-824
Lúpus eritematoso sistêmico (LES)
Descrição, 248, 254
Diagnóstico de, 248
Tratamento de, 254

M

Macrófago(s), 807-808
Malonil-CoA
A partir de acetil-CoA, na síntese de ácido graxo, 598, 598f, 599f
Inibição da CPT I por, 600, 602f
Matriz extracelular, 905-920
Colágeno na, 906-910, 906f-909f, 908t, 910t
Composição de, 906-915, 906f-911f, 908f, 910t, 913f-915f, 913t, 915t
Elastina na, 910-911, 910f
Integrinas, 915-916
Laminina na, 911, 911f
Metaloproteinases na, 916-917
Proteínas de adesão na, 916
Proteínas fibrosas na, 906-911, 906f-911f, 908t, 910t
Proteoglicanos na, 912-915, 913f-915f, 913t, 915t
Tropoelastina na, 910-911, 910f
Medidas antropométricas, 27-28
Megacariócito(s), 830
Meias-reações de oxirredução, potenciais de redução de, 353, 353t
Meio aquoso, estabilidade de proteínas globulares em, 99
Melanoma(s), causas de, 230
Membrana celular
Animal, estrutura da, 160f
De mamíferos, fosfolipídeos na, 160f
Membrana de células vermelhas sangüíneas (CVS), 813-815, 815f, 816f
Proteínas em, 162, 162f
Membrana plasmática, 157-157, 157f
Canais regulados em, 166, 166f
Colesterol em, 161, 161f
Difusão facilitada através de, pela ligação a proteínas transportadoras, 164-165, 165f
Difusão simples através de, 164, 164f
Estrutura de, 159-163, 160f-163f
Glicocálice de, 163
Lipídeos em, 159-162, 160f, 161f
Proteínas em, 162-163, 162f, 163f
Transporte de moléculas através de, 163-168, 164f-167f
Transporte vesicular através de, 168, 168f
Membranas mitocondriais
Internas, força motriz de próton através, 383, 383f
Transporte através, 393-395, 394f, 395f
Externa, 394-395, 395f
Interna, 393-394, 394f
Mensageiro(s) químico(s)
Ações de, classificações dos, 187-188, 187f
Características dos, 184, 184f, 185-187, 186f
Do sistema endócrino, 188
Do sistema imunológico, 188
Do sistema nervoso, 188, 188f
Sinalização celular por, 184-203
Tipos de, 188-190, 188f, 189f
MERFF. *Ver* Doença epiléptica mioclônica com fibras vermelhas rotas (MERFF)
Metabolismo
Células do SNC em, 782
Da célula muscular, 872

De componentes da dieta, rotas para, 1, 1f
De CVS, 781, 808-813, 809f-815f
De substratos energéticos, 1-2, 1f
Do nitrogênio, 683, 685, 683t-685t, 684f, 683f
Visão geral de, 684f, 685
Energético, efeitos do hormônio do crescimento sobre, 789, 789f
Fígado, 842-861
Mudanças em, fluxograma de, 679t
Glicose em, 473
Muscular, efeitos do treinamento sobre, efeitos metabólicos do, 878
No sistema nervoso, 881-904
Metabolismo energético, efeitos do hormônio do crescimento sobre, 789, 789f
Metabólito(s), xenobiótico, inativação e destoxificação de, 846-849, 846t, 847f, 848f
Metais pesados, toxicidade por, 132-133
Metaloproteinase(s), na matriz extracelular, 916-917
Metástase, definição, 206
Metilação, de DNA, na regulação eucariótica da transcrição, 282
Metilmalonil-CoA-mutase, via anaplerótica da, síntese de glutamato e, 899
Metilxantina(s)
Inibição da fosfodiesterase por, 488
Na inibição da fosfodiesterase, 489
Metionina, 76f, 77t, 78
Doenças genéticas associadas a, 730t
Succinil-CoA a partir de, 723, 723f
Método de Sanger, na identificação de seqüência de DNA, 302, 304f
Metotrexato, estrutura do, 738f, 739
Miastenia gravis, 186
Micelas(s)
De sais biliares, formação, 587
Na digestão, 583
Microfilamento(s), de citoesqueleto, 180
Microtúbulo(s), de citoesqueleto, 178-179, 178f
Mielina
Esclerose múltipla e, 902-903
Síntese de, 900-902, 900f, 901t
Mieloperoxidase, HOCl e, 447-448
Mineral(is)
Necessidades de, 15-16, 15t
Recomendações dietéticas de, 18
Mioclônus, 390
Mioglobina
Curvas de saturação de oxigênio para, 103f
Estrutura terciária de, 102f, 103
Relações estrutura-função em, 102-106, 102f-105f
Miosina-ATPase, diagrama de, 346, 346f
Mitocôndiras, 158, 171-172, 171f
Apoptose e, 396
Mecanismo oxidativo em, 338-339, 339f
Morte celular e, 381
Superóxido em, 450
Transporte de ácidos graxos de cadeia longa para, 423-424, 423f
Modelo de Michaelis-Menten de cinética enzimáica, 140
Modelo quimiosmótico, da síntese de ATP, 380-381, 380f
Modificação covalente
Mudanças conformacionais a partir de, 147-148, 147f, 148f
Na regulação da síntese de colesterol, 624f, 625
MODY (diabetes juvenil de início na maturidade), 483
Mol(es), 318
Molécula de DNA, tamanho da, 214
Molécula(s)
Composição de, 54
De bioquímica, definição, 55-57, 56f
De DNA, tamanho de, 214
De sinalização, 184-203. *Ver também* Mensageiros químicos
Transporte através da membrana plasmática, 163-168, 164f-167f
Moléculas bioquímicas, definição de, 55-57, 56f
Moléculas sinalizadoras, 184-203. *Ver também* mensageiros químicos
Molibdênio, na transferência de elétron da xantina oxidase para o oxigênio, 134
Monócito(s), 807-808
Monofosfato de adenosina (AMP)
Cíclico (AMPc)
Descrição, 488
Estrutura da, 148f
Sinal de transdução com, 488
Fosforilação da, 750
Na regulação da glicólise, 409-412, 410f, 411f
Na regulação da PFK-1, 411, 411f
Na regulação do colesterol, 676-677
Niveis de, mudanças em, 412
Síntese de, 750, 751f
Monofosfato de adenosina, cíclica (AMPc), síntese de
Na adrenalina, 153
No glucagon, 153
Monossacarídeo(s), 58-62, 59f-61f
Açúcares D, 59, 59f
Açúcares L, 59, 59f
Açúcares oxidados e reduzidos, 61-61, 61f
Açúcares substituídos, 59, 61, 61f
Epímeros, 59
Estereoisômeros, 59, 60f
Estruturas de anel, 59, 60f
Transporte de, para os tecidos, 506, 507f
Monoxigenases, citocromo P450, 355, 355f
Morte celular
Mitocôndria e, 381
Transporte ativo e, 357-358, 357f
Motilina, efeitos sobre o metabolismo energético de, 801t
Motivos de dedo de zinco, 287, 287f
Movimento de água, osmolalidade e, 44
MPTP. *Ver* Poro de transição de permeabilidade mitocondrial (MPTP)
mRNA da HMG-CoA-redutase, síntese do, velocidade da, 623-624, 624f
mRNA. *Ver* RNA mensageiro (mRNA)
MTP, ação. *Ver* Proteína microssomal de transferência de triglicerídios (MTP), ação
Mucina salivar, estrutura de, 548f
Mucolipidose II, 269
Mucopolissacaridose(s), defeitos enzimáticos nas, 915, 915t
Mudanças conformacionais
Regulação de proteína G através de, 149-150, 149f, 150f
Regulação enzimática através de, 145-151, 145f-150f
Clivagem proteolítica, 150-151
Enzimas alostéricas, 145-147, 145f, 146f
Interações proteína-proteína, 148-150, 149f, 150f
Modificação covalente, 147-148, 147f, 148f
Músculo cardíaco, 863f, 865
Utilização de combustíveis no, 868-869
Músculo esquelético
Em exercício, oxidação de substratos energéticos em, 26, 26f
Glicogênio em
Função de, 513-514, 513f
Síntese e degradação de, regulação da, 522-524, 523f
Glicogenólise em, 513, 513f
Liberação de aminoácidos a partir de, durante jejum, 764, 765f
Liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático em, Eventos que levam a, 865, 866f
Oxidação de aminoácidos de cadeia ramificada em, 770, 771f
Utilização de aminoácidos em, 770-772, 771f-773f
Utilização de substratos energéticos em, 869-875, 870f, 871f, 873f, 874f
ATP, 869-871, 870f, 871f
Cretina-fosfato, 869-871, 870f, 871f
Durante exercício, 872-875, 873f, 874f
Durante inanição, 871-873
Em repouso, 871
Músculo liso, 863f, 864-865
Músculo(s). *Ver também tipos específicos*, p. ex., Músculo esquelético
Cardíaco, 863f, 865
Utilização de substratos energéticos em, 868-869
Contração de, 866, 867f
Efeitos de hormônio da tireóide sobre, 798
Efeitos do hormônio do crescimento sobre, 790
Esquelético, *Ver* músculo esquelético, 863-864, 863f, 864t
Utilização de substratos energéticos em, 869-875, 870f, 871f, 873f, 874f
Glicogenólise em, adrenalina na estimulação da, 874, 874f
Liso, 863f, 864-865
Metabolismo
De glicose em, 26, 26f
Efeitos do treinamento sobre, 878
Em repouso e durante exercício, 862-880
Sinais neuronais para, 865-866, 865f-867f
Tipos de, 863-865, 863f, 864t
Utilização de ácidos graxos por, regulação da, durante jejum, 676
Utilização de glicose por, regulação da, durante jejum, 676

