



BIOQUÍMICA GERAL

2012/2013

Prof. Engº: Nuno Miguel dos Santos Costa

BIOQUÍMICA GERAL ÂMBITO / OBJETIVOS

A Bioquímica é o estudo das reações químicas que ocorrem nos organismos vivos, nomeadamente as reações de degradação das substâncias alimentares, que lhes fornecem a energia necessária sendo estas reações de transformação ou de biossíntese conducentes à formação de compostos necessários à célula. Nos últimos anos, a Bioquímica conseguiu um progresso extraordinário, tal que as principais descobertas tiveram repercussões que ultrapassaram largamente a esfera de interesse dos especialistas. A Formação Básica em Bioquímica, perspectivada no sentido do estudo dos fenómenos moleculares subjacentes à estrutura e função dos sistemas biológicos, com especial incidência nos processos biomoleculares. Atualmente, na maior parte dos domínios da biologia, existe a preocupação em compreender os mecanismos da vida a nível molecular.

Sendo esta cadeira do 1º ano, não se poderia pretender ministrar uma formação específica, pois esta estaria criticamente limitada pela ausência de conhecimentos básicos essenciais estruturadores de qualquer perspectiva aplicada. Neste sentido, e de uma forma genérica poder-se-á considerar que o presente curso de Bioquímica consiste numa cadeira semestral de Bioquímica Geral.

MODELO DE FORMAÇÃO

A lecionação está organizada num total de 37 horas:
Aulas Teóricas/ Teórico-Práticas – 4 a 5 horas/semana
Aulas para apresentações orais – 3 horas
Frequência – 2 horas

CONTEÚDOS PROGRAMÁTICOS

1- INTRODUÇÃO À BIOQUÍMICA

1.1 - Contexto geral

1.1.1 - Os objetivos da Bioquímica

1.1.2 - A Bioquímica como uma ciência intrinsecamente interdisciplinar

2 - A CÉLULA COMO UNIDADE BIOLÓGICA

3 - QUÍMICA ORGÂNICA

- Principais funções químicas: nomenclatura e fórmulas de estrutura

4 - QUÍMICA - FÍSICA EM BIOQUÍMICA

4.1 - A água na natureza

- Propriedades físico-químicas da água

- Solubilidade

- Caracterização qualitativa e quantitativa de soluções

- A água e os íons importantes para as funções vitais

4.2 - Equilíbrio ácido-base

- O conceito de pH

- pH dos líquidos biológicos

- pH e transporte de gases

5 - QUÍMICA DAS BIOMOLÉCULAS

- Biomoléculas: estrutura, função e aspetos nutricionais:

- Proteínas

- Lípidos

- Glúcidos

- Ácidos nucleicos

6 - ENZIMOLOGIA

6.1 - Introdução

- Origem histórica do conceito de "enzima"

- Enzima como biocatalisador

- Características químicas dos enzimas

- Características cinéticas das reações enzimáticas

7 - BIOENERGÉTICA

7.1 - Noções gerais

- Moléculas de elevado potencial químico

- Transferências energéticas em sistemas bioquímicos

- Carga energética e potencial redox celular

- Papel do metabolismo intermediário

7.2 - Fosforilação oxidativa

- Reações redox e conceito de "Potencial de oxi-redução"
- Cadeia respiratória: dadores e recetores primários de eletrões, fluxo eletrónico, gradiente de protões e força protomotriz
- Controlo respiratório

8 - METABOLISMO PROTEICO

8.1 - Informação genética e informação proteica

8.1.1 - Processamento da informação

- Transcrição
- Modificações pós-transcricional
- Tradução e síntese proteica
- Modificações pós-síntese

8.2 - Metabolismo dos aminoácidos

8.3.1 - Síntese de aminoácidos e essencialidades nutricionais

8.3.2 - Catabolismo dos aminoácidos

- Transaminação
- Desaminação oxidativa
- Descarboxilação
- Vias de ligação com o metabolismo intermediário

8.3.3 - Ciclo da ureia

9 - METABOLISMO GLUCÍDICO

9.1 - Gluconeogénese

- Definição e importância
- Obstáculos a uma gluconeogénese direta
- Custo energético

9.2 - Os glúcidos no organismo

- A glucose no fígado
- A glucose na célula muscular
- Os órgãos glucodependentes

10 - METABOLISMO LIPÍDICO

10.1 - Anabolismo e catabolismo dos triglicéridos

10.2 - Os lípidos no organismo

- Lípidos nas células
- Lípidos no plasma
- Lípidos no tecido adiposo

11 - METABOLISMO DOS ÁCIDOS NUCLEICOS

11.1 - Biossíntese de nucleótidos

11.2 - Catabolismo de nucleótidos

- Síntese do ácido úrico

BIOQUÍMICA EM ENFERMAGEM

A ligação entre Bioquímica e a enfermagem é estreita, ocorre quando certas doenças são causadas por falta das biomoléculas:

LÍPIDOS – aterosclerose

HIDRATOS DE CARBONO – diabetes

PROTEÍNAS – anemia

ÁCIDOS NUCLEICOS – doenças genéticas

A Bioquímica pode ser definida como a base química da vida, a célula é a unidade estrutural dos sistemas vivos, também pode ser descrita como uma ciência preocupada com os constituintes químicos das células vivas e com as reações e processos que lá ocorrem. O maior objetivo da Bioquímica é a compreensão total a nível molecular de todos os processos químicos associados à vida na célula. A Bioquímica acompanha e usa outras áreas como a biologia celular, biologia molecular e genética molecular.

O conhecimento da Bioquímica é essencial a todas as ciências da vida:

- Genética;
- Fisiologia;
- Imunologia;
- Farmácia (farmacologia);
- Zoologia;
- Botânica.

As duas grandes preocupações dos profissionais que trabalham no campo da medicina são:

- A compreensão e a manutenção da saúde;
- A compreensão dos tratamentos efetivos para as doenças.

Existe uma relação estreita entre a Enfermagem e a Bioquímica, por exemplo, o conhecimento da estrutura das proteínas foi necessário para a diferenciação entre a hemoglobina saudável de um doente.

CAUSAS DAS DOENÇAS

1. Agentes físicos: Trauma mecânico, temperatura extrema, mudanças repentinas na pressão atmosférica, radiação, choques elétricos, etc.
2. Agentes químicos (incluem as drogas): Compostos tóxicos, drogas terapêuticas, etc.
3. Agentes biológicos: Vírus, bactérias, fungos e formas avançadas de parasitas.
4. Falta de oxigênio: Falta de aprovisionamento de sangue, decadência na capacidade do sangue transportar oxigênio, envenenamento dos enzimas oxidativos.
5. Desordens genéticas: Congênitas, moleculares.
6. Reações imunológicas: doenças auto-imunes.
7. Desequilíbrios nutricionais: Deficiências, excessos.
8. Desequilíbrios endócrinos: Deficiências hormonais, excessos.

CLASSIFICAÇÃO DOS ORGANISMOS

Os organismos estão divididos em dois grandes grupos:

- Fototrofos – consomem a energia do sol.
- Quimiotrofos – consomem energia a partir de compostos químicos.

A CÉLULA

A célula representa a unidade básica na organização estrutural e funcional dos seres pluricelulares. Rodeada por uma membrana plasmática contendo no seu interior o núcleo e diversos organitos, tais como as mitocôndrias, o retículo endoplasmático, os ribossomas e o aparelho de Golgi. A célula constitui a fração mais pequena dos organismos pluricelulares em que se manifestam todas as características da vida. A **membrana** é constituída por uma dupla camada fosfolipídica. As porções polares dos fosfolípidos contactam o solvente aquoso e as suas longas porções hidrofóbicas situam-se no interior da membrana, longe da água. Na membrana encontram-se proteínas de dois tipos:

- ☐ **Periféricas** - encontram-se associadas à superfície da membrana, normalmente por interações não covalentes. Não atravessam membrana. Muitas vezes podem ser removidas por tratamento das membranas com concentrações crescentes de sal, que enfraquecem as ligações iónicas entre estas proteínas e os fosfolípidos e/ou outros componentes membranares.
- ☐ **Integrais** - encontram-se profundamente embebidas na membrana, atravessando-a e contactando simultaneamente com o citoplasma e com o meio extracelular. A sua remoção exige a utilização de detergentes.

Todas as células possuem material genético, na forma de moléculas de DNA (ácido desoxiribonucleico) que contém toda a informação genética para dirigir tudo o que a célula faz. Todas as células contêm moléculas que funcionam como mensageiros de informação que levam aos ribossomas a informação genética que vai dirigir a síntese de proteínas. Todas as células possuem vários tipos de mecanismos capazes de assegurar as várias transformações energéticas necessárias ao funcionamento e crescimento das células. Todas as células vivas crescem, reproduzem-se e respondem a alterações do meio ambiente. As células mais complexas possuem núcleo e designam-se células eucarióticas. As células mais simples não possuem núcleo e designam-se procarióticas.

A membrana plasmática serve para separar o citoplasma da célula do meio ambiente externo e seleccionar a passagem de substâncias para dentro e para fora das células. Os lípidos formam uma barreira mais ou menos impermeável à maior parte das substâncias que têm que atravessar a membrana.

As proteínas têm três funções principais:

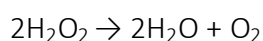
1. Formam os poros da membrana (existe espaço entre as substâncias que foram as proteínas).
2. Algumas das proteínas das membranas celulares são enzimas que catalisam diversas atividades que decorrem numa íntima associação com a membrana (transporte de substâncias e formação do “mensageiro químico”, adenosina monofosfato cíclico, que regula várias reações celulares).
3. Outras proteínas são recetoras de hormonas e de neurotransmissores ou de anticorpos.

RIBOSSOMAS - Realizam a síntese de proteínas celulares.

APARELHO DE GOLGI – síntese de glicoproteínas, polissacarídeos. No complexo de Golgi realiza-se a parte mais importante da glicosilação. A cadeia glicosilada que as proteínas receberam no RER vai ser modificada consoante o seu destino final. Esta modificação inclui fosforilação de resíduos de manose (no compartimento cis), remoção de resíduos de manose, adição de N-acetilglucosamina, ramificação da cadeia (compartimento médio) e adição de ácido N-acetilenuramínico (ácido siálico) no compartimento trans.

LISOSSOMAS - Contêm enzimas hidrolíticas, que catalisam a transformação de moléculas grandes (proteínas, polissacarídeos, ácidos nucleicos, enzimas moleculares mais pequenos que são constituídos por aminoácidos, monossacarídeos e dissacarídeos, nucleótidos, etc. Os enzimas hidrolíticos, ou digestivos que existem dentro dos lisossomas, digerem a própria célula se lançados no citoplasma, quando a célula envelhece ou em situações patológicas.

PEROXISSOMAS - (1 micron) destroem o peróxido de hidrogénio, que é nocivo para a célula. O enzima que catalisa esta reação, designa-se por catalase.