Mutação de ganho-de-função, em proto-oncogenes, 320, 321f
Mutação *frameshift*, 162, 262f
Mutação(ões)
  Anemia falciforme devido a, 307
  Dano ao DNA que leva a, 319-321, 319f, 321f
  Deleções, 262, 262t
  Em oncogenes, 321
  Em PLN, 879
  Em ponto, 262, 262t
  Exame de, em PCR, 308
  Frameshift, 262, 262f
  Ganho-de-função, em proto-oncogenes, 220, 221f
  Inserção, 262, 262t
  Missense, 262, 262t
  Na β-talassemia, 270, 270t
  Na tradução, 261-262, 262f, 262t
  Nas enzimas de reparo, 320-321
  No câncer, 332-333, 332f
  No gene de retinoblastoma, 326, 326f
  Nonsense, 262, 262t
  Silenciosa, 262, 262t
  Talassemias devido a, 253
  Tipos de, 262, 262t
Mutações em ponto, 262
Mutações *missense*, 262, 262t
Mutações *nonsense*, 262, 262t
Mutações silenciosas, 262, 262t
Mutágeno(s), dano ao DNA devido a, 230, 230f, 231f
Mutase(s), 136

N

N-Acetil-β-D-glucosamina 61f
N-Acetilglucosamina-6-fosfato, formação de, 548
N-Acetilglutamato (NAG), ativação alostérica da CPSI por, 706, 707f
NAD^+. *Ver* Nicotinamida-adenina dinucleotídio (NAD^+)
NADH-desidrogenase, na fosforilação oxidativa, 384, 385f
NADPH
  Em reações de oxirredução, 354
  Geração de, via da pentose-fosfato na, 537-538, 537f, 537t, 538t
  Oxidação de substratos energéticos e, 342
  Produção de, na fase oxidativa da via da pentose-fosfato, 532-533, 533f
NADPH-oxidase, 447, 448f
NAG. *Ver* N-Acetilglutamato (NAG)
Não-polares, aminoácidos alifáticos, 75-77, 76f, 77t
National Library of Medicine, 88
Neonato(s), níveis de glicose no plasma em, 517f
Nervo(s), 318
Neuroblastoma(s), amplificação *N-myc* em, 320
Neurofibromina (NF-1), 327, 327f
Neurônio(s), componentes do, 883, 883f
Neuropatia(s), metabólicas, 897-899, 898f
Neuropeptídeo Y, efeitos sobre o metabolismo de substratos energéticos do, 800t
Neurotensina (NT), efeitos sobre o metabolismo de substratos energéticos do, 800t
Neurotransmissor(es)
  Ação de, 887, 887f
  Catecolamina
    Inativação e degradação de, 890, 891f
    Síntese de, 888, 889f
  De aminoácidos, 896-897, 897f
  Nitrogenados, síntese de, 886-897
  Pequenos, 188, 188f
  Síntese de
    Acetilcolina, 893-895, 894f
    Adrenalina, 888-892, 889f-891f
    Características de, 886-888, 887f, 887t
    Dopamina, 888-892, 889f-891f
    GABA, 895-896
    Glutamato, 895, 896f
    Histamina, 893, 894f
    Noradrenalina, 888-892, 889f-891f
    Pool de aminoácidos e, 774
    Serotonina, 892-893, 892f
Neurotransmissores nitrogenados, síntese de, 886-897. *Ver também* Neurotransmissor(es)
Neutrófilo(s), 807
Niacina
  Deficiências de, 14t
  Fontes de, 14t
  Precursores e funções de, 850t
Nicotinamida-adenina dinucleotídeo (NAD^+)
  Destinos oxidativos de, 404-406, 405f
  No ciclo do TCA, 364-365, 364f, 365f
Nitrogênio
  Carga de, 54
  De aminoácido. *Ver* Aminoácido, nitrogênio de
    Remoção de, alanina na, 766-767
  Em compostos, 54, 66-67, 66f, 67f
  Em estruturas de anel, 66, 67f
  Excreção de, durante jejum, 707, 707f
  Fontes de, 683, 683f
  Metabolismo de, 683, 685, 683t-685t, 684f, 683f
    Visão geral, 684f, 685
Nitrogênio de aminoácido
  Aminoácido(s), metabolismo de, resumo de, 683, 683f
  Cadeias laterais de aminoácidos, grupos funcionais em, 124-125, 124t
  Como amônia, remoção de, 699-702, 701f
  Destinos de, 697-703
    Remoção de como amônia, 699-702, 701f
    Reações de transaminação, 699, 699f, 700f
  Metabolismo de, glutamato em, 702, 702f, 703f
  Remoção de, alanina em, 766-767
  Sistemas de transporte de aminoácidos, lista de, 691, 691t
  Transporte para o fígado
    Alanina em, 702-703, 703f
    Glutamina em, 702-703, 703f, 704f
Nitroglicerina, 445
Nitrosamina(s), em mutações de DNA, 319-320, 319f
Níveis de glicose sangüínea, durante o jejum, 31-32
Níveis de NADH, efeitos do alcoolismo sobre, no fígado, 606
Níveis hormonais, após refeição, mudanças nos, 24t
Nível de ingestão superior tolerável, 15
N-myc, amplificação de, em neuroblastomas, 320
Noradrenalina
  Ações de, 791-792
  Descrição, 791
  Efeitos fisiológicos de, 791-792
  Estrutura de, 188f, 489f
  Secreção de, 791
  Síntese de, 888-892, 889f-891f
  Transdução de sinal por, 489-490
Northern blot, na identificação de seqüência de DNA, 302, 303f
NSAID. *Ver* Drogas antiinflamatórias não-esteróides (NSAID)
Núcleo esteróide de quatro anéis, a partir do esqualeno, na síntese de colesterol, 626-627, 627f
Núcleo(s), 172-175, 172f, 173t, 174f
Nucleofílico(s), 125
Nucleosídeo(s), 67
  Estrutura de, 209, 210f
Nucleotídeo(s), 67
  Bases e, 209, 209t
  Em DNA e RNA, 207
  Estrutura de, 209, 210f
  Pirimídicos, síntese de, 754-757, 754f-756f, 755t
  Púricos, síntese *de novo* de, 749-752, 749f-752f
Nucleotídeo(s) de purina, síntese *de novo* de, 749-752, 749f-752f
Nucleotídeo-açúcares
  Interconversões que envolvem, 543-548, 543f-548f, 545t, 546t
  Na síntese de proteoglicanos, glicoproteínas e glicolipídeos, 475, 475f
  Utilização de, 542
Nucleotídeos de pirimidina
  Conversões em nucleotídeos, reações de recuperação para, 755, 755t
  Síntese de, 754-757, 754f-756f, 755t
    Regulação de, 757
    Via *de novo* em, 754-755
Nutrição parenteral total, deficiências de ácidos graxos essenciais devido a, 656
Nutriente(s), na regulação da expressão gênica, 279

O

Odor de acetona na, 559
Oleato, estrutura de, 6f
Olestra
  Descrição, 589
  Estrutura de, 589f
Oligodendrócito(s), 884
Oligossacarídeo(s), 62-63, 62f, 85, 86f
Oncogene(s), 317, 321-324, 322t, 323f-325f
  Cascatas de transdução de sinal em, 322-324, 323f
  Ciclo celular e, 324, 324f, 325f

Classes de, 322t
Descrição, 319
Fator de crescimento, 322
Mecanismo de ativação de, 322t
Mutações em, 321
Receptor de fator de crescimento, 322
Tumores associados a, 322t
Óperon(s)
Bacteriano, 242, 242f
Induzível, 277f
Lac, produtos protéicos de, 277, 278f
Procariótico, regulação de, 276, 276f, 277f
Repressível, 277, 278f
Organela(s), 158
Ornitina, origem da, 706, 706f
Ornitina-aminotransferase, reação da, 706, 706f
Ornitina-transcarbamilase, deficiência de, 757
Orotato-monofosfato, 747
Osmolalidade, e movimento de água, 44
Osteogenesis imperfecta, 919
Oxalato, 718
Oxaloacetato
Aminoácidos relacionados com, 721, 722f
Oxidação de succinato a, no ciclo do TCA, 362f, 363-364
Oxidação
De ácido fitânico, 430, 430f
De ácidos graxos, 418-431. *Ver também* Ácidos graxos, oxidação de
De aminoácidos de cadeia ramificada, em músculo esquelético, 770-771f
De corpos cetônicos, 433, 433f
De glicose-6-fosfato, 473-474, 474f
Pela via da pentose-fosfato, 474, 474f
De isocitrato, 362f, 363, 365f
De linoleato, 426, 427f
De substratos energéticos. *Ver* Substratos energéticos, oxidação
De succinato a oxaloacetato, no ciclo do TCA, 362f, 363-364
Definição, 351
Do etanol, energia produzida de, 463-464
Fosforilação no nível do substrato e, 403f, 404
Síntese de lipídeos cerebrais e, 899-900
Xenobióticos metabolizados por, no fígado, 856, 856f
Oxidação de ácido graxo de cadeia média, no fígado, 854-855
Oxidação de substratos energéticos, 30
Energia a partir de, 341-342, 351-354, 352f-354f, 353t
Geração de ATP e, 337-339, 337f-339f
Geração de NADPH a partir de, 342
Oxidação peroxissomal, de ácidos graxos, 429-430, 429f, 430f
Oxidase(s), 134, 443
Não-envolvidas na geração de ATP, 354-355, 354f, 355f
Óxido nítrico
A partir de arginina, 896-897, 897f
RNOS e, 445-447, 446f
Toxicidade de, 446-447, 446f
Efeitos diretos, 446
Óxido nítrico sintase, 445-446, 446f
Oxigenase(s), 134, 443
Não-envolvidas na geração de ATP, 354-355, 354f, 355f
Oxigênio
Catalase contra, 450, 450f
Como um birradical, 439, 439f
Natureza radical de, 441, 441f
Redução de
Cobre e, na fosforilação oxidativa, 386
Por quatro etapas de um-elétron, 441, 441f
Toxicidade de
Ácido ascórbico contra, 451, 452f
Antioxidantes endógenos contra, 453, 453f
Antioxidantes não-enzimáticos contra, 450-453, 451f-453f
Carotenóides contra, 451-452, 452f
Dano por radicais livres devido a, 439-457
Defesas celulares contra, 448-453, 449f-455f
Enzimas antioxidantes contra, 449-450, 449f-451f
Flavonóides contra, 453, 453f
Glutationa-peroxidase contra, 450, 450f, 451f
Glutationa-redutase contra, 450, 450f, 451f
Quercetina contra, 453, 453f
Scavengers de radicais livres contra, 450-453, 451f-453f
SOD contra, 449, 449f
Vitamina E contra, 451, 451f
Tranferência de elétron da xantina oxidase para, molibdênio na, 134
Oxirredutase(s), 134
Ozônio, no fluido de revestimento pulmonar, proteção contra, 455-456, 455f

P

Pacientes comatosos, na cetoacidose diabética, odor de acetona em, 559
Palmitato, estrutura de, 6f
Pâncreas
Efeitos do hormônio da tireóide sobre, 798
Endócrino
Síntese de glucagon em, 483
Síntese de insulina em, 483
Enzimas de, na digestão de proteínas, 689-690, 689f
Papel de nitrocelulose, na identificação de seqüência de DNA, 301-302, 302f
Par de base uracil-adenina, no RNA, 216, 217f
Pareamento de base, conceito de, 210-212, 211f, 212f
Parede arterial, camadas de, 641, 641f
PCR, *Ver* Reação em cadeia da polimerase (PCR)
PDC. *Ver* Complexo da piruvato-desidrogenase (PDC)
Penicilina, estágios intermediários de reação semelhantes a, 131, 132f
PEPCK. *Ver* Fosfoenolpiruvato-carboxiquinase (PEPCK)
Peptídeo de ativação da adenilato-ciclase da pituitária, efeitos sobre o metabolismo de substratos energéticos do, 800t
Peptídeo intestinal vasoativo, efeitos sobre o metabolismo de substratos energéticos do, 800t
Peptídeo liberador de gastrina (GRP), efeitos sobre o metabolismo energético, 800t
Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), efeito sobre o metabolismo de, 800t substratos energéticos do
Peptídeo tipo-glucagon 1, efeitos sobre o metabolismo energético, 800t
Peptídeo tipo-glucagon 2, efeitos sobre o metabolismo energético, 800t
Peptídeo YY, efeitos no metabolismo energético do, 801t
Peptídeo(s), reações de radicais de oxigênio com, 445
Perda de peso, gasto diário de energia e, 10-11, 11f
Peroxidação lipídica, 445f
Peroxidase(s), 443
Peroxissoma(s), 172, 172f
Persistência hereditária de hemoglobina fetal (HPFH), 822
Formas por deleção de, 822
Formas sem deleção de, 822
Peso
Consumo de alimentos e, 10-11, 11f
Ideal, 9-10
Medida antropométrica de, 28
Referência-padrão para, 10, 10f
Saudável, gasto diário de energia e, 9-10
Peso corporal. Ver peso
PFK-1. *Ver* Fosfofrutoquinase-1 (PFK-1)
pH
Da água, 41
Definição, 44
Desnaturação protéica por, 109
Intracelular, 49
Manutenção de, 41, 42f
Temperatura e, ótima, 129-130, 130f
Urinário, tamponamento de íons em, 50
pH intracelular, 49
pH urinário, tamponamento de íon em, 50
Pirâmide alimentar, 17f
Piridina(s), 66-67, 67f
Piridoxal-fosfato, 125-126, 127f
Na degradação de aminoácidos, 712
No metabolismo de aminoácidos, 715-716, 716f
Piridoxina. *Ver* Vitamina(s), B6
Pirimidina(s), 66-67, 67f
Descrição, 748
Funções de, 850t
Metabolismo de, 747-761
Doenças gênicas em, 760t
No DNA, 209, 209f
Precursores de, 850t
Piruvato
Destinos oxidativos de, 404-406, 405f
Fosfoenolpiruvato a partir de, 562-563, 563f, 564f
Na regulação da gliconeogênese, 566-567
Oxidação de, 407
Piruvato-carboxilase
Como enzima anaplerótica, 375, 375f

Regulação de, no fígado, no estado alimentado, 760, 670f
Rota anaplerótica de, síntese de glutamato e, 899
Piruvato-desidrogenase, regulação da,
Glicólise e, 412
No fígado, no estado alimentado, 670, 670f
Piruvato-quinase, 404
Na regulação da glicólise, 412
Regulação de, no fígado, no estado alimentado, 669f, 670
Pit cells, no fígado, 845
Placa, aterosclerótica
Evolução de, 642, 643f
Níveis de colesterol e, 620
Plaqueta(s)
Ativação de, 830-832, 830f, 831f
Derivação de, 830
Descrição, 318
Na formação do tampão hemostático, 830
Na homeostasia, 782
Plasma
Definição, 827
Proteínas em, na defesa imunológica, 829
Plasmalogênio
Estrutura de, 595f
Síntese de, 610, 612, 612f
PLN. *Ver* Proteína fosfolamban (PLN)
Polimerase(s)
DNA. *Ver* DNA polimerases
RNA. *Ver* RNA polimerases
Polimorfismo(s)
Definição, 297
Descrição, 81, 306
Detecção de, 307-310, 308f, 309f
Sondas de oligonucleotídeos alelo-específicos em, 307
DNA, no diagnóstico de doenças, 306
DNA repetitivo e, detecção de, 308-310, 308f, 309f
Na estrutura de proteínas, 81-82
Polimorfismos de tamanho de fragmentos de restrição (RFLP), 307
Polinucleossoma(s), 215-216, 215f
Polinucleotídeo(s), estrutura de, 207f
Polipeptídeo, elongação de, na tradução, etapas na, 258
Polipeptídeo inibitório gástrico (GIP)/polipeptídeo insulinotrópico glicose-dependente, efeitos sobre o metabolismo energético, 800t
Polipeptídeo pancreático, efeitos no metabolismo energético do, 801t
Polissacarídeo(s), 62-63, 62f
Polissoma(s), 268, 268f
Pontes de hidrogênio, 77f
Na água, 43, 43f
Pool de um carbono. *Ver também* Grupos de um carbono
Descrição, 732
Visão geral, 732, 732f
Porfiria(s), 805
Porfirinogêneo(s), 810-811, 811f
Porfobilinogênio, 812f
Poro de transição de permeabilidade mitocondrial (MPTP), 395, 395f
Potencial de redução, 353, 353t
Potencial eletroquímico, gradiente de, na fosforilação oxidativa, 383, 383f
PPAR. *Ver* Receptores ativados de proliferação de peroxissomas (PPAR)
Prenilação, de proteínas, 85, 86f
Primers de RNA, função de, 225, 225f
Príon(s), 112-113, 112f
Problemas de "final de replicação", em cromossomos lineares, 229, 229f
Procariótos(s)
DNA em,
Síntese de, 223-226, 223f-226f, 224t. *Ver também* Replicação, procariótica
Tamanho de, 251-253, 252f, 253t
Eucariótos *vs*., 244, 253t
Expressão gênica em,
Ligação de RNA-polimerase em, regulação de
Estimulação de, 278-279, 279f
Fatores sigma em, 279-280
Regulação de, 274, 276-281, 276f-280f
Atenuação da transcrição em, 280-281, 280f
Co-repressores em, 277, 278f
Indutores em, 277, 177f, 278f
Ligação de RNA-polimerase em, 276-278, 277f, 278f
Nutrientes em, 279
Óperons em, 276, 276f
Promotores em, 242f
Tradução de, inibição da, 265, 265t
Processo de *splicing*, 247f
Produtos nitrogenados de excreção urinária, 683, 683t
Produtos protéicos, mRNA e, relações entre, 261, 261f
Progesterona, síntese de, 645f, 648
Proinsulina
Clivagem a insulina, 483, 484f
Medidas de, 485
Projeto Genoma Humano, 315
Prolina
Degradação de, 721, 721f
Síntese de, 720-721, 721f
Promotor do gene de gama-globina, 825, 825f
Promotor(es), eucariótico, reguladores múltiplos de, 289-290, 289f
Promotores de tumor, carcinógenos químicos e, 235
Propionil-CoA
A partir de ácidos graxos de cadeia ímpar, 426, 427f
Conversão em succinil-CoA, 426, 428f
Proprionato, a partir de fontes de carbonos, 561
Prostaciclina, estrutura de, 189f
Prostaglandina(s)
Biossíntese de, 659-661, 659f, 660g, 660t
Estrutura de, 657, 657f, 658f
Formação de, 659, 659f
Funções de, 659, 660t
Inativação de, 661
Receptores de, 664t
Síntese de, 657, 657f, 658f
Substituintes do anel de, 658f
Protease(s), 687
Digestiva, ação de, 689, 689f
Serina, na coagulação sangüínea, 121
Proteassoma(s), 687, 693, 693f
Proteína de ativação de clivagem de SREBP (SCAP), 624
Proteína de proteolipídeo, 900f, 901-902
Proteína do receptor "remendado" (*patched*), 327-328
Proteína fosfolamban (PLN), 879
Mutações em, 879
Proteína fosforilada, 147f
Proteína lisossomal, *turnover* de, 692
Proteína microssomal de transferência de triglicerídeos (MTP) ação da, modelo de, 592, 592f
Proteína p53, na regulação do ciclo celular, 326-327, 327f
Proteína transferidora de éster de colesterol (CETP), função da, 636, 636f
Proteína(s)
Acilação de, 85, 86f
Aminoácidos em, 72-91. *Ver também* Aminoácidos, em proteínas
Básica da mielina, 900f, 901-902
C, 836
Cap, 693, 693f
Codificada no núcleo, importação de, 378, 378f
Conteúdo calórico de, 5t
Da coagulação sangüínea, 832, 833t
Da dieta, 5, 6f, 12-13, 13t, 17, 17f
Armazenamento de, 7, 7f
Digestão de, 24
Nitrogênio a partir de, 683, 683f
De adesão, na matriz extracelular, 916
De choque térmico, no enovelamento, 108-109, 108f
De desacoplamento, termogênese e, 392, 393f
De membrana de eritrócito, 814
De receptor "remendado" (*patched*), 327-328
De transdução de sinal, 323, 323f
De transporte de glicose, isoformas GLUT 1-GLUT 5 de, propriedades de, 504, 505t
Desnaturação de, 109, 110f
Destino de, 22
Digestão de, 24, 687-690, 688f, 689f
Descrição, 688, 688f
Enzimas de células intestinais em, 690
Enzimas pancreáticas em, 689-690, 689f
No estômago, 688f, 689
Direcionamento de, 258
Direcionamento para locais subcelulares e extracelulares, 268-269, 269f, 270f
Do plasma, 827-836. *Ver também* Proteínas do plasma
Do sangue, síntese de, no fígado, 851, 851t
Enovelamento de, 93, 258
Enovelamento errado de, 112-113, 112f
Estimulatória, repressão de catabólito de, 279f
Estrutura de, 6f
Banco de dados de, 88-90
Descrições de, 94, 94f
Flexibilidade em, 98
Isoformas tecido-específicas em, 83, 84f
Níveis de, 92, 92f
Polimorfismo em, 81-82