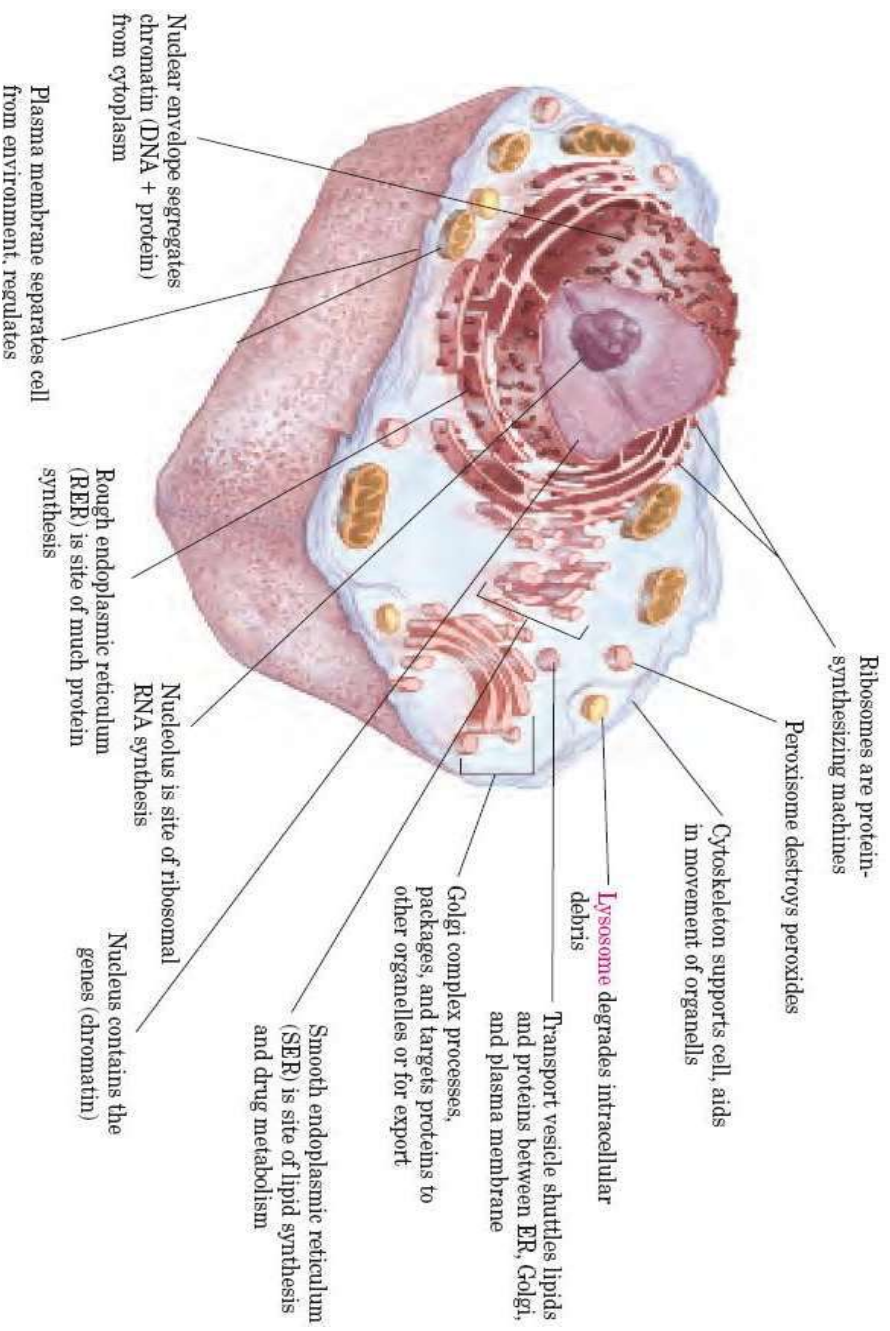
MITROCÔNDRIAS - Catalisam a síntese de ATP (fosforilação oxidativa) durante a respiração celular (*Ciclo de Krebs*).

As mitocôndrias possuem o seu próprio DNA e ribossomas.

NÚCLEO

O núcleo contém a informação genética da célula na forma da molécula de **DNA**. O núcleo é separado do citoplasma pela membrana ou invólucro nuclear. A **mitose** é a divisão celular, a função do **DNA** do núcleo é regular todos os processos vitais para a célula, tais como a divisão e a diferenciação celular, reações metabólicas, etc. A informação para todas estas atividades está contida nas moléculas de **DNA** que contêm os genes que regulam especificamente cada reação. O **nucleólo** contém uma concentração alta de **RNA** (ÁCIDO RIBONUCLEICO) e proteínas básicas.

O envelope nuclear é constituído por uma membrana externa (contínua com o RE) uma membrana interna e a lâmina nuclear. A função do núcleo é sintetizar os ácidos nucleicos necessários para o funcionamento e reprodução celulares. No núcleo existem vários “sub-organelos” (os nucléolos) cuja função é sintetizar os ribossomas. Os processos nucleares básicos são a replicação (síntese de DNA) e a transcrição (síntese de RNA). O processo de crescimento das cadeias de ácidos nucleicos é um processo reversível. A fim de os tornar irreversíveis, os enzimas responsáveis por estes processos acoplam-nos a processos irreversíveis, tornando o processo total irreversível.



Química Orgânica

Isomeria



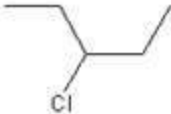
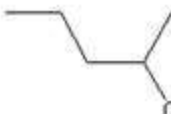


Um composto contendo carbono existe como esteroisômero na natureza, moléculas com as mesmas ligações químicas mas com diferente estereoquímica, isto é, com diferente configuração (arranjo espacial dos átomos). As interações entre biomoléculas são estereoespecíficas, necessitando uma estereoquímica específica nas moléculas interagidas.

ASSIMETRIA MOLECULAR

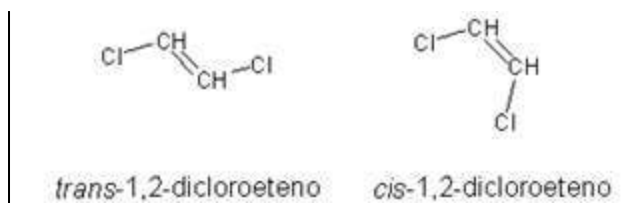
(a) Quando um átomo de carbono tem 4 substituintes diferentes (A, B, X, Y), eles podem ser rearranjados em duas maneiras que representam imagens de espelho de si próprios (enantiômeros). Este carbono assimétrico é chamado átomo quiral ou centro quiral.

(b) Quando um carbono tem somente três grupos diferentes (A, B, X, X), somente uma configuração é possível e a molécula é simétrica, ou aquiral.

Isômeros constitucionais são isômeros que diferem devido à diferente ligação dos seus átomos. Por exemplo:

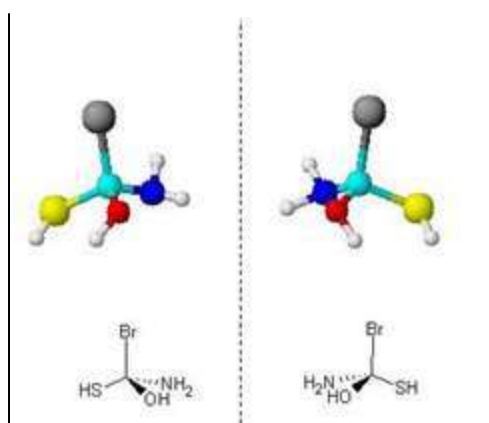
Fórmula molecular	Isômeros constitucionais	
C_4H_{10}	 butano	 2-metilpropano (isobutano)
$C_5H_{11}Cl$	 Cl	 Cl
C_2H_6O	 OH etanol	 metoximetil (éter dimetilico)

Esteroisômeros não são isômeros constitucionais. Os seus átomos estão ligados da mesma forma, mas diferem na sua disposição:



Estes compostos são isômeros porque não podem ser facilmente convertidos um no outro, por causa da grande barreira energética da rotação em torno da ligação dupla. Os estereoisômeros podem ser subdivididos em duas categorias: **enantiômeros** e **diastereoisômeros**.

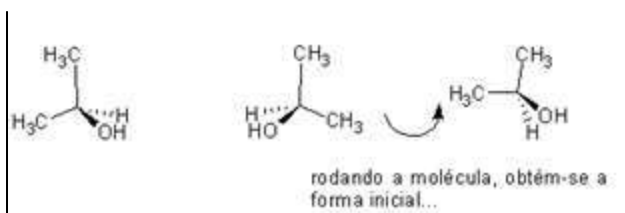
Os **enantiômeros** são isômeros cujas moléculas são reflexões não sobreponíveis uma na outra:



Só ocorrem enantiômeros quando a molécula é **quiral**. Um objeto é quiral quando não é sobreponível com a sua imagem no espelho. Por exemplo, a reflexão da mão esquerda não é sobreponível com a mão esquerda, mas com a mão direita. As mãos são, por isso, quirais.

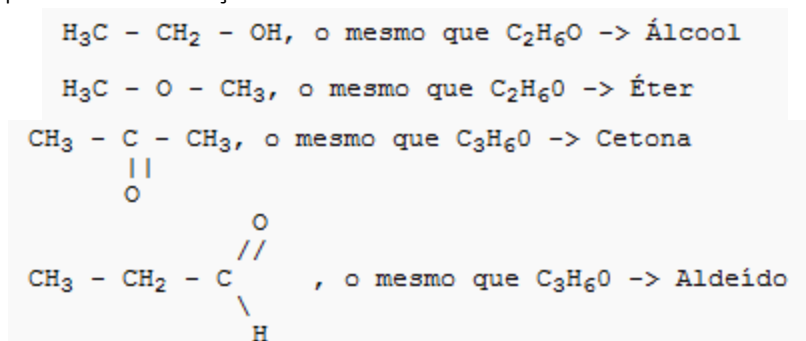
Uma forma de reconhecer a possibilidade de existência de enantiômeros é identificar se na molécula existe um átomo tetraédrico com quatro substituintes diferentes. Trocar dois destes substituintes entre si converte um enantiômero no outro (ver exemplo acima). Esta reação não ocorre espontaneamente, uma vez que exigiria a quebra de ligações em torno do carbono, o que exige uma energia considerável.

Se todos os átomos tetraédricos numa molécula têm dois substituintes iguais a molécula será aquiral (ex.: o 2-propanol).



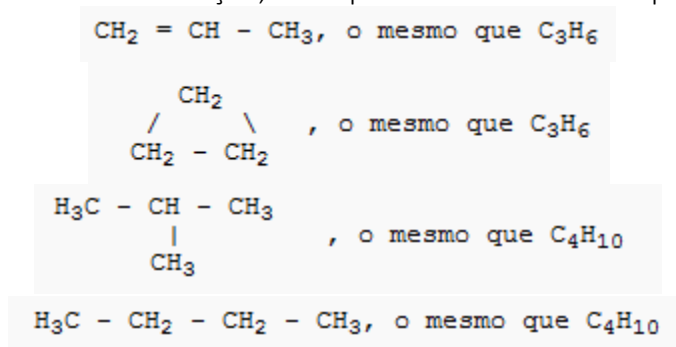
Isomeria Plana de Função

Os isómeros pertencem a funções diferentes:



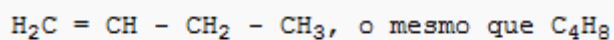
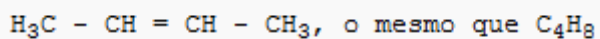
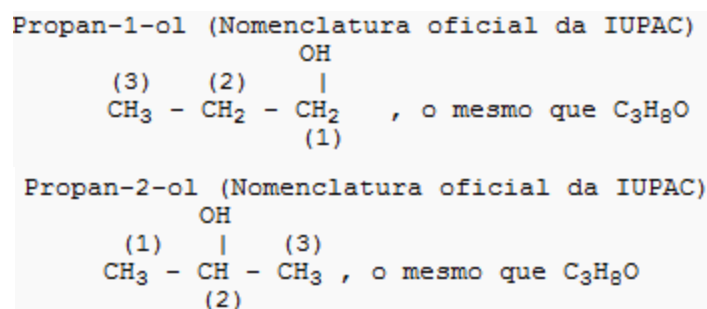
Isomeria Plana de Cadeias

Isómeros pertencem à mesma função, mas apresentam diferentes tipos de cadeia:



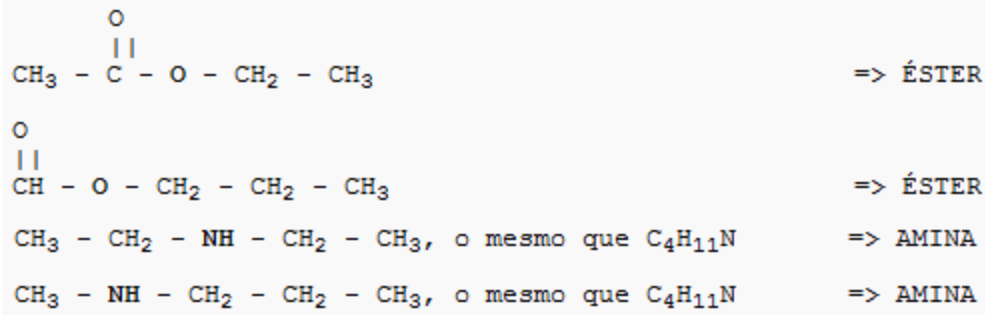
Isomeria Plana de Posição

Os isómeros pertencem à mesma função e têm o mesmo tipo de cadeia, mas apresentam diferença na posição de um grupo funcional, de uma ramificação ou insaturação:



Isomeria de Compensação

Os isómeros pertencem à mesma função e apresentam o mesmo tipo de cadeia, mas existe a diferença na posição de um heteroátomo:



BIOENERGÉTICA

Os objetivos centrais em bioenergética (*o estudo das transformações energéticas em sistemas vivos*) são os meios para que o “combustível” metabólico é realizado sob a necessidade do gasto de energia nas reações químicas necessárias para a vida das células. A termodinâmica estuda as transformações de trabalho e calor e de calor em trabalho. O estudo dos sistemas biológicos no conhecimento dos sistemas vivos, caracterizados pela sua capacidade de captar, armazenar e utilizar energia em processos de auto-manutenção, auto-perpetuação e a auto-regulação está na dependência direta do avanço de se verificar a nível da Bioenergética.

Primeira lei da termodinâmica – A energia total de um Universo permanece constante, sejam quais forem as transformações energéticas que nele ocorram.

$$\Delta E_{\text{universo}} + \Delta E_{\text{mecânica}} + \Delta E_{\text{térmica}} = \text{cte}$$

$$\Delta E_{\text{T}} = 0$$

$$\Delta E_{\text{universo}} = - \Delta E_{\text{mecânica}} - \Delta E_{\text{térmica}}$$

$$\Delta H = H_{\text{B}} - H_{\text{A}}$$

Reação Exotérmica $\Delta H < 0$

Reação endotérmica $\Delta H > 0$

Energia livre (G) ou energia de Gibbs

$$\Delta G = - RT \ln K_{\text{eq}}$$

Reação da glicólise

Glucose -1-fosfato = glucose-6-fosfato

$$T = 25^\circ\text{C} \quad \text{pH} = 7 \quad R = 8,31 \quad K_{\text{eq}} = 17$$

$\Delta G < 0$ reação exergónica (G dos produtos < G dos reagentes)

$\Delta G > 0$ reação endorgónica (G dos produtos > G dos reagentes)

Entropia (S)

Segunda lei da termodinâmica

Caráter espontâneo dos sistemas naturais

Qualquer universo termodinâmico, qualquer sistema mais as suas vizinhanças, tende para um estado de entropia máxima.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

- Um acontecimento (reação química) ocorre espontaneamente e é irreversível se for exergónico.
- Um acontecimento não ocorre espontaneamente se for endergónico.
- Um acontecimento é reversível de $\Delta G = 0$.

O papel fundamental do ATP no metabolismo

Trifosfato de adenosina (ATP). A remoção do grupo fosforil terminal, é muito exotérmica, e esta reação é realizada ao mesmo tempo com outras reações altamente endotérmicas na célula. ATP é o intermediário químico para a libertação de energia quando as células necessitam de energia. O seu papel na célula é análogo ao dinheiro numa economia: é “ganho/produzido” em reações exotérmicas e “gasto/consumido” em reações endotérmicas. A síntese do ATP é um processo endergónico.

ADP + P + (energia) → ATP (improvável) ATP

ADP + P + energia (exergónico)

O ATP permite a associação de processos exergónicos e endergónicos na qual se estuda o fundamento dos fenómenos vitais.

Genética

A propriedade mais fascinante das células e organismos vivos é a sua capacidade de se reproduzir em incontáveis gerações com grande perfeição e fidelidade. Esta continuidade implica estabilidade, ao longo de milhões de anos, na estrutura das moléculas que contêm a **informação genética**. Uma das maiores descobertas do século vinte foi a natureza química e a estrutura tridimensional do material genético, **Ácido desoxiribonucleico, DNA**. A sequenciação das subunidades monoméricas, os nucleótidos deste polímero linear dá-nos as instruções para formação de outros componentes celulares. O arquivamento eficiente, reprodução das mensagens genéticas define as espécies individuais, distingue uma espécie de outra, e assegura a sua continuidade por gerações sucessivas.

PROTEÍNAS

O termo proteína tem origem num vocábulo grego que significa da primeira importância ou que ocupa o primeiro lugar. As proteínas são constituintes extremamente importantes das células vivas, tanto do ponto de vista quantitativo (representam em geral mais de metade do peso seco das células), como no ponto de vista qualitativo, além das proteínas ditas estruturais, encontram-se proteínas cujo papel biológico é fundamental, particularmente os enzimas, catalisadores biológicos indispensáveis ao processamento das reações nas células de todos os organismos vivos. Todas as proteínas contêm os quatro elementos: **C, O, H e N**; muitas contêm ainda **enxofre** e algumas, **fósforo**. O teor de azoto das proteínas é na ordem dos 16% (em massa). As proteínas são moléculas grandes, macromoléculas, formadas pela condensação de um número elevado de unidades (cerca de 50 a vários milhares) grandes camadas de aminoácidos:

- **Holoproteínas**, constituídas unicamente por encadeamentos de aminoácidos;
- **Heteroproteínas** ou proteínas conjugadas, que comportam – além de uma ou várias cadeias de aminoácidos – um grupo prostético de natureza diversa.

Principais funções das proteínas:

Catálise enzimática – todas as reações químicas dos sistemas biológicos são catalisadas por macromoléculas específicas (enzimas).

Transporte e armazenamento – muitas moléculas pequenas são transportadas por proteínas específicas.

Ex: hemoglobina transporta oxigénio nas hemácias;

A mioglobina transporta oxigénio nos músculos: a transferina do plasma sanguíneo transporta ferro que é depois armazenado no fígado num complexo com ferritina (proteína).

Movimento coordenado – as proteínas são o principal componente do músculo.

A contração muscular faz-se pelo movimento deslizante de dois filamentos proteicos.

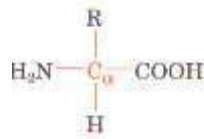
Nível microscópico – movimentos coordenados, como dos cromossomas na mitose e nos espermatozoides.

- **Sustentação mecânica** – a força de tensão da pele e do osso resulta da presença de colagénio (proteína fibrosa).
- **Proteção imunitária** – os anticorpos são proteínas específicas, que reconhecem e se combinam com substâncias estranhas (vírus, bactérias, células de outros organismos, etc.).
- **Geração e transmissão de impulsos nervosos** – a resposta das células nervosas a estímulos são feitas através de proteínas recetoras.
- **Controle do crescimento e da diferenciação** – o crescimento e a diferenciação são controlados por fatores proteicos de crescimento.

Aminoácidos

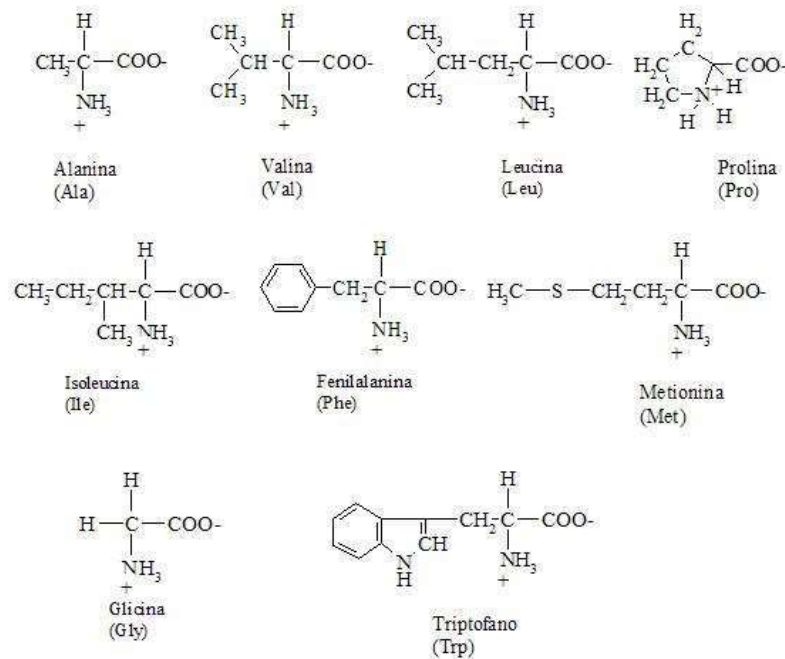
Contêm uma função ácida e uma função amina primária. No mundo vivo distinguem-se duas categorias. A primeira inclui vinte α -aminoácidos constitutivos de todas as proteínas; as funções amina e carboxilo encontram-se ligadas ao mesmo átomo de carbono designado por α .

A segunda abrange todos os outros aminoácidos, os que se encontram em estado livre e que desempenham muitas vezes funções metabólicas importantes e os que se encontram nalguns pequenos péptidos (menos de vinte aminoácidos) produzidos exclusivamente por micro-organismos ou por plantas. A primeira categoria (à exceção da prolina) corresponde à fórmula geral:

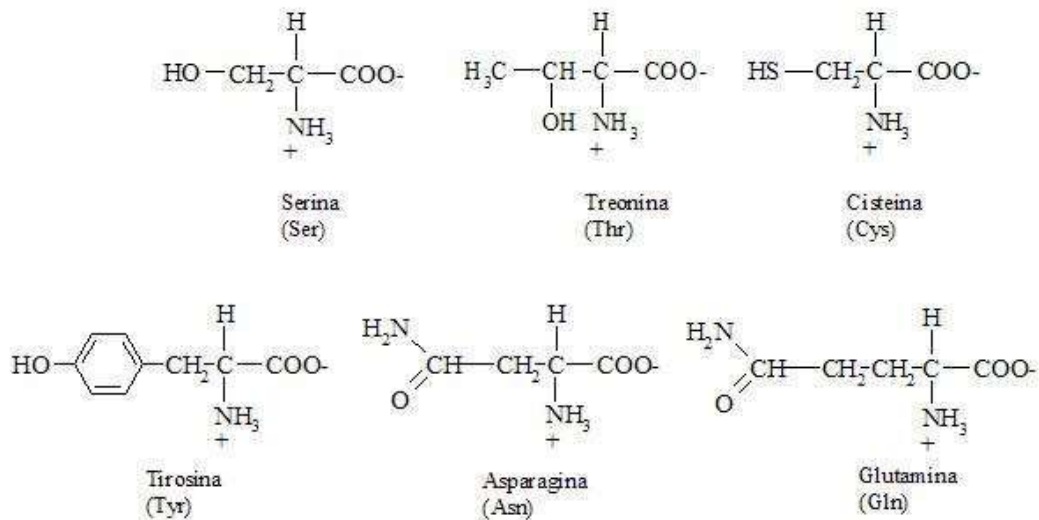


Os aminoácidos são constituídos por:

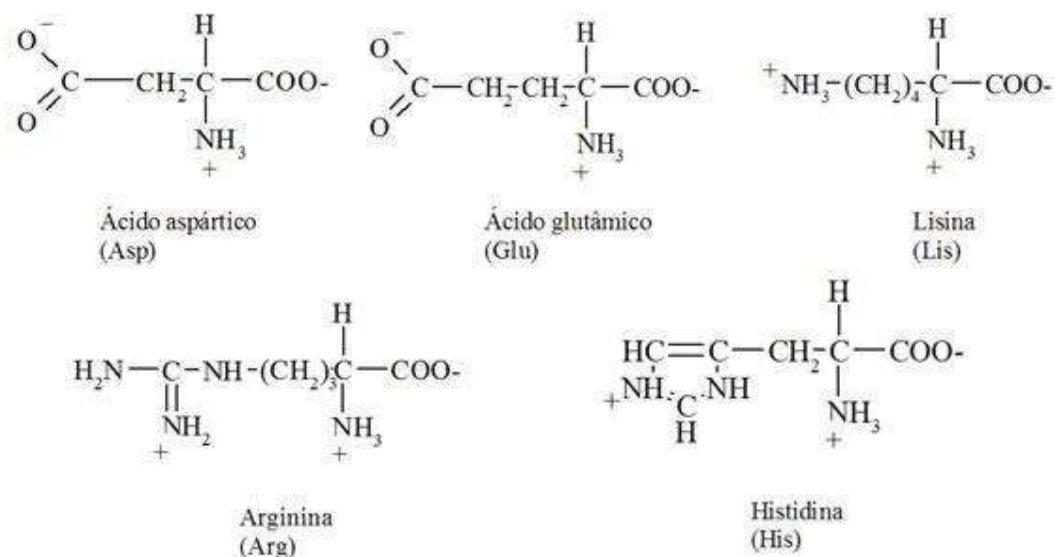
Um grupo amina; um grupo carboxilo; um átomo de hidrogénio; um grupo R (cadeia lateral).



Estrutura química, nome e abreviatura dos diferentes aminoácidos com grupos R apolares.



Estrutura química, nome e abreviatura dos diferentes aminoácidos com grupos R polares sem carga.



Estrutura química, nome e abreviatura dos diferentes aminoácidos com grupos R com carga.

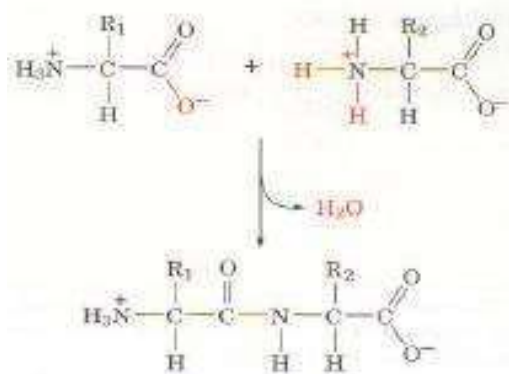
Propriedades Gerais

Os grupos amino e carboxilos tendem a ionizar-se. Assim, como o pK_1 (pK para o grupo carboxilo) ronda o valor 2,2 e o pK_2 (pK para o grupo amino) ronda o valor 9,4, isto vai implicar que no pH fisiológico o grupo amino esteja protonado e o grupo carboxilo esteja na sua forma ionizada COO^- . Conclui-se assim que um aminoácido pode comportar-se tanto como ácido como base. Moléculas como estas, que possuem grupos com cargas de sinal oposto são chamadas de **zwitteriões** ou **iões dipolares**.

Os aminoácidos, tal como outros compostos iónicos, são mais solúveis em solventes polares do que em solventes apolares. Estas propriedades iónicas dos aminoácidos vão influenciar as propriedades químicas e físicas de um aminoácido livre e dos aminoácidos em complexos proteicos.

Ligações peptídicas

Os aminoácidos podem ser polimerizados para formar cadeias; este processo pode ser representado como uma reação de condensação (em que há a eliminação de uma molécula de água). A resultante ligação CO-NH é a chamada ligação peptídica.



Polímeros compostos por dois, três, poucos ou vários aminoácidos são chamados dipeptídeos, tripeptídeos, oligopeptídeos e polipeptídeos, respetivamente. Depois de estarem incluídos num peptídeo, os aminoácidos individuais são designados por resíduos aminoácidos.

Polipeptídeos são polímeros lineares, em que cada resíduo aminoácido participa em duas ligações peptídicas; os resíduos das duas pontas do polipeptídeo apenas participam numa ligação peptídica. O resíduo que tem o grupo amino livre (por convenção, a ponta esquerda do aminoácido) é chamado N-terminal, assim como o resíduo com um grupo carboxilo livre (à direita) é designado por C-terminal. As proteínas vão ser moléculas que contêm uma ou mais cadeias polipeptídicas.

Propriedades ácido-base

Os α -aminoácidos possuem dois ou três grupos ácido-base. Nos valores baixos de pH, ambos os grupos estão totalmente protonados, predominando assim a forma catiónica. Ao longo de uma titulação com uma base forte, estes vão perder dois ou três prótons, formando uma curva característica de um ácido diprótico ou triprótico. Os valores de pH dos vários grupos podem ser calculados pela equação de Henderson-Hasselbalch:

$$pH = pK + \log [A^-]/[HA]$$

O pH a que a molécula adquirir carga eletrónica neutra é conhecido como ponto isoelétrico (pI):

$$pI = \frac{1}{2} (pK_i + pK_j)$$

“Os valores de pK dos grupos ionizáveis dependem de grupos próximos”

Os valores de pK_1 dos aminoácidos são muito menores do que o valor de pK de um simples ácido carboxílico. A grande diferença é causada pela influência eletrostática do grupo carregado de amônia. O grupo NH_3^+ estabiliza mais eletrostaticamente o grupo COO^- do que o grupo $COOH$. Igualmente o grupo NH_3^+ possui um pK mais baixo do que uma amina normal, devido à tendência eletrônica negativa do grupo carboxilo. Assim, ambas as características eletrônicas e eletrostáticas influenciam o pK do grupo NH_3^+ .

Estereoquímica

Todos os aminoácidos que derivam de proteínas (resíduos) têm uma configuração estereoquímica L. Uma molécula com n centros quirais possui 2^n diferentes possíveis estereoisômeros. Todos os aminoácidos L nas proteínas são S aminoácidos exceto a cisteína.

Outros aminoácidos para além dos 20 fundamentais

O código genético universal especifica apenas 20 aminoácidos. No entanto, muitos outros fazem parte de certas proteínas. Estes aminoácidos, na maior parte resultam de uma modificação específica de um resíduo aminoácido, depois de uma cadeia polipeptídica ter sido sintetizada. Também os grupos amino e carboxilo terminais de um polipeptídeo podem ser modificados, esta modificação é muito importante para a função da proteína.

Aminoácidos biologicamente ativos

Muitos aminoácidos são sintetizados não para serem resíduos de polipeptídeos, mas para funcionarem como independentes; muitos organismos usam aminoácidos para transportar azoto na forma de grupos amino.

Também podem ser oxidados de maneira a produzirem energia, assim como funcionar como mensageiros químicos para comunicação entre células.

Diversidade polipeptídica

Como os outros polímeros, as proteínas podem descrever-se em termos de níveis de organização, neste caso em estrutura primária, secundária, terciária e quaternária.

A estrutura primária é a sequência de aminoácidos da sua cadeia ou cadeias polipeptídicas, onde cada resíduo está ligado ao outro por uma ligação peptídica.

Com os 20 diferentes aminoácidos é possível obter um número astronómico de diferentes proteínas: para uma proteína de n resíduos, há 20^n possibilidades de os sequenciar.

Em geral, uma proteína contém pelo menos 40 resíduos, levando a que polipeptídeos mais pequenos que isso sejam apenas chamados de peptídeos; embora haja maiores, a maior parte dos polipeptídeos contém entre 100 e 1000 resíduos.

As proteínas vão depender mais da sua sequência de resíduos do que dos seus resíduos constituintes; podem também formar complexos com iões metálicos, como o Zn^{2+} e o Ca^{2+} ; podem ligar-se por ligações covalentes ou não covalentes a outras pequenas moléculas orgânicas e podem ser modificadas pela ligação covalente de grupos como fosfatos e hidratos de carbono.

Estrutura tridimensional

A estrutura primária de uma proteína é a sua sequência linear de aminoácidos. No entanto, no estudo da estrutura de proteínas, mais três níveis de complexidade estrutural são invocados:

Estrutura secundária: é o arranjo espacial dos átomos de um polipeptídeo, sem ter em conta conformações ou cadeias laterais;

Estrutura terciária: refere-se à estrutura tridimensional de um polipeptídeo completo;

Estrutura quaternária: como a maior parte das proteínas são compostas por duas ou mais cadeias polipeptídicas, então a sua estrutura quaternária será o arranjo espacial das várias cadeias.

Estrutura primária

As proteínas são o centro da ação dos processos biológicos. Quase todos os processos do metabolismo celular são catalisados por proteínas; as proteínas também regulam as condições extras e intracelulares, assim como são parte essencial da estrutura celular; enfim, uma lista de todas as funções proteicas teria milhares e milhares de alíneas.

Um dos passos para decifrar a função de uma proteína é compreender a sua estrutura: tal como as outras biomoléculas, as proteínas são polímeros de pequenas unidades, só que não possuem uma estrutura regular, em parte devido aos 20 aminoácidos seus constituintes não possuírem todas as mesmas propriedades físicas e químicas.



Estrutura secundária

O grupo dos péptidos

Estudos indicam que o grupo dos péptidos tem uma rígida e planar estrutura como resultado de interações de ressonância que dão à ligação peptídica um carácter duplo. Os grupos de péptidos assumem a conformação **trans**, na qual sucessivos átomos Ca^{2+} estão em lados opostos da ligação peptídica que os liga. No entanto, a conformação **cis** no caso da prolina tem uma ocorrência média de cerca de 10%.

A cadeia principal de uma proteína é constituída pelos átomos que participam nas ligações peptídicas, ignorando-se as cadeias laterais dos resíduos aminoácidos. Assim, na cadeia principal vai haver ângulos de torção para cada resíduo, de modo a adquirirem a conformação trans. Esta torção pode provocar colisões entre átomos adjacentes e mesmo entre átomos de resíduos que estão afastados da sequência.



Estruturas secundárias regulares

A hélice α

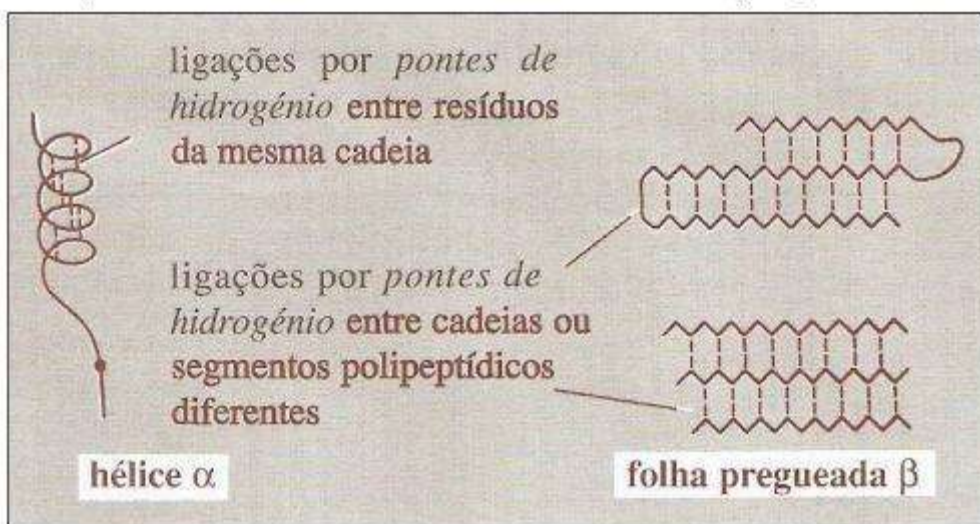
A hélice α é a única hélice polipeptídica que possui uma ligação de hidrogénio favorável.

A hélice α roda na direção na qual os dedos da mão direita dobras. As ligações de hidrogénio vão dar-se entre o oxigénio do grupo C=O e o hidrogénio do grupo N-H entre os resíduos n e $(n+4)$.

Folha β

Neste caso, a ligação de hidrogénio vai ocorrer entre polipéptidos vizinhos, formando duas variantes:

- **A folha β antiparalela:** em que as duas cadeias polipeptídicas se encontram em direções/posições opostas;
- **A folha β paralela (*menos estável, talvez devido à distorção das ligações por ponte de hidrogénio*):** em que as duas cadeias polipeptídicas estão em posição/direção igual, ou seja, “paralelas”. Também possui rotação dada segundo a regra da mão direita.



Proteínas fibrosas

Historicamente, as proteínas são classificadas como sendo fibrosas ou globulares.

A queratina (um “rolo enrolado”)

A queratina é uma proteína mecanicamente duradoura e que não reage quimicamente. Encontra-se presente em todos os vertebrados superiores. É a principal constituinte do cabelo, do “corno”, das unhas e das penas. A queratina pode ser classificada de α -queratina, que aparece nos mamíferos, e β -queratina, que se encontra nos pássaros e répteis.

A α -queratina vai ser o resultado do enrolamento “left-handed” de duas hélices- α , de maneira a formar um “rolo”; as duas hélices estão inclinadas cerca de 18° , uma em relação à outra.

Ao N e C terminais pode ligar-se outras queratinas (dímeros), de maneira a

formar um protofilamento. Dois protofilamentos constituem uma protofibrila e quatro protofibrilas dão origem a uma microfibrila. As microfibrilas associam-se a outras microfibrilas de forma a formarem macrofibrilas.

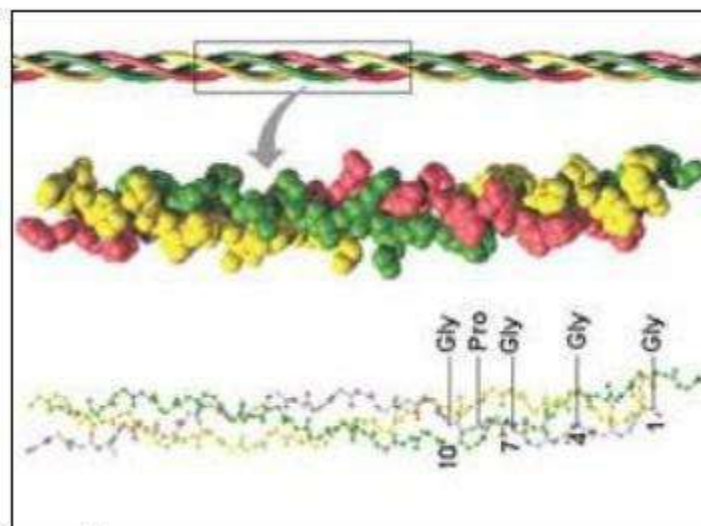
A α -queratina é rica em resíduos de cisteína, logo, forma ligações de dissulfureto. Estas ligações podem ser partidas (por meio de um “mercaptan”) e o “rolo” ser assim “esticado”, assumindo uma conformação do género da β -queratina.

Colagénio (a hélice tripla)

O colagénio, que aparece em todos os animais multicelulares, é composto por fibras fortes e insolúveis. É constituinte dos ossos, tendões, pele e vasos sanguíneos.

Uma molécula de colagénio é constituída por três cadeias polipeptídicas. Cada uma destas cadeias forma uma hélice “esquerda”, e as três hélices paralelas enrolam-se de forma “right-handed”, formando assim a estrutura da tripla hélice de uma molécula de colagénio.

No colagénio as ligações entre as hélices não são pontes de dissulfureto, pois quase não existem resíduos de cisteína. Assim, as ligações vão dar-se na lisina e na histidina da cadeia lateral.



Estruturas proteicas não repetitivas

Variações na estrutura secundária

A hélice- α frequentemente se desvia da sua conformação ideal nas suas curvas finais e iniciais da hélice. Similarmente, uma cadeia de polipeptídeos de uma folha β pode conter um resíduo extra que não “realiza” a ponte de hidrogénio com a cadeia vizinha, produzindo assim distorções.

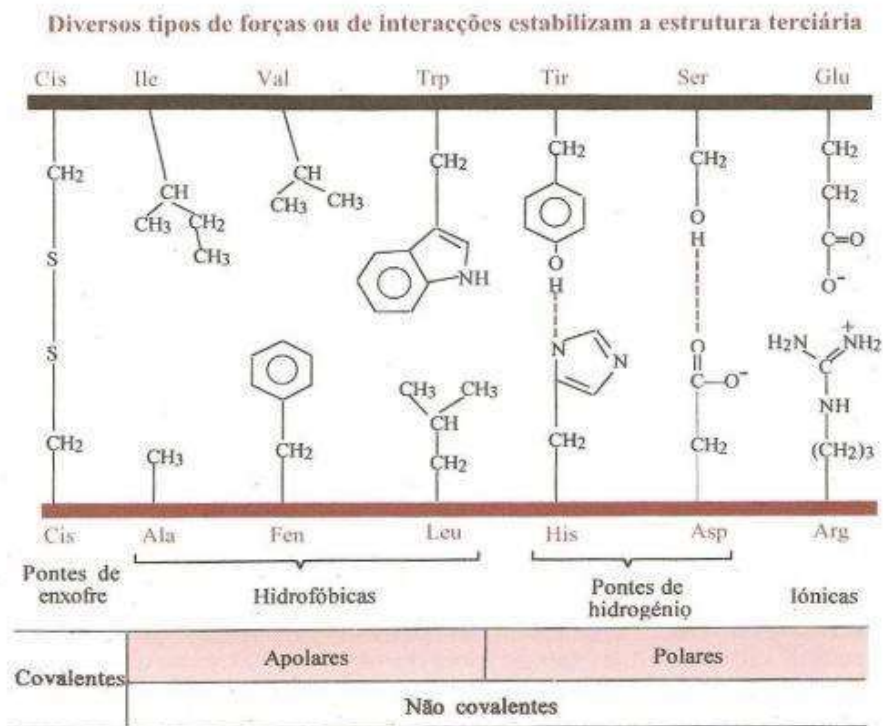
Voltas e loops

Segmentos de estruturas secundárias regulares, como hélices α ou folhas β são tipicamente unidos por cadeias polipeptídicas que abruptamente mudam de direção. Estas “voltas repentinas” quase sempre ocorrem na superfície da proteína. Podem ser

de dois tipos, ambos estabilizados por uma ponte de hidrogénio. Quase todas as proteínas com mais de 60 resíduos têm uma ou mais loops; estes loops são entidades globulares compactos, pois as suas cadeias laterais tendem a ser preservadas nas suas cavidades internas.

Estrutura terciária

A estrutura terciária das proteínas descreve o envolvimento das suas estruturas secundárias e especifica a posição de cada átomo na proteína.



Estrutura proteica

A estrutura proteica pode ser determinada por cristalografia de raios X. Nem todas as proteínas formam cristais, mas as que formam podem adquirir várias formas, formas essas que possuem 40% a 60% de água no seu volume total.

Na cristalografia de raios X, uma resolução de poucos Å (angstroms – $10^{-10}m$) não é suficiente para revelar a posição de átomos individuais, mas chega para observar a cadeia polipeptídica principal, logo, as cadeias laterais são deduzidas, obtendo-se assim o conhecimento da estrutura primária. Para determinar a estrutura de proteínas que não cristalizam, usam-se técnicas de ressonância magnética nuclear (NMR).

Estruturas Supersecundárias e Domínios

A posição das cadeias laterais varia com a polaridade

As estruturas primárias de proteínas globulares geralmente não comportam uma sequência regular. No entanto, as cadeias laterais de aminoácidos das proteínas globulares são espacialmente distribuídas de acordo com as suas polaridades:

- Os resíduos apolares aparecem quase sempre no interior da proteína, fora do contato com os solventes aquosos. Este efeito hidrofóbico é um dos grandes responsáveis pela estrutura tridimensional das proteínas.

- Os resíduos polares com carga estão normalmente localizados na superfície da

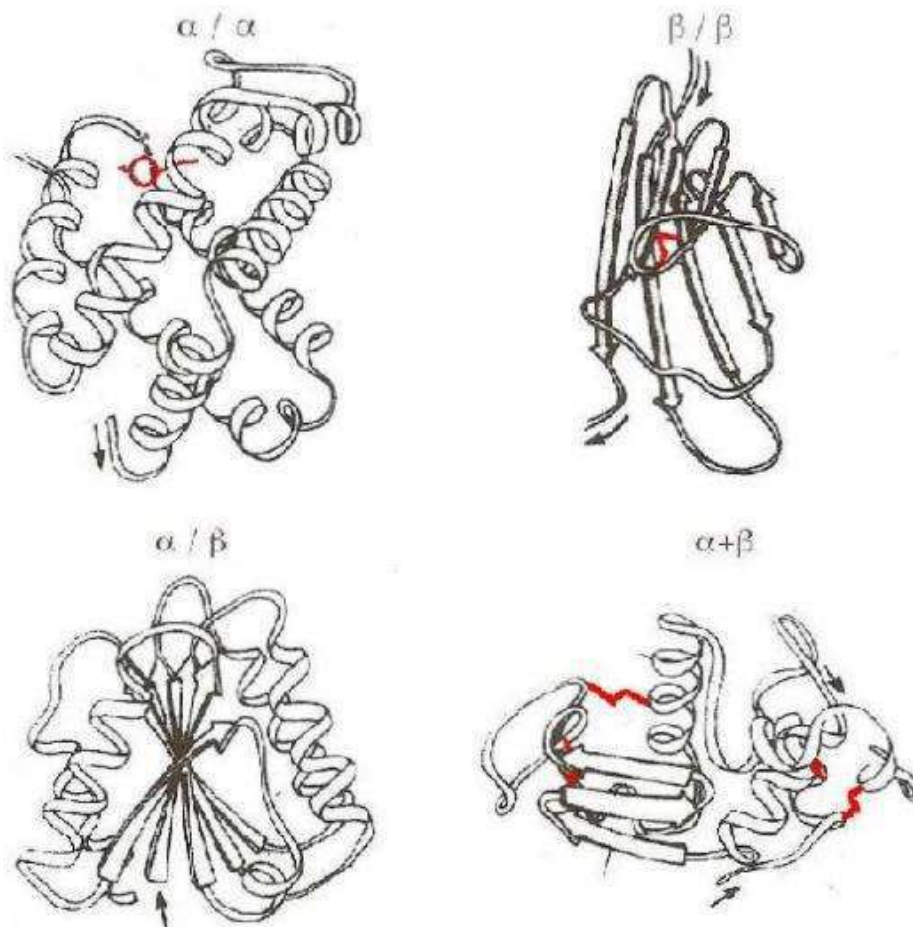
proteína, em contato com os solventes aquosos; tal fato é devido a um íão num meio virtualmente anidro se encontrar num estado energeticamente desfavorável.

- Os resíduos polares sem carga estão normalmente à superfície da proteína, mas também aparecem no seu interior, pois são eles que normalmente fazem as pontes de hidrogénio com os outros grupos.

Hélices e folhas podem ter várias combinações

As principais estruturas secundárias das proteínas (folhas β e hélices α), ocorrem nas proteínas globulares em variadíssimas proporções e combinações. Certos grupos de estruturas secundárias, chamados estruturas supersecundárias, ocorrem na maioria das proteínas globulares:

- A estrutura $\beta\alpha\beta$ é a mais comum, na qual uma hélice α se liga a duas cadeias paralelas de folhas β .
- A estrutura “ β -hairpin”, consiste em cadeias antiparalelas ligadas por voltas.
- A estrutura $\alpha\alpha$ consiste em duas hélices α antiparalelas sucessivas encostadas uma à outra, segundo um eixo inclinado.
- A estrutura barril β consiste em folhas β estendidas e enroladas de maneira a formar um cilindro.



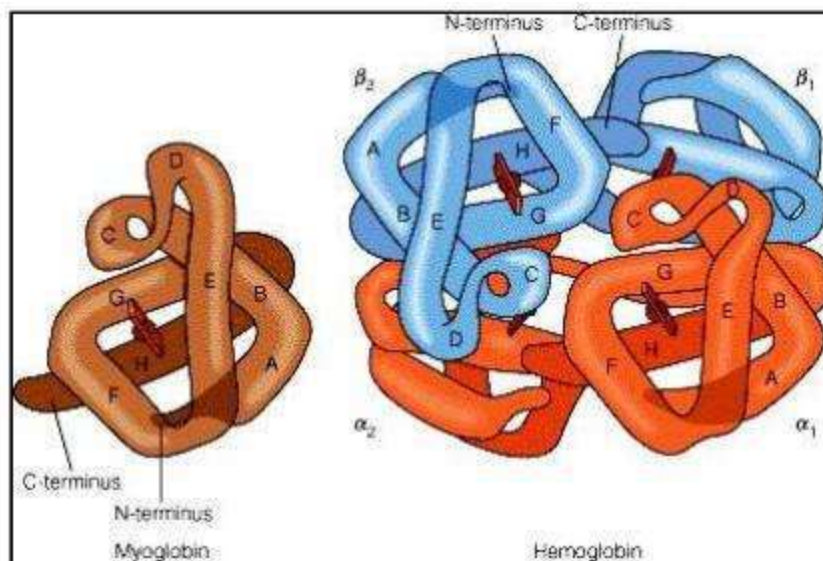
Domínios

Cadeias polipeptídicas com mais de 200 resíduos, usualmente juntam-se em dois ou mais empilhamentos globulares, chamados domínios. Estes domínios conferem à proteína uma aparência bi ou multilobal. Uma cadeia polipeptídica movimenta-se dentro de um domínio, mas domínios vizinhos estão apenas ligados por um ou dois segmentos polipeptídicos. Assim, muitos domínios são unidades estruturalmente independentes, que têm características de pequenas proteínas globulares.

Os milhares de estruturas proteicas conhecidas, revêm ainda um maior número de domínios existentes. Estes podem ser agrupados em famílias, tendo em conta o caminho seguido pelas suas cadeias polipeptídicas, sem ter em conta a sua sequência de aminoácidos. Comparando as estruturas dos vários domínios, chega-se à conclusão da existência de apenas algumas centenas de domínios. Surpreendentemente, poucas dúzias delas perfazem praticamente metade das estruturas proteicas conhecidas. Este fato leva a pensar que as estruturas proteicas estão, de algum modo, ligadas evolucionariamente.

Estrutura quaternária

A maior parte das proteínas consiste em mais do que uma cadeia polipeptídica. Estas cadeias estão associadas a uma geometria específica. O arranjo espacial destas subunidades é conhecido como a estrutura quaternária de uma proteína.



Uma proteína de várias subunidades pode possuir idênticas ou não idênticas cadeias polipeptídicas. Proteínas com mais de uma subunidade são chamadas oligômeros e as suas unidades protómeros; um protómero pode assim possuir uma ou várias cadeias polipeptídicas. A região de contato entre duas subunidades próximas assemelha-se ao interior de uma proteína de uma só unidade: possui cadeias laterais apolares, pontes de hidrogênio envolvendo as cadeias principais e laterais do polipeptídeo e, por vezes, pontes de dissulfureto.

Arranjos simétricos

Na vasta maioria de oligómeros, os protómeros encontram-se simetricamente arranjados. Como as proteínas não podem ter inversão ou simetria especular, para fazer um protómero coincidir com sua imagem no espelho seria necessário converter os resíduos L em D. Assim, as proteínas só podem ter simetria rotacional.

Pode existir simetria rotacional cíclica, onde os protómeros estão relacionados a um único eixo de rotação: C_1 , C_3 , C_n (n - número de subunidades). Há também a simetria rotacional diedral, em que um eixo interseca dois eixos de rotação: D_2 , D_n ($n-2n$ subunidades). Para além destes dois tipos de simetria rotacional, há ainda a considerar a ocorrência de simetrias rotacionais tetraédricas, octaédrica e icosaédricas.

Dobramento e estabilidade proteica

As medidas termodinâmicas indicam que a maior parte das proteínas apenas são relativamente estáveis em condições fisiológicas. São então os seus efeitos hidrofóbicos, as suas interações eletrostáticas e as suas pontes de hidrogénio que as vão estabilizar.

Forças que estabilizam uma proteína

O efeito hidrofóbico

O efeito hidrofóbico, que faz com que substâncias apolares minimizem o seu contato com a água, é o efeito mais determinante de uma estrutura proteica.

A agregação de cadeias laterais apolares no interior da proteína é favorecida pelo aumento da entropia das moléculas de água que em caso contrário se organizariam ordenadamente à volta dos grupos hidrofóbicos.

Interações eletrostáticas

No interior das proteínas, as forças de **Van der Waals**, embora fracas, são uma importante influência estabilizadora, pois atuam apenas a pequenas distâncias e desaparecem quando a proteína é “desenrolada”. As pontes de hidrogénio contribuem de uma forma minoritária para a estabilidade da molécula, porque também à formação de pontes de hidrogénio entre a proteína e a água.

A associação de dois grupos iónicos de cargas opostas é chamada de par iónico ou ponte salina. Este caso ocorre na maior parte dos resíduos carregados e contribui também para a estabilização de uma proteína, embora de forma minoritária, pois a energia livre de um ião não compensa a perda de entropia e de energia livre aquando da formação de um par iónico.

Ligações químicas cruzadas

As ligações de dissulfureto não são essenciais na estabilidade, pois uma proteína sem estas ainda é estável, mas têm um importante papel sob o ponto de vista estrutural.

Os iões metálicos que aparecem em muitas proteínas podem interagir com ligandos presentes em muitos resíduos aminoácidos, contribuindo assim para alguma estabilização.

Proteínas plasmáticas

Hemoglobina e Mioglobina

As proteínas desempenham papéis importantes no nosso organismo, tais como o transporte de oxigénio pelas células sanguíneas e a fixação do mesmo nas células musculares.

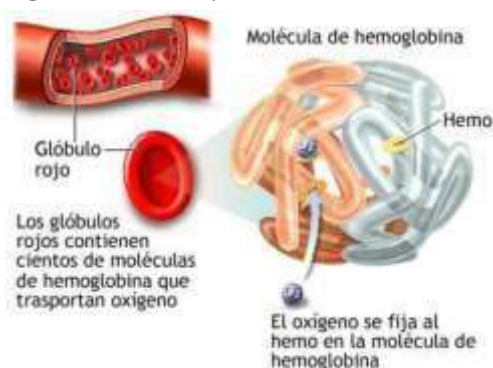
A mioglobina e a hemoglobina pertencem a um grupo de proteínas muito especial, os heteroprótidos. Estes são formados por um polipeptídeo ligado a um componente não proteico – grupo prostético. Os cromoprótidos recebem este nome porque são pigmentos, ou seja, moléculas coradas devido ao grupo não proteico. Deste subgrupo fazem parte por exemplo a porfirina a mioglobina e a hemoglobina.

A mioglobina é uma proteína globular constituída por 153 aminoácidos, que contém um grupo prostético – heme – **no centro**. Ela é o principal pigmento carregador de oxigénio dos tecidos musculares, contudo, não realiza o transporte de oxigénio pela corrente sanguínea, como a hemoglobina o faz. É portanto uma proteína globular que surge largamente no tecido muscular como transportador de oxigénio. É composta por uma única cadeia polipeptídica e um grupo heme que se liga irreversivelmente a uma molécula de oxigénio. É apenas libertada em casos de concentrações de oxigénio relativamente baixas, por exemplo aquando um exercício físico com grande esforço ou seja quando a necessidade de oxigénio no músculo é superior ao fornecido pelo sangue.

A mioglobina é assim uma reserva de emergência de oxigénio. É também uma das proteínas responsáveis pela cor das carnes. O seu papel é muito eficaz aquando dos mergulhos prolongados dos grandes mamíferos tais como as baleias, cachalotes e focas, libertando grandes quantidades de O_2 .

A hemoglobina é o transportador de oxigénio nas hemácias, sendo constituída por quatro cadeiras polipeptídicas, duas α e duas β . As quatro mantêm-se juntas por ligações não covalentes. Cada uma contém um grupo heme e um só centro de ligação ao oxigénio. Segundo Caria, “o grupo heme, responsável pelo nome da proteína, pode ligar-se ao Fe(II) designado-se então ferrohemoglobina, ou ao Fe (III) designando-se ferrihemoglobina. Apenas a ferrohemoglobina possui afinidade para o oxigénio”.

A hemoglobina A, a principal dos adultos, é constituída por duas cadeias alfa (α) e duas beta (β). Uma outra hemoglobina nos adultos (cerca de 2% da hemoglobina total) é a hemoglobina A_2 , na qual as cadeias β são constituídas por cadeias delta (δ). Sendo assim, a composição da hemoglobina A é $\alpha_2\beta_2$ e da hemoglobina A_2 é $\alpha_2\delta_2$.



As propriedades alostéricas da hemoglobina surgem de interações entre as suas subunidades. Tendo quatro grupos heme, tem a possibilidade de ligar-se a quatro moléculas de oxigênio. A libertação da primeira molécula de oxigênio não é fácil, mas uma vez libertada, facilita a libertação das restantes três moléculas. A unidade funcional da hemoglobina é um tetrâmero que consiste em dois tipos de cadeias polipeptídicas.

Alterações patológicas da Hemoglobina

Anemia Falciforme ou Drepanocitose – quando a HbA1 se altera em dois $\alpha\alpha$, passa a designar-se HbS, isto altera a forma dos glóbulos vermelhos os quais tomam forma de foice, forma esta associada à anemia hemolítica, esta anemia causada pela fragilidade dos glóbulos vermelhos. Trata-se de uma alteração hereditária por um gene recessivo e comum em certas zonas de África. Os indivíduos homocigóticos apresentam a doença e os heterocigóticos não apresentam.

Alterações pelas Hemoglobinas M

A hemoglobina apresenta uma alteração estrutural junto ao grupo heme, o que origina uma dificuldade na ligação ao O_2 . Os indivíduos caracterizam-se por terem uma coloração cianótica da pele.

Coagulação do sangue

A coagulação é um mecanismo que permite o nosso organismo evitar perdas excessivas de sangue e a consequente invasão de organismos pela abertura dos vasos sanguíneos e tem como vantagem económica o fato de aumentar a concentração dos fatores de coagulação em caso de necessidade uma vez que estes se mantêm em concentrações baixas, para permitir a fluidez do sangue. A fibrina é então sintetizada com maior velocidade.

Relativamente à vantagem de regulação, a cascata de coagulação atua como um sistema de homeostasia, impedindo o estabelecimento de patologias graves como as trombozes. A fluidez com que o sangue circula dentro dos vasos sanguíneos no organismo depende das propriedades físicas do endotélio vascular (camada celular que reveste o interior dos vasos), da velocidade do fluxo sanguíneo, do número de células sanguíneas e da presença de anticoagulantes naturais, como a heparina, por exemplo.

No exterior dos vasos sanguíneos, o sangue perde rapidamente a sua fluidez, tornando-se inicialmente viscoso e adquirindo gradualmente uma consistência gelatinosa. De maneira simplificada, admite-se que o mecanismo de coagulação do sangue consiste numa extensa reação em cadeia, na qual participam diversas substâncias sanguíneas e celulares que agem uma sobre as outras, levando à formação de uma proteína especial, a fibrina, responsável final pelo processo de coagulação.

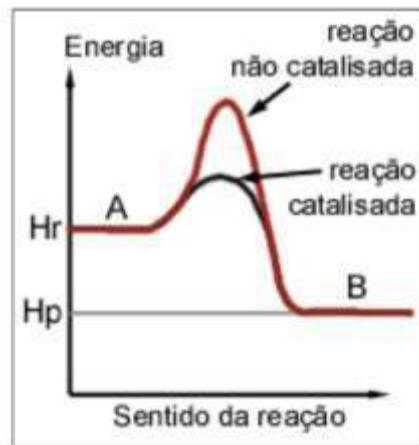
Enzimas

Os enzimas são catalisadores biológicos (proteínas) presentes em todos os organismos vivos, estas biomoléculas têm a capacidade de acelerar reações vitais, abreviam o tempo natural em que as reações ocorrem:

- Peso molecular elevado;
- Não dialisáveis;
- Os aminoácidos são os produtos de hidrólise;
- Sensíveis aos enzimas proteolíticos (tripsina, pepsina);
- Absorvem a luz UV;
- São muito sensíveis à temperatura (desnaturam-se pelo calor);
- Sofrem desnaturação em meios excessivamente ácidos ou básicos.

Esses catalisadores atuam através da reação com o **substrato**, de tal modo que se forma uma entidade complexa, constituída pelo enzima ligado ao substrato. Esta entidade “complexo enzima-substrato” é pouco estável e altera-se rapidamente, dando origem ao produto (ou produtos) da reação, libertando-se o enzima intato.

A ligação entre o enzima e o substrato ocorre numa região da proteína designada **centro ativo**. O complexo enzima-substrato reduz por instantes a **energia de ativação** da reação, tornando mais fácil a sua ocorrência.



Os enzimas são catalisadores **altamente específicos**, ou seja, para cada substrato devem existir poucas, ou apenas um enzima. Considera-se que a especificidade dos enzimas se deve à configuração dos aminoácidos que constituem o centro ativo. Graças a esta configuração, este centro tem a capacidade de se ligar a determinada estrutura e não a outra, por vezes até muito semelhante. A nomenclatura é feita a partir do nome do substrato sobre o qual o enzima atua, seguido da terminação *ase*. Por exemplo: *lactase*, que catalisa a hidrólise da lactose; *maltase*, que catalisa a hidrólise da maltose.

O termo é derivado de "en" = dentro e "zima" = levedura.

Na **digestão**, os enzimas catalisam as reações que quebram as ligações químicas das biomoléculas, permitindo que elas se transformem em fragmentos mais simples, capazes de serem absorvidos e metabolizados.

“Na ausência dos enzimas, as reações bioquímicas seriam demasiado lentas para suportar a vida.”

A **lactose** é o açúcar encontrado no leite, sendo constituído por uma molécula de **glucose** ligada a uma molécula de galactose. A lactose é produzida pela glândula mamária e ocorre apenas no leite. A deficiente produção de **dissacaridases** acarreta problemas digestivos importantes, dos quais se pode salientar o caso da deficiência em lactase. Nas crianças esta deficiência não permite a correta digestão de um alimento fundamental, o leite, conduzindo a sintomas tais como espasmos e diarreia.

Nos adultos, este problema também acontece, limitando as quantidades de leite que os indivíduos podem ingerir. Como alternativa a não ingerir alimentos com lactose, o que pode conduzir a problemas de nutrição, existem medicamentos que contêm lactase. Desta forma os indivíduos com esta deficiência passam a ser capazes de digerir alimentos que contenham lactose.

Classificação dos Enzimas

Os enzimas podem ser classificadas de acordo com vários critérios e dividem-se em seis classes:

1. **Oxidoredutases:** São enzimas que catalisam reações de transferência de eletrões, ou seja: reações de oxidação-redução. São as Desidrogenases e as Oxidases.
2. **Hidrolases:** Catalisam reações de hidrólise de ligação covalente. Ex: As peptidases.
3. **Liases:** Catalisam a quebra de ligações covalentes e a remoção de moléculas de água, amónia e gás carbónico. As desidratases e as descarboxilases são bons exemplos.
4. **Isomerases:** Catalisam reações de interconversão entre isómeros óticos ou geométricos. As epimerases são exemplos.
5. **Ligases:** Catalisam reações de formação de novas moléculas a partir da ligação entre duas já existentes, sempre às custas de energia (ATP). São as Sintetases.
6. **Transferases:** Enzimas que catalisam reações de transferência de grupos funcionais como grupos amina, fosfato, acil, carboxil, etc. Como exemplo temos as Quinases e as Transaminases.

Enzimas na medicina

Os enzimas podem ser utilizados nas Análises Clínicas de duas formas principais: Como reagentes altamente específicos e sensíveis em reações colorimétricas quantitativas.

Como indicadores de lesão celular e tecidual. O extravasamento de enzimas do meio intra para o meio extracelular leva a um aumento da atividade destes no sangue. Esta atividade pode ser medida e fornece importante informação diagnóstica e de evolução de um quadro clínico. A distribuição órgão-específica de alguns destes enzimas permite a localização da lesão com elevada precisão.

Exemplos de doenças que podem ser diagnosticadas e acompanhadas enzimaticamente:

- O Enfarte Agudo do Miocárdio;
- As Hepatites;
- A Pancreatites;
- As Colestases;
- Doenças Ósseas, etc.

Catálise Enzimática

A catálise enzimática difere de uma catálise química tradicional em vários aspetos importantes:

1 - Grande aumento da velocidade de uma reação (de 10^5 a 10^{17} vezes superior à velocidade da mesma reação não-catalisada);

2 - Condições mais suaves de reação, ou seja, as condições em que reações catalisadas por enzimas são médias: temperaturas abaixo dos 100°C , pressão atmosférica e pH próximo do fisiológico;

3 - Especificidade muitíssimo elevada, que tem a ver com a natureza do substrato e dos produtos finais da reação; o enzima “reconhece” seu substrato e catalisa a sua reação de tal forma que raramente são formados produtos laterais (indesejados) da reação;

4 - Capacidade de regulação, a atividade catalítica de muitos enzimas varia de acordo com a concentração de substrato. Os mecanismos de regulação incluem **controle alostérico, modificação covalente de enzimas e variação da quantidade de enzima sintetizada**;

Especificidade do substrato

As forças não-covalentes pelas quais substratos e outras moléculas se ligam aos enzimas, envolvem **forças de Van der Waals, eletrostáticas, pontes de hidrogénio** e interações hidrofóbicas. Em geral, o local de ligação do substrato consiste num “buraco” na superfície da enzima que tem complementaridade com a forma geométrica do substrato; este modelo tem como base o modelo da “chave -fechadura” proposto por **Emil Fisher** em 1894 e já abandonado, visto que a ligação enzima-substrato não se resume apenas à complementaridade geométrica entre ambos. Como veremos mais adiante, esta complementaridade geométrica é uma condição necessária mas não suficiente para uma catálise eficiente.

Os enzimas são altamente específicos na sua ligação a substratos quirais e na catálise das reações. Esta estereoespecificidade tem origem na quiralidade inerente a todas as proteínas (as proteínas possuem apenas L-aminoácidos), que formam centros ativos assimétricos. Como veremos, quase todos os enzimas que participam em reações quirais são absolutamente estereoespecíficos.

Em adição à sua estereoespecificidade, muitos enzimas são muito seletivos quanto à identidade dos grupos químicos nos seus substratos. Assim sendo, uma substância com a quiralidade errada não encaixará no centro ativo do enzima, pela mesma razão de que não conseguimos encaixar a nossa mão direita numa luva esquerda. Muito poucos enzimas são específicos unicamente para um substrato, catalisando geralmente uma pequena porção de compostos quimicamente relacionados: o YADH catalisa a reação de vários pequenos álcoois primários e secundários nos seus respetivos aldeídos e cetonas, mas nenhum tão eficazmente como o etanol. Esta especificidade geométrica é bastante mais restrita do que a estereoespecificidade.

Cofatores e Coenzimas

Os grupos funcionais das proteínas podem facilmente participar em reações ácido/base, formando certos tipos de ligações covalentes e tomam parte nas interações carga/carga. São assim piores para catalisar reações redox mas, apesar disso, os enzimas catalisam estas reações, graças à associação nestas de pequenas moléculas, **cofatores**, que agem como “dente químico” do enzima.

Os cofatores são geralmente iões metálicos, Cu^{2+} , Fe^{3+} ou Zn^{2+} . A natureza essencial destes compostos explica porque os organismos necessitam deles nas suas dietas (de outra forma não os conseguiriam produzir e as catálises enzimáticas dentro dos próprios organismos não seriam eficazes). Explica-se da mesma forma da mesma maneira a toxicidade do Hg^{2+} e do Cd^{2+} que são do mesmo grupo da Tabela Periódica, substituindo o Zn^{2+} e o Cu^{2+} como cofatores, inativando os enzimas.

Os cofatores também podem ser moléculas orgânicas, sendo nesse caso denominados como **coenzimas** e funcionam essencialmente como cosubstratos. Um exemplo de uma molécula deste tipo é o NAD^{2+} (nicotinamida).

Outros cofatores chamados **grupos prostéticos** estão geralmente associados ao enzima por ligações covalentes. Um complexo enzima-cofator cataliticamente ativo é chamado **holoenzima**;

Quando se remove o cofator da holoenzima, resulta uma proteína cataliticamente inativa, denominada **apoenzima**.

Regeneração

Os coenzimas são alterados quimicamente pela reação enzimática em que participam. Assim, para completar o ciclo catalítico, o coenzima tem de voltar ao seu estado inicial. Nos grupos prostéticos a regeneração ocorre numa fase separada da sequência da reação enzimática.

Muitas vitaminas são coenzimas

Muitos organismos não são capazes de sintetizar certos coenzimas. Assim, essas substâncias têm de estar presentes na dieta desse organismo. Certas vitaminas estão assim nesta lista de coenzimas e a sua carência pode provocar uma série de doenças provocadas por catálises enzimáticas incompletas.

Mecanismos catalíticos

Os enzimas, tal como outros catalisadores, baixam a energia de ativação duma determinada reação. O que os torna tão eficientes, é o fato de terem uma enorme especificidade de ligação ao substrato, combinada com o arranjo dos seus grupos catalíticos e com a combinação de vários mecanismos catalíticos que serão agora descritos. Existem assim **seis grupos** de catálises empregues pelos enzimas.

1 - Catálise ácido-base

A catálise ácida é, geralmente, um processo no qual prótons parciais se transferem de um ácido e vão baixar a energia de transição de uma reação.

Uma reação pode também ser estimulada por catálise básica se a sua velocidade for aumentada por remoção parcial de prótons por uma base.

Algumas reações podem ser simultaneamente sujeitas aos dois processos. Muitas reações bioquímicas são suscetíveis a catálise ácido-base; as cadeias laterais de alguns resíduos proteicos possuem pK' s perto do pH fisiológico, que vai assim permitir que ajam como catalisadores ácidos ou básicos. Assim, a habilidade dos enzimas em arranjar vários grupos catalíticos em volta do seu substrato, faz com que a catálise ácido-base seja um mecanismo de catálise enzimática bastante comum. Logo, vem que a atividade catalítica destes enzimas é sensível ao pH, já que o pH influencia o estado de protonação das cadeias laterais do centro ativo.

2 - Catálise covalente

A catálise covalente acelera a reação através da formação de uma ligação covalente catalisador-substrato. Normalmente, esta ligação covalente é formada pela reação de um grupo nucleófilo catalisador com um eletrófilo no substrato.

A catálise covalente pode ser decomposta em três partes:

1. A reação nucleófila entre o catalisador e o substrato para formar uma ligação covalente;
2. A troca de elétrons do centro da reação com o agora eletrofílico catalisador;
3. A eliminação do catalisador, uma reação que é essencialmente a inversa de 1.

Um aspeto importante da catálise covalente é que quanto mais estável for a ligação covalente formada, menos facilmente se decompõe a reação nos seus passos finais. Assim, vem que uma boa catálise covalente é aquela que combina o poder nucleófilo com a habilidade de reverter formação dessa mesma ligação, tal como o fazem certos coenzimas.

3 - Catálise metal-iónica

Perto de um terço de todos os enzimas conhecidos necessitam da presença de iões metálicos para a atividade catalítica. Este grupo de enzimas inclui os metaloenzimas que contêm como cofatores iões metálicos (como o próprio nome indica). Os enzimas metal-ativados, em contraste, ligam metais iónicos de soluções, normalmente metais alcalinos ou alcalino-terrosos.

Os iões metálicos participam no processo catalítico de três formas principais:

1. Ligando-se aos substratos, de maneira a orientá-los adequadamente para a reação;
2. Permitindo reações redox, através de mudanças reversíveis nos seus estados de oxidação;
3. Através de estabilização eletrostática ou “blindando” cargas negativas.

Muitas das reações catalisadas por íons metálicos, os íons funcionam tal qual um próton, neutralizando uma carga negativa. No entanto, estes íons têm a vantagem de poderem existir em mais altas concentrações a pH neutro e de possuírem cargas superiores a +1.

4 - Catálise eletrostática

A ligação de um substrato geralmente exclui a água do centro ativo dum enzima. Assim, pode dizer-se que o centro ativo tem as características polares dum solvente orgânico, onde as interações eletrostáticas são muito mais fortes que numa solução aquosa.

Depois de muito estudo, verificou-se que as distribuições de carga à volta do centro ativo de um enzima estão arrançadas de maneira a estabilizar os estados de transição das reações catalisadas. Por outro lado, em muitos enzimas as distribuições das cargas vão, aparentemente, guiar substratos polares aos sítios da ligação, aumentando assim a velocidade da reação.

5 - Catálise através de proximidade e efeitos de orientação

Embora os mecanismos catalíticos dos enzimas se assemelham aos modelos das reações orgânicas, são muito mais eficientes do que estes últimos. Tal eficiência deve advir das condições físicas específicas nos centros ativos dos enzimas, que promovem a correspondente reação química.

Os efeitos mais óbvios são proximidade e orientação: os reagentes têm de se “unir” ao enzima com a relação espacial própria, de forma a poder dar-se a reação. Assim, por simplesmente ligarem os seus substratos, os enzimas facilitam a reação em três aspetos:

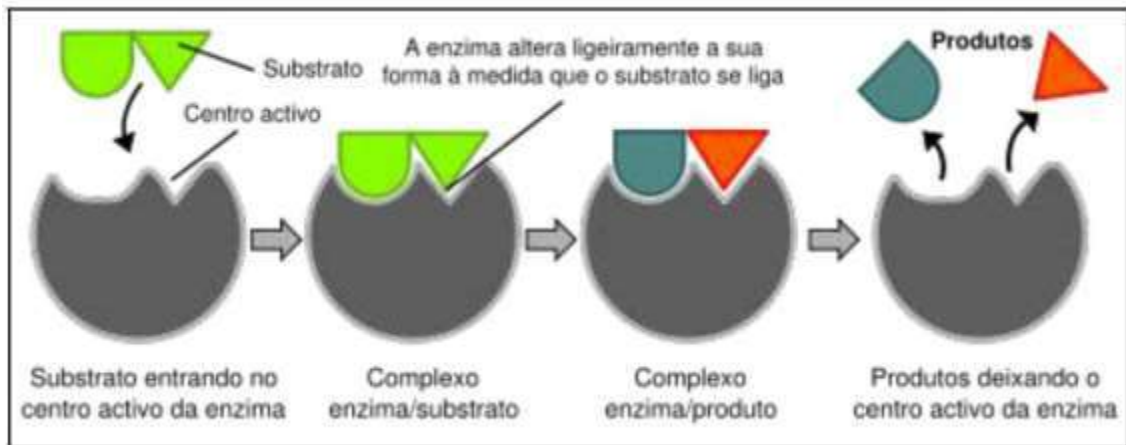
1. Os enzimas levam os substratos ao contato com os seus grupos catalíticos;
2. Os enzimas ligam os seus substratos na orientação adequada para a reação;
3. Os enzimas param as deslocações de translação e rotação dos substratos e grupos catalíticos. Este aspeto é importante pois favorece o aparecimento do estado de transição, onde os movimentos relativos aos compostos são mínimos.

6 - Catálise por preferência de ligação do estado de transição

Até agora ainda não se considerou um dos mais importantes mecanismos de catálise enzimática: um enzima pode ligar o estado de transição da reação que catalisa com maior afinidade que os substratos ou produtos. Assim, vem que os enzimas que se ligam preferencialmente ao estado de transição aumentam a concentração deste, aumentando assim proporcionalmente a velocidade da reação.

Por este fato, os estados de transição análogos são inibidores da reação, uma vez que o enzima os “agarra” como se fossem a molécula a catalisar, inativando-o. Acontece por vezes que estes análogos tenham maior afinidade com o enzima do que a molécula que pretendemos catalisar.

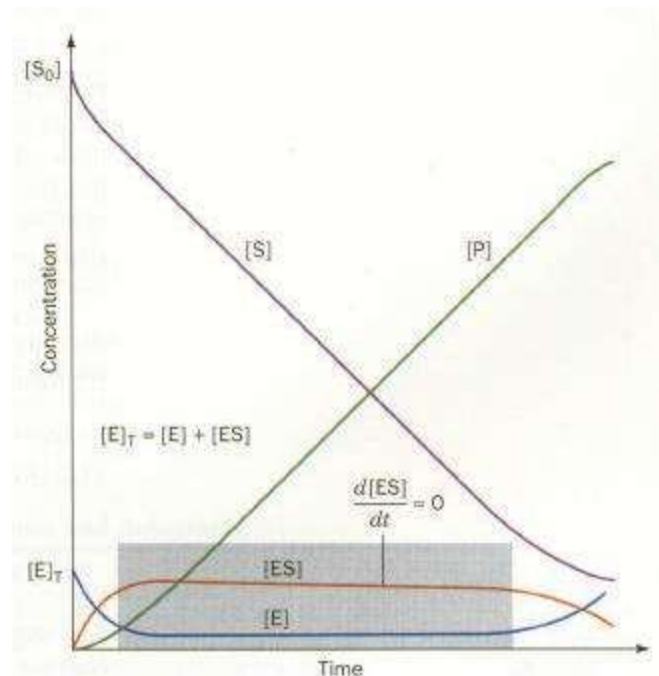
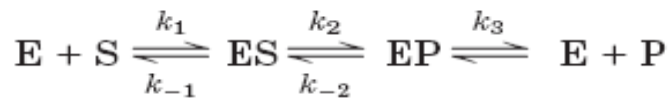
Cinética Enzimática



Propriedades cinéticas de enzimas (Modelo de Michaelis – Menten)

Geralmente, a velocidade de catálise V varia com a concentração do substrato $[S]$. De tal forma que, para uma concentração fixa de enzima, V é quase linearmente proporcional a $[S]$, quando $[S]$ é pequena. Por outro lado, quando a concentração $[S]$ tem valores elevados, a velocidade de catálise é praticamente independente de $[S]$.

O modelo proposto por **Michaelis-Menten** explica as propriedades cinéticas dos enzimas.



Progressão das curvas para uma reação simples catalisada por um enzima. Com exceção da fase inicial da reação, os declives das curvas de $[E]$ e $[ES]$ são essencialmente zero enquanto $[S] \gg [E]$.

Um enzima [E] combina-se com o substrato [S] para formar o complexo [ES], com uma constante de velocidade K_1 . O complexo [ES] pode dissociar-se em [E] e [S], com uma constante de velocidade K_2 , ou pode prosseguir para formar o produto [P], com uma constante de dissociação K_3 .

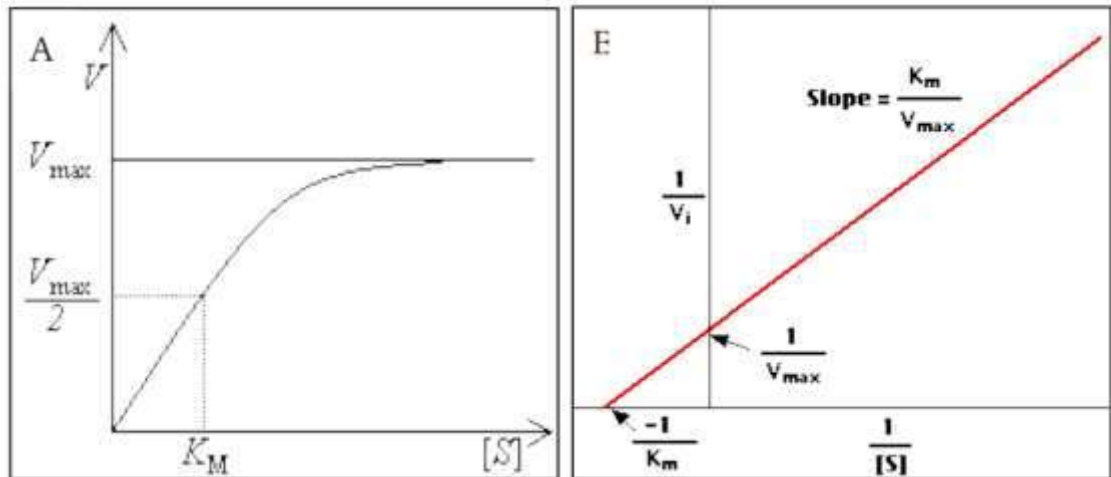
A equação que explica as propriedades cinéticas das enzimas é a equação de Michaelis-Menten :

$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

sendo $K_m = (K_2 + K_1) / K_3$ a constante de Michaelis.

De acordo com a equação, verifica-se que para concentrações muito baixas de [S], quando [S] muito menor que K_m , $V = [S] V_{\max} / K_m$; ou seja, a velocidade é directamente proporcional a [S]. Para concentrações muito elevadas de substrato, quando [S] é muito maior do que K_m , $V = V_{\max}$; ou seja, a velocidade máxima é independente da concentração do substrato.

Quando a concentração de substrato [S] é igual ao valor de K_m , a velocidade de reação é metade da sua velocidade máxima; isto é, $V = \frac{1}{2} V_{\max}$.



A - O gráfico de V_0 (velocidade inicial) de uma reação enzimática simples vs. [S] B - Gráfico de reciprocidade dupla (Lineweaver-Burk).

Os valores de V_{\max} e