Primária, 92, 92f
Quaternária, 92f, 93, 101
Requerimentos de, 94
Secundária, 92, 92f, 95-97, 95f-97f
Hélice α em, 95, 95f
Lâmina β em, 95-96, 96f
Não-repetitiva, 96, 96f
Padrões de, 97, 97f
Terciária, 92-93, 92f, 97f, 98-101, 98f, 100f
Domínios em, 98, 98f
Tridimensional, carcterísticas de, 93-94, 94f
Variações desenvolvimentais em, 82f, 83
Estrutura quaternária de, 92f, 93, 101
Estrutural da mielina, 900f, 901-902
Família Bcl-2 de, integração de sinais pró e antiapoptóticos por, 330-331, 330t, 331f
Famílias de, 82, 82f
Fibrosa, na matriz extracelular, 906-911, 906f-911f, 908t, 910t
Formas de, 94, 94f
Fosforilada, 147f
Funções de, 72
Heterotrimérica, 197-198, 198f, 199t
Monomérica, na superfamília Ras, 173, 173t
Regulação de, mudanças conformacionais em, 149-150, 149f, 150f
Glicosilação de, 85, 86f
Globina humana, estrutura primária de, 82, 82f
Globular
Dobras em, 99
Solubilidade de, em meio aquoso, 99
Humana, complexa, na prevenção e tratamento de doenças, 311
Ligação de glicosaminoglicanos a, 912, 914f
Ligadas ao DNA, estrutura de, 286-288, 287f, 288f
Lisossomal, *turnover* de, 692
Modificação de, 258
Modificações pós-traducionais de, 268, 268t
Moduladora, família cálcio-calmodulina de, 148-149, 149f
Na membrana de CVS, 162, 162f
Na membrana plasmática, 162-163, 162f, 163f
Na replicação eucariótica, 227-228, 228t
p53, na regulação do ciclo celular, 326-327, 327f
Prenilação de, 85, 86f
Processamento de, 268
Proteolipídeo, 900f, 901-902
Reações de radical de oxigênio com, 445
Recomendações dietéticas de, 17, 17f
Regulatória
Isoenzimas teciduais de, 152
Na transcrição gênica, 284
Relações estrutura-função em, 92-114
Requerimentos de, 12-13, 13t
S, 836
SERCA, genes que codificam, 878
Síntese de, 258-273. *Ver também* Tradução
Efeitos da estreptomicina sobre, 265
Efeitos da tetraciclina sobre, 265
eIF2 em, 265
Energia requerida para, 267
Expressão gênica e, 205-336
Inibição de, antibióticos na, 271-272, 271t
Insulina em, 265, 491
Na regulação enzimática, 151
No retículo endoplasmático rugoso, 269, 269f, 270f
SNAP, 178
Superfamílias de, 82, 82f
Terapêutica, na prevenção e no tratamento de doenças, 311, 311f
Transmembrana, estrutura terciária de, 100-101, 100f
Transportadora. *Ver* Proteína transportadora
Cinética de saturação de, 165, 165f
Turnover de, reposição do *pool* de aminoácidos intracelular, 691-693, 692t
Proteína-fosfatase(s), regulação de, 520
Proteína-fosfatase-1
Hepática, regulação de, 520, 525
No músculo esquelético, regulação de, 525
Proteína-quinase A, 147f, 148, 148f
Proteínas básicas da mielina, 900f, 901-902
Proteínas bcl-2, integração de sinais pró e antiapoptóticos por, 330-331, 330t, 331f
Proteínas cap, 693, 693f
Proteínas da dieta
Armazenamento de, 7, 7f
Digestão de, 24
Nitrogênio a partir de, 683, 683f
Proteínas da membrana do eritrócito, 814
Proteínas de adesão, na matriz extracelular, 916
Proteínas de choque térmico, no enovelamento, 108-109, 108f
Proteínas de codificação nuclear, importação de, 378, 378f
Proteínas de transdução de sinal, 323, 323f
Proteínas de transporte de glicose, isoformas GLUT 1-GLUT 5 de, propriedades das, 504, 505t
Proteínas desacopladoras (UCP), termogênense e, 392, 393f
Proteínas do plasma, 827-836
Função de, 828-829, 829t
Na formação do tampão hemostático, 830-832, 830f, 831f
Na integridade do sistema circulatório, 829-838
Proteínas estruturais da mielina, 900f, 901-902
Proteínas fibrosas, na matriz extracelular, 906-911, 906f-911f, 908t, 910t
Proteínas G
Heterotrimérica, 197-198, 198f, 199t
Monomérica, na superfamília Ras, 173, 173t
Reglação de, mudanças conformacionais em, 149-150, 149f, 150f
Proteínas G heterotriméricas, subunidades de, 197-198. 198f, 199t
Proteínas G monoméricas, na superfamília Ras, 173, 173t
Proteínas globinas humanas, estrutura primária de, 82, 82f
Proteínas moduladoras, família cálcio-calmodulina de, 148-149, 149f
Proteínas regulatórias
Isoenzimas teciduais de, 152
Na transcrição gênica, 284
Proteínas sangüíneas, síntese de, fígado na, 851, 851t
Proteínas SERCA, genes que codificam, 878
Proteínas SNAP, 178
Proteínas transmembrana, estrutura terciária de, 100-101, 100f
Proteínas transportadoras
Cinética de saturação de, 165, 165f
Difusão facilitada através da membrana plasmática pela ligação de, 164-165, 165f
Proteoglicano(s), 61
Degradação de, 915, 915t
Condrócitos em, 917, 917f
Descrição, 475
Estrutura de, 912, 913t
Estrutura de "escova de garrafa" de, 914, 915f
Funções de, 912, 913t
Na matriz extracelular, 912-915, 913f-915f, 913t, 915t
Síntese de, 912-913, 913f, 914f
Condrócitos em, 917, 917f
Fígado em, 851-852
Nucleotídeos-açúcares em, 475, 475f
Próton(s)
Bombeamento de, na fosforilação oxidativa, 387, 387f
Efeitos sobre a ligação de oxigênio de, 816, 816f, 817f
Ligação de, 816, 816f, 817f
Proto-oncogene(s), 317
Cascatas de transdução de sinal e, 322-324, 323f
Liso, 327-328
Mutações de ganho-de-função em, 320, 321f
Proto-oncoproteína(s), 323, 324f
PRPP. *Ver* 5-Fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP)
PubMed, 88-90
Purina(s), 66-67, 67f
Biossíntese de, 749-753, 749f-754f
Regulação de, 750-752, 752f
Descrição, 748
Metabolismo de, 747-761
Doenças gênicas em, 760t
No DNA, 209, 209f
Precursores e funções de, 850t
Púrpura trombocitopênica trombótica, 832

Q

Quantidade, na oxidação de etanol, 463
Quercetina, contra a toxicidade do oxigênio, 453, 453f
Quilomícron(s)
Colesterol no, 619
Composição de, 589f
Descrição, 631-632, 632t
Destinos do, 590-591, 591f
No estado alimentado, mecanismos que afetam, 672

Formação do, 589f
Remanescente, 583
Secreção de, 589f
Síntese de, 587-590, 588f, 589f
Transferência de proteína da HDL para, 590f
Transporte de colesterol por, 631-632, 632t
Quimotripsina
Diagrama de energia na, 123, 124f
Intermediário acil-enzima na, formação de, 121-123
Ligação à, especificidade da, 121
Mecanismo catalítico da, 120-123, 121f, 122f
Reação catalisada pela, estratégias catalíticas na, 121-123
Quinase(s), 134-135, 192, 192f
Receptor serina/treonina, 196-197, 197f
Quinases de ligação, 192, 192f

R

Radiação ionizante, 443, 444f
Radicais de oxigênio, reações com componentes celulares, 444-445, 444f-446f
Radicais livres, 67-68
Dano por, acetaldeído e, 466-467, 467f
Formação de, durante fagocitose e inflamação, 447-448, 448f
Injúria por
Estados patológicos associados a, 439t
Toxicidade do oxigênio e, 439-457
Metabolismo de etanol e, 467, 467f
Radicais livres de lipídeos,
Formação de, 444, 444f
Reações de radical de oxigênio com, 444, 444f
Radicais livres derivados de oxigênio, dano ao DNA devido a, 445
Radical hidroxil, geração de, pela reações não-enzimáticas de Haber-Weiss e Fenton, 442f
Radical(is), definição, 439
Radioimunoensaio(s) (RIAs), 802
Curva-padrão para, 802, 803f
Ras, 150, 150f, 323, 323f
E rota da MAP-quinase, 193-194
Reguladores de, 327, 327f
RDA. *Ver* Recomendações dietéticas adequadas (RDA)
RE. *Ver* Retículo endoplasmático (RE)
Reação da fosfoglucomutase, 345, 345f
Na célula, reversibilidade de, 349-350
Reação da fosforribosiltransferase, 753, 753f
Reação da glicoquinase, velocidade da, 570, 571f
Reação da lactato-desidrogenase (LDH), 406, 406f
Reação da piruvato-carboxilase, 375, 375f
Reação de Haber-Weiss, 439, 442f
Reação em cadeia da polimerase (PCR)
Em exame de mutações, 308
Na amplificação de seqüência de DNA, 305-306, 306f
Reação(ões)
Endotérmica, 344-345, 345f, 345t
Energia livre durante, mudança na, 343-344
Exotérmica, 344-345, 345f, 345t
Reações anapleróticas
Ciclo do TCA e, 374-375, 375f, 376f
Intermediários do ciclo do TCA e, 374-375, 374f-376f
Reações de oxirredução, 351-352, 352f, 353f
Mudança de energia livre de, cálculo da, 353
NADPH em, 354
Reações de transaminação, 135, 135f
Nitrogênio de aminoácido de, 699, 699f, 700f
Reações de transferência de fosforil, ligações fosfato de alta energia do ATP e, 348, 348t
Reações endotérmicas, 344-345, 345f, 345t
Reações enzimáticas, 116-120
Complexo do estado de transição em, 119-120, 120f
Nas células, taxas de, 143
Sítio ativo de, 117-118, 117f
Sítios de ligação de, 118-119, 118f, 119f
Reações exotérmicas, 344-345, 345f, 345t
Reações multissubstratos, 142-143
Reações não-oxidativas, da via da pentose-fosfato, 533-536, 534f-536f
Reatividade, de compostos, 57, 58f
Receptor β_2-adrenérgico, 100, 100f
Receptor de acetilcolina nicotínico, sistema de mensageiro químico aplicado ao, características de, 186-187, 186f
Receptor de fator de crescimento epidérmico humano (HER2, c-erbB-2), gene para, 322
Receptor de hormônio esteróide/hormônio da tireóide, como fator de transcrição, 285-286, 286f, 287f
Receptor de insulina, 194-195, 195f
Receptor de morte celular 3 (DR3), 329
Receptor *scavenger* de macrófago, 640-641
Receptor serina/treonina-quinases, 196-197, 197f
Receptor TNF-1 (TNF-R1), 329
Receptore(s). *Ver também tipos específicos*
Transdução de sinal e, 184
Receptores ativados de proliferação de peroxissomas (PPAR), no fígado, 855-856, 855t
Receptores com domínio de morte celular, 201-202, 202f
Receptores de acetilcolina, na junção neuromuscular, 186f
Receptores de canais de íon, 192
Receptores de fator de crescimento, 322
Receptores de fatores de transcrição intracelulares, 190-191, 190f, 191f
Superfamília hormônios esteróide/hormônio da tireóide de, 190-191, 191f
Vs. receptores de membrana plasmática, 190, 190f
Receptores de guanilil-ciclase, 202, 202f
Receptores de hormônios esteróides, como fator de transcrição, 285-286, 286f, 287f
Receptores de membrana plasmática
Classes de, 192-193, 192f
Hormônios que se ligam a, transdução de sinal por, 487-489
Quinases, 192, 192f
Quinases ligadas, 192, 192f
Receptores de canal de íon, 192
Receptores de fatores de transcrição intracelulares *vs*., 190, 190f
Receptores heptaelicais, 193, 193f
Transdução de sinal e, 184, 192-200, 192f-198f, 199t, 200f
Receptores de rianodina, 865
Receptores hepta-helicoidais, 193, 193f
Sinalização de fosfaditilinositol por, 199, 200f
Transdução de sinal através, 197-199, 198f, 199t, 200f
Receptores intracelulares
Interações de hormônios com, transdução de sinal por, 489
Transdução de sinal por, 184
Receptores JAK/STAT, transdução de sinal por, 192f, 196, 196f
Receptores tirosina-quinase
Fosfatidilinositol-fosfatos, 194, 194f
Ras e, 193-194
Receptor de insulina, 194-195, 195f
Transdução de sinal através de, 192f-195f, 193-196
Via da MAP-quinase e, 193-194
Recombinação
Definição, 222
Entre seqüências de DNA homólogas, 232-233, 233f
Recomendações diárias, 3, 11-16. Ver também Dieta(s), Recomendações na,
Recomendações dietéticas adequadas (RDA), 11
De ferro, 811
Refeição hiperprotéica, efeitos sobre o metabolismo de aminoácidos, 775-776, 775f
Regulação por *feedback*, 152, 152f
Regulação por *feed-forward*, 152
Regulação térmica, água e, 43-44
Regulador de transductância transmembrana da fibrose cística (CFTR), 166, 166f
Relações estrutura-função
Em proteínas, 92-114
Na hemoglobina, 102-106, 102f-102f-105f
Na mioglobina, 102-106, 102f-105f
Nas imunoglobulinas, 106, 107f, 108f
Renal. *Ver* Rim
Repetições em série de número variável (VNTR), genes com, fragmentos de restrição produzidos a partir de, 308, 308, 309f
Replicação
Definição, 205, 205f
Eucariótica, 226-229, 226f, 227t, 228f, 228t, 229f
Ciclo celular e, 226-227, 226f
Complexo para, 227-229, 228f, 228t
Cromossomos em, 229, 229f
Pontos de origem em, 227, 228f
Proteína em, 227-228, 228t
Na síntese de DNA, 222, 222f
Procariótica, 223-226, 223f-226f, 224t
Bidirecional, 223, 223f
Desenrolamento de fitas-mãe em, 224, 224f
DNA-polimerase em, 224, 224t, 225f
Eliminação de erro de pareamento de bases em, 224-225, 224t
Primers de RNA em, função de, 225, 225f
Semiconservativa, 224

Repouso
Metabolismo muscular em, 862-880
Utilização de substratos energéticos no, em músculo esquelético, 871
Respiração
Celular, 337-338, 338f, 339f
Geração de ATP em, 4, 4f
Restrição de *spin*, 441
Retículo endoplasmático (RE), 175, 175f
Retículo endoplasmático rugoso (RER), 258
Síntese de proteínas no, 269, 269f, 270f
Retinoblastoma(s)
Esporádico, 326f
Familiar, 326f
Retinóide(s), estrutura de, 191f
Retrovírus, 219-220, 220f
Na prevenção e no tratamento de doenças, 312, 312f
RFLP. *Ver* Polimorfismos de tamanho de fragmentos de restrição (RFLPs)
RIA. *Ver* Radioimunoensaio(s) (RIA)
Riboflavina, 377
Deficiências de, 14t
FMN a partir de, 384, 384f
Fontes de, 14t
Ribonucleotídeo(s), 747
Ribose-5-fosfato
A partir de intermediários glicolíticos, 536
A partir do braço oxidativo da via da pentose-fosfato, 533
Conversão em intermediários glicolíticos, 533-536, 534f-536f
Ribossoma(s), 207
Procariótico *vs*. eucariótico, 217-218, 218f
Rifampicina, inibição da RNA-polimerase por, 239
Rim(ns)
Excreção de amônia por, 768, 768f
Substratos energéticos para, fontes de, 769, 769f, 769t
Utilização de aminoácidos em, 767-769, 767f-769f, 768t, 769t
RNA mensageiro (mRNA), 207
Cobertura de, 245, 246f
Estrutura de, 217
Eucariótico, 217, 217f
Estabilidade de, 291, 293
Síntese de, 244-248, 245f, 246f
Transporte de, 291, 293
Genes para, regiões promotoras para, 241-243, 242f, 243f
HMG-CoA-redutase, síntese de, velocidade de, 623-624, 624f
Moldura de leitura de, 261f
Produto protéico e, relações entre, 261, 261f
Síntese de, visão geral, 244-245, 245f
Transcrição de, 245, 246f
RNA polimerases
Ação de, 238, 239f
Ligação de
Estimulação de, 278-279, 279f
Regulação de, fatores sigma na, 279-280
Repressores em, 276-278, 277f, 278f
Seqüências genéticas para, 239-240, 240f
Na produção de mRNA, 241-243, 242f, 243f
Reconhecimento gênico por, 240-242
Tipos de, 239-243, 239t, 240f-243f
RNA transportador (tRNA), 207
Eucariótico, síntese de, 249-251, 249f, 250f
Estrutura de, 218, 219f
RNA. *Ver* Ácido ribonucléico (RNA)
RNAs ribossomais (rRNA), 207
Estrutura de, 217-218, 218f
Eucariótico, síntese de, 248-249, 248f, 249f
RNOS. *Ver* Espécies reativas de nitrogênio e oxigênio (RNOS)
ROS. *Ver* Espécies reativas de oxigênio (ROS)
Rota da cicloxigenase, na síntese de eicosanóides, 657-661, 657f-660f, 660t
Rota da JAK/STAT, citocina que sinaliza através da, 819, 820f
Rota da lipoxigenase, na síntese de eicosanóides, 661-663, 661f, 662f, 663t
Rota da MAP-quinase
Na regulação da apoptose, 331
Ras e, 193-194
Rota da ubiquitina-proteassoma, 693, 693f
Rota de eliminação de resíduos, 1
Rota de sinalização receptor de insulina/proteína quinase B, 195-196, 195f
Rota do poliol, 527
Síntese de frutose em, 530-531, 530f
Rota glicolítica, 404
Fases de, 401-402, 402f
Regulação de, locais de, 409, 410f
Rotas anabólicas, 1
Glicólise anaeróbica, ver também glicólise, anaeróbica
Rotas biossintéticas, 1
Rotas catabólicas, 1
Rotas de armazenamento de substratos energéticos, 1
Rotas de recuperação de purina, 772f, 877
Rotas de sinalização intracelular, 1
Rotas metabólicas
Enzimas alostéricas em, 146-147
Inibição simples por produto em, 144
Regulação de, 151-153, 152f
Canalização de substrato pela compartimentalização, 153
Complexidade de, 153
Contra-regulação de rotas opostas, 153
Passo limitante em, 151-152, 152f
Princípios de, 151, 152f
Regulação por *feedback*, 152, 152f
Regulação por *feed-forward*, 152
Rotas oxidativas, 4
Rotas oxidativas de substratos energéticos, 1
rRNA. *Ver* RNA ribossomal (rRNA)

S

Sacarose, 5
Componentes de, 495
Estrutura de, 493f
S-Adenosilmetionina (SAM), 732-733, 741-742, 741f
Tetraidrofolato (FH4), e vitamina B12, relações entre, 742-744, 742f, 743f
Sais biliares
Conjugação de, 629, 630f
Definição, 629
Destinos de, 629-631, 630f, 631f
Estruturas de, 585f, 631f
Fontes de, 620
Metabolismo de, visão geral de,629-631, 630f
Na digestão de triacilglicerol, 585, 585f, 586f
Na síntese de colesterol, 628-629, 628f, 629f
Reciclagem de, 587f
Síntese de, conversão de colesterol a ácido cólico e ácido quenocólico em, 628-629, 628f, 629f
Salicilato(s)
Ação de, 660f
Metabolismo de, 856, 856f
SAM. *Ver* S-Adenosilmetionina (SAM)
Sangue
Ácidos em, 46t
Células de. *Ver* Células sangüíneas
Medidas de metabólitos em, uso clínico de, 37
Pool de aminoácidos livres em, manutenção de,763-767, 764f-766f, 767t
Tecidos e, manutenção de fluidos corporais entre, 828
Transporte de lipídeos da dieta em, 590, 590f
SCAP (proteína de ativação de clivagem de SREBP), 624
Scavengers de radicais livres, contra a toxicidade do oxigênio, 450-453, 452f-453f
SCID. *Ver* Doença de imunodeficiência combinada severa (SCID)
Secreção de hormônios contra-regulatórios, 801
Secretina, efeitos sobre o metabolismo energético sobre, 801t
Seis isoprenos de 5 carbonos ativados, esqualeno de 30 carbonos a partir de, na síntese de colesterol, 625, 627f
Selenocisteína, 87, 87f
Estrutura de, 87f
Sepse
Fluxo de aminoácidos durante, mediação do, citocinas e hormônios na, 778f, 779
Fluxo de aminoácidos em, 762, 762f
Serina, síntese de, 716, 717f
Serina-proteases, na coagulação sangüínea, 121
Serotonina, síntese de, 881, 892-893, 892f
Serpina(s), 836-837
Sinal de poliadenilação, 246, 246f
Sinal(is), mudanças em resposta a, 199-200
Sinalização celular, mensageiros químicos na, 184-203. *Ver também* Mensageiros químicos
Sinalização de fosfatidilinositol, por receptores hepta-helicoidais, 199, 200f
Sinalização do receptor de insulina, 195f
Síndorme de Zellweger, 429
Síndrome de Bernard-Soulier, 831
Síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS)
Causada por vírus, produção de, 254-256, 255f
Tratamento da, 256
Tuberculose na, 239
Síndrome de Lesch-Nyhan, 747, 753, 759
Síndrome de Reye, 856
Síndrome do X-frágil, 283

Sintase(s), 135
Na ligação carbono-carbono, 362
Síntese de trifosfato de adenosina (ATP)
Acoplamento do transporte de elétrons e, na fosforilação oxidativa, 390-393, 391f-393f
Desacoplamento da, a partir do transporte de elétrons, 391-393, 392f, 393f
Mecanismo de mudança de ligação para, 384f
Sintetase(s), 136
Sistema circulatório, proteínas plasmáticas no, papel das, 829-838
Sistema de membranas citoplasmáticas, 158
Sistema endócrino, mensageiros químicos do, 188
Sistema hematológico, funções do, 781-782
Sistema imunológico, mensageiros químicos do, 188
Sistema linfático, descrição, 583
Sistema microssomal de oxidação de etanol (MEOS), 151
Na oxidação de etanol, 461-463, 462f
CYP2E1, 462
Enzimas P450, 462-463, 462f
Reação catalisada por, 460, 460f
Sistema nervoso
Células de, 881
Astrócitos, 883-884
Células de Schwann, 884
Células ependimais, 884
Células microgliais, 884
Neuróglia, 883-884
Neurônios, 883, 883f
Oligodentrócitos, 884
Tipos de, 882-884, 883f
Mensageiros químicos de, 188, 188f
Metabolismo em, 881-904
Sistema nervoso central (SNC)
Células do, metabolismo pelas, 782
Células neurogliais no, 883-884
Sistema nervoso periférico (SNP)
Composição de, 883
Síntese de lipídeos em, 899-902, 900f, 901t
Sistema tampão bicarbonato, 48, 48f
Equação de Henderson-Halsselbalch para, 48
Sistemas de mensageiros químicos, características de, relacionado ao receptor de acetilcolina nicotínico, 186-187, 186f
Sistemas de transporte mediados por proteínas, 166
Sistemas tamponantes, 48, 49f
SNP. *Ver* Sistema nervoso periférico (SNP)
SOD. *Ver* Superóxido dismutase (SOD)
Sódio, aminoácidos e, co-transporte de, 690, 691f
Solvente(s)
Água como, 43, 43f
Desnaturação protéica por, 109
Somatostatina, 786-787, 788f
Bioquímica de, 786
Efeitos fisiológicos de, 786-787
Efeitos sobre o metabolismo energético de, 800t
Estrutura de, 788f
Secreção de, 786
Sonda(s)
De oligonucleotídeos, alelo-específicas, mutações detectadas por, 307
Na identificação de seqüência de DNA, 300-301, 301f
Sondas de oligonucleotídeos, alelo-específicas, mutações detectadas por, 307
Southern blot, na identificação de seqüência de DNA, 302, 303f
Spliceossomo, 247, 247f
Substâncias do grupo sangüíneo, estruturas das, 551f
Substrato(s)
Enzimas para, K_m de, 140, 140f, 141, 141f
Na regulação da gliconeogênese, 565
Substrato(s) energéticos
Acetil-CoA a partir de, 372, 372f
Ácidos graxos como, 420-429, 579, 579f
Armazenamento de, 3
Corpos cetônicos como, oxidação de, 433, 433f
Da dieta. Ver Substratos energéticos da dieta
Estoques corporais de, 6-7, 7f
Glicose sangüínea como, 875-876
Metabólico, 3-21
Metabolismo de, 3
Regulação de,
Ações hormonais no, 783-804. *Ver também hormônios específicos*, p. ex., Insulina
Conceitos no, 477-492
Transformações de energia em, 337, 337f
Para o fígado, 852-858, 853f, 855t, 856f
Para os tecidos, glicose em, 401
Para os tecidos, manutensão de, 477, 477f
Requerimentos de, 3
Transferência de energia a partir de, pela fosforilação oxidativa, 351-354, 352f, 353f, 353t
Transporte através da barreira hematencefálica, 885
Utilização por músculo cardíaco de, 868-869
Utilização por músculo esquelético de, 869-875. *Ver também* Músculo esquelético, utilização de substratos energéticos no
Valores calóricos de, 341-342, 354
Substratos energéticos da dieta, 4-6, 5f, 5t
Álcool, 6
Carboidratos, 5, 5f, 11-12
Conteúdo calórico de, 5t
Excesso, destino do, nos estados alimentado e de jejum, 3f
Gorduras, 5, 6f, 16-17, 17f
Proteínas, 5, 6f, 12-13, 13t, 17, 17f
Nitrogênio a partir de, 683, 683f
Substratos energéticos metabólicos, 3-21
Succinato, oxidação de, a oxaloacetato, no ciclo do TCA, 362f, 363-364
Succinato-desidrogenase, na fosforilação oxidativa, 384-385, 385f
Succinato-tiroquinase, 363
Succinil-CoA
A partir de aminoácidos, 722-725, 723f, 724f
A partir de isoleucina, 723f, 724-725, 724f
A partir de metionina, 723, 723f
A partir de treonina, 723, 723f
A partir de valina, 723f, 724-725, 724f
Descarboxilação oxidativa de α-cetoglutarato a, no ciclo do TCA, 362f, 363
Propionil-CoA V a partir de, 426, 428f
Succinil-CoA-sintetase, 363
Superfamília de receptor de hormônio esteróide/hormônio da tireóide, 190-191, 191f
Superóxido, CoQ na geração de, 442, 443f
Superóxido-dismutase (SOD), 440
Contra a toxicidade do oxigênio, 449, 449f

T

Tabela metropolitana de peso e altura, 10
Talassemia(s), 238, 821-822
β, mutações em, 270, 270t
Causas de, 262
Mutações que causam, 253
Tampão hemostático, formação do, proteínas plasmáticas na, 830-832, 830f, 831f
Tampão(ões), 41-53, 47f, 48f, 49f
Bicarbonato, 48, 48f
Taquicinina(s), efeitos sobre o metabolismo de substratos energéticos de, 801t
TATA box, 241
Taurina, precursores e funções de, 850t
Tautômero(s), 67, 67f
Taxa metabólica basal (TMB), 8, 8t
Taxa metabólica de repouso (TMR), 8, 8t
Escape de prótons e, 393
Tecido adiposo
Armazenamento de triacilglicerol no, 607, 607f
No estado alimentado, mecanismos afetando, 672, 673f
Durante jejum, 32-33, 33f
Durante jejum prolongado, 35, 673, 676f
Efeitos do hormônio do crescimento sobre, 790
Lipólise no, regulação da, durante jejum, mecanismos afetando a, 35, 673, 676f
Metabolismo da glicose no, 26
Síntese de triacilglicerol no, 604, 604f
Tecido conjuntivo
Matriz extracelular e, 905-920 *Ver também* Matriz extracelular
Metabolismo do, 782
Tecido(s)
Adiposo. *Ver* Tecido adiposo
Conjuntivo, matriz extracelular e. *Ver* Matriz extracelular
Glicólise anaeróbica para, 407, 407f
Metabolismo de aminoácidos em, durante jejum, 765f, 766
Metabolismo por, 781-782
Nervoso, utilização de aminoácido em, 774-775, 774f
Sangue e, manutenção do fluido corporal entre o, 828
Utilização de corpos cetônicos por, 435
Tecidos periféricos, glicose da dieta nos, destino da, no estado alimentado, 570-571, 571f
Tecidual, 781-782
Telômero(s), 222
Replicação de, 229
Temperatura
Desnaturação protéica e, 109
pH ótimo e, 129-130, 130f

Terapia de oxigênio, para bebês prematuros com baixos níveis de surfactante pulmonar, 449
Terapia gênica, no tratamento e prevenção de doenças, 312-313, 312f
Terminação de sinal, 200-201, 201f
  Locais de, 201f
Termodinânica, 344, 344t
Termogênese
  Descrição, 351
  Dieta-induzida, gasto diário de energia e, 9
  Proteínas desacopladoras e, 392, 393f
  Sem tremores, gordura marrom para a, 392, 393f
Termogenina, termogênese e, 392
Teste de açúcares redutores, 68
Teste de Schilling, 733
Teste de tolerância à glicose oral (TTGO), 559
Teste de *Western blot*, na identificação de seqüência de DNA, 302, 303f
Testosterona
  Estrutura de, 57f
  Síntese de, 645f, 647-648
Tetraciclina
  Inibição da síntese protéica por, 271t, 272
  Na síntese protéica, 265
Tetracloreto de carbono (CCl_4), 443
Tetraidrobiopterina, na degradação de aminoácidos, 712
Tetraidrofolato (FH_4), 732
  A partir de folato, 733, 734f
  Doadores de um carbono metílico para, precursores e funções de, 850t
  Estrutura de, 733-734, 734f
  Formas de, 733-734, 734f
  Grupos de um carbono carregados por, fontes de, 735-736, 735t, 736f
  Grupos de um carbono de, oxidação e redução de, 735, 736f
  Na degradação de aminoácidos, 712
  Na divisão celular, 737
  Vitamina B12, e SAM, relações entre, 742-744, 742f, 743f
Tetraiodotironina (T_4), 356
TGO. *Ver* Transaminase glutâmico-oxaloacética sérica (TGO)
TGP. *Ver* Transaminase glutâmico-pirúvica sérica (TGP)
Tiagabina, 895
Tiamina, 14t
  Fontes de, 14t
Tiamina-pirofosfato, 125, 126f
  Grupo funcional de, papel do, 125, 126f
  No complexo α-cetoglutarato-desidrogenase, 367
Timina
  Estrutura de, 216f
  No DNA, 209, 209f
Tioéster(es), 56f
  Formação de, 58f
Tiolase(s), 135, 135f
Tirosina, 791
  Acetoacetato a partir de, 276f, 725, 727f
  Degradação de, 725, 726f
  Doenças genéticas associadas a, 730t
  Fumarato a partir de, 722
  Regulação de, 891-892
Tirosinemia transitória, 725
Tirosinose, 725
TMB. *Ver* Taxa metabólica basal (TMB)
TMR. *Ver* Taxa metabólica de repouso (TMR)
Tolbutamida, 786
Toxina da difteria, subunidades da, 267
Toxina(s), ambientais de hidrocarbonetos aromáticos clorados, 59, 59f
Toxinas ambientais, hidrocarbonetos aromáticos clorados, 59, 59f
TPA. *Ver* Ativador de plasminogênio tecidual (TPA)
Trabalho
  Bioquímico, transformações de energia para, 347-350, 347f, 348t, 349f, 350f
  De transporte, transformações de energia para, 346-347
  Mecânico, transformações de energia para, 346, 346f
TRADD, 202, 202f
Tradução, 205, 205f, 258-273
  Código genético em, 259-261, 260f, 260t
  Códons em, 258, 258f
  Definição, 259
  Elongação de cadeia polipeptídica em, 265-267, 266f
  Eucariótica,
    Iniciação de, 290-292, 292f, 293f
    Regulação de, 281-293, 281f-283f, 285f-293f
      Estabilidade de mRNA e, 290-291, 292f, 293f
  Iniciação de, 264-265, 264f, 265t
  Mutações em, 261-262, 262f, 262t
  Processamento de, 263-267, 264f-266f, 265t
  Terminação de, 267
Transaldolase, na via da pentose-fosfato, 535, 535f
Transaminação, descrição, 699, 699f
Transaminase glutâmico-oxaloacética sérica (TGOs), 420, 859
Transaminase glutâmico-pirúvica sérica (TGP), 859
Transaminase(s), 135
Transativador(es), 274
Transcetolase, na via da pentose-fosfato, 533, 534f
Transcitose mediada por receptor, 886
Transcrição, 205, 205f, 237-257
  Aparato para, 243f
  Atenuação de, 280-281, 280f
  De genes bacterianos, 243-244, 243f, 244f
  De mRNA, 245, 246f
  De óperon, 242, 242f
  Definição, 259
  Eucariótica, 237, 237f, 244-251, 245f-250f
    Amplificação gênica em, 283
    Deleções gênicas em, 284
    Edição de RNA após, 290, 292f
    mRNA, 244-248, 245f, 246f, 291, 293
    Proteínas de ligação de DNA em, 286-288, 287f, 288f
    Proteínas regulatórias em, 284
    Rearranjos gênicos em, 283, 283f
    Receptores hormônio esteróides/hormônio da tireóide em, 285-286, 286f, 287f
    Regulação de, 281-284, 281f-283f
      Nível-relacionada, 284-290, 285f-290f
      Remodelação cromática em, 282, 282f
    Regulação gênica em, 274, 284
    rRNA, 248-249, 248f, 249f
    tRNA, 249-251, 249f, 250f
  Mecanismo de, 243f
  Reconhecimento gênico em, 240-241
  Regiões promotoras em, 241-243, 242f, 243f
  Regulação de, ferro na, 294
  RNA-polimerase em, 238-243, 239f-243f, 239t
  Seqüências genéticas em, 239-240, 240f
Transcrição gênica, eucariótica, 274
Transcrição-acoplada, no reparo de DNA, 232
Transcriptase reversa, 233, 234f
  Ação de, 234f
  DNA produzido por, 300
Transdução de sinal
  AMPc em, 488
  Através de receptores tirosina-quinases, 192f-195f, 193-196
  CRE em, 488
  Efeitos de gene supressor de tumor sobre, 327-328, 327f
  Fosfatidilinositol-fosfatos em, 194, 194f
  Para receptores de membrana plasmática, 184
  Para receptores intracelulares, 184
  Por adrenalina, 489-490
  Por cortisol, 489
  Por glugacon, 488-489
  Por hormônios que se ligam a receptores de membrana plasmática, 487-489
  Por insulina, 487-488
  Por noradrenalina, 489-490
  Receptor serina/treonina-quinases em, 196-197, 197f
  Receptores de membrana plasmática e, 192-200, 192f-198f, 199t, 200f
  Receptores heptaelicoidais em, 197-199, 198f, 199t, 200f
  Receptores JAK-STAT em, 192f, 196, 196f
Transferase(s), 134-135
Transferência de elétrons, do NADH ao O_2, na fosforilação oxidativa, 382-383
Transferência seqüencial, na fosforilação oxidativa, 388-389
Transferrina, ferro na, 812
Transformação da hemoglobina (*switching*), 805, 823, 823f
Transformação de Lineweaver-Burk, 154, 154f, 155f
Transformação(ões), de energia, para trabalho mecânico e de transporte, 345-347, 346f
Transformações de energia, fases das, 337
Translocação(ões), 267
  DNA-relacionada, 233, 234f
Transporte ativo
  E morte celular, 357-358, 357f
  Requerimentos para, 166-168, 167f

Transporte de elétrons
  Acoplamento do, na fosforilação oxidativa, 390-393, 391f-393f
    Regulação do, 391, 391f
  Deficiências de, 381
  Desacoplamento da síntese de ATP do, 391-393, 392f-393f
  Inibição do, efeitos da, 390
Transporte vesicular, através da membrana plasmática, 168, 168f
Transposon(s), 233, 234f
Trauma, fluxo de aminoácidos no, 762, 762f
Trealase, na digestão de amido, 498, 499f
Tremores, causas de, 391
Treonina
  Acetil-CoA a partir de, 725f, 726, 728
  Acetoacetato a partir de, 725f, 726, 728
  Succinil-CoA a partir de, 723, 723f
3,5,3'-Triiodotironina (T3), estrutura de, 191f
3'-Fosfoadenosina-5'-fosfossulfato, síntese de, 613, 614f
Triacilglicerol, síntese e exportação de, fígado na, 849
Triacilglicerol(óis), 5, 64f
  Armazenamento de, no tecido adiposo, 607, 607f
    No estado alimentado, mecanismos que afetam, 672, 673f
  Composição de, 605, 605f
  Conversão de glicose em, 25
  Degradação de, regulação da, enzimas hepáticas na, 679t
  Descrição, 583, 595
  Digestão de, 583, 584-586, 585f-587f
    Lipase pancreática em, 585-586, 586f, 587f
    Sais biliares em, 585, 585f, 586f
  Do tecido adiposo
    Liberação de ácidos graxos a partir de, 607-608, 608f
    Mobilização de, 607, 608f
  Estrutura de, 6f
  Fontes de, 605, 605f
  Metabolismo de, 579
    Durante jejum, 580, 581f
    No estado alimentado, 579, 580f
  Porções de glicerol e de ácido graxo de, glicose a partir de, 474, 474f
  Ressíntese de, nas células epiteliais intestinais, 588f
  Síntese de, 594-595, 603-608
    No fígado, 604, 604f, 669-672, 669f-672f
    No tecido adiposo, 604, 604f
    Regulação de, enzimas do fígado na, 679t
  VLDL, destino de, 595, 595f, 606
Trifosfato de adenosina (ATP), 4, 62, 62f
  A partir de ácidos graxos livres, 876-877, 876f
  A partir de glicose, geração de, 399-417. *Ver também* Glicólise
  Geração de, 477
    Da oxidação de combustível, 337-339, 337-339f
    Energia para, 4, 4f
    Oxidases e oxigenases não-envolvidas na, 354-355, 354f, 355f
  Homeostasia da, 341
  Ligações fosfato de alta energia da, 343, 344f
    Concentração de produto na, 349-350
    Concentração de substrato na, 349-350
    Em reações de transferência de fosforil, 348, 348t
    Intermediários ativados com, 350, 350f
    Na síntese de glicogênio, 348, 349f
    No trabalho bioquímico, 347-350, 347f, 348t, 349f, 350f
  Na regulação da glicólise, 409-412, 410f, 411f
  Na regulação da PFK-1, 411, 411f
  No músculo esquelético, 869-871, 870f, 871f
  Síntese de, modelo quimiosmótico de, 380-381, 380f
Trifosfato de adenosina (ATP) sintase, na fosforilação oxidativa, 383-384, 384f
Triglicerídeo(s), 5, 6f
  De cadeia média, 855
Triglicerídeos de cadeia média, 855
Triiodotironina (T3), 356
Triose-fosfatos, conversão de glicose em, 402, 403f
Triptofano,
  Acetil-CoA a partir de, 726, 727f
  Acetoacetato a partir de, 726, 727f
  Degradação de, 726, 727f
tRNA. *Ver* RNA transportador (tRNA)
Trombina
  Efeitos antitrombóticos de, 836f
  Na regulação, papel de, 836
Trombo, definição, 827
Trombócito(s), 806, 808
  Classificação de, 807-808
  Funções de, 807-808
Trombocitopenia, induzida por heparina, 839
Tromboxano(s)
  Biossíntese de, 659-661, 659f, 660f, 660t
  Estrutura de, 658, 659f
  Formação de, 659, 659f
  Funções de, 660, 660t
  Inativação de, 661
  Receptores para, 664t
  Síntese de, 658, 659f
Tropoelastina, na matriz extracelular, 910-911, 910f
Troponina, 111
t-SNARES, 177
TTGO. *Ver* Teste de tolerância à glicose oral
Tuberculose, em pacientes com AIDS, 239
Tumor(es). *Ver também* Câncer
  Carcinógenos químicos e, 235
  Descrição, 319
  Maligno, 206

U

Ubiquitina, 687
UCP. *Ver* Proteínas desacopladoras (UCPs)
UDP-Galactose, síntese de, a partir de glicose, 545, 546f
UDP-Glicose
  Destino de, 475
  Formação de, 515f
  Metabolismo de, 543f
  Produtos da, 475, 475f
  Reações da, 543, 543f
UDP-glucuronato
  Como fonte de cargas negativas, 544, 544f
  Rotas metabólica de, 544, 544f
1,25-diidroxicolecalciferol (1,25-$(OH)_2$-D_3), estrutura do, 191f
1,3-Bisfosfoglicerato, ligações de alta energia em, 350f
União de ligante, 93
  A proteínas, constante de associação para, 102
  Quantificação de, 102
Uracil, estrutura de, 216f
Urato, 133f
Uréia
  Clivagem de arginina e, 705-706, 705f
  Produção de, glutamato em, 702, 703f
Uridina-monofosfato, 747
Urina
  Compostos em, excreção de, 768, 768t
  Dosagem de metabólitos em, usos clínicos de, 37
  Tamponamento de, nitrogênio da glutamina no, 767-769, 767f, 768f, 768t

V

Vacina(s), técnicas de DNA recombinante para, 310
Valina, succinil-CoA a partir de, 723f, 724-725, 724f
Vegetal(is), recomendações dietéticas de, 16, 17f
Velocidade
  Concentração enzimática e, 142
  Concentrações de substrato e, 140-142, 141f, 142f
Vesículas recobertas por clatrina, formação de, 168, 168f
Vesículas recobertas por proteínas *coatomer* (COP), transporte em, 177, 177f
Via da HMP. *Ver* Via da pentose-fosfato
Via da pentose-fosfato, 527
  Braço oxidativo de, ribose-5-fosfato a partir do, 533
  Descrição, 532
  Direção de, necessidades celulares na, 538, 538t
  Fase não-oxidativa de, 533-536, 534f-536f
  Fase oxidativa de, 532-533, 533f
  Fígado em, 852
  Glicose-6-fosfato oxidada pela, 474, 474f
  Na geração de NADPH, 537-538, 537f, 537t, 538t
  Visão geral de, 474f, 527, 528f
Via de integridade mitocondrial, para apoptose, 329-330, 331f
Via do receptor de morte celular, para apoptose, 329, 330f
Vias de destoxificação, 1
Vias de transporte, 1
Vibrio cholerae, cólera devido a, 158, 159, 508
Vírus
  Câncer devido a, 334, 335
  De DNA, câncer devido a, 335
Vírus da imunodeficiência humana (HIV)
  Câncer e, 335
  Infecção de célula hospedeira por, 254-256, 255f

Vírus de DNA, cânceres devido a, 335
Vitamina(s)
A
Deficiências de, 14t
Fontes de, 14t
B12, 732, 738-740, 738f-741f
Absorção de, 738-739, 740f
Armazenamento de, 740f
Deficiências de, manifestações clínicas da, 740
Estrutura de, 738, 739f
Formas de, 738
Funções de, 739-740, 741f
Tetraidrofolato (FH4), e *S*-adenosilmetionina (SAM), relações entre, 742-744, 742f, 743f
Transporte de, 738-739, 740f
B6
Deficiências de, 14t
Fontes de, 14t
C
Deficiências de, 14t
Fontes de, 14t
D
Deficiências de, 14t
Fontes de, 14t
Síntese de, 648, 649f
D3, estrutura de 191f
Deficiências de, 14t
E
Contra a toxicidade do oxigênio, 451,
Deficiências de, 14t
Fontes de, 14t
Fontes de, 14t
K
Deficiências de, 14t
Derivados de, estrutura dos, 834, 835f
Fontes de, 14t
Para a coagulação sangüínea, requerimentos de, 835-836, 835f
Lipossolúvel, 579
Recomendações dietéticas de, 18
Requerimentos de, 13-15, 14t
Transporte, barreira hematencefálica, 886
VLDL. *Ver* Lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL)
$V_{máx}$
De enzima, 140, 140f, 141, 141f
Descrição, 142
VNTR. *Ver* Repetições em série de número variável (VNTR)
v-SNARES, 177

W

Warfarin, 836
Ações de, 839
Efeitos adversos de, 839

X

Xantina, 133f
Xantina-oxidase, transferência de elétron ao oxigênio, molibdênio na, 134
Xenobiótico(s)
Conjugados de glicina de, precursores e funções de, 850t
Inativação e destoxificação de, fígado na, 846-849, 846t, 847f, 848f
Metabolismo de, como ácidos graxos, no fígado, 856, 856f
Recomendações dietéticas de, 18-19

Z

Zimogênio(s), 138, 687
Gástrico, ativação de, 688, 688f
Pancreático, ativação de, 688, 688f
Zwitteríon, 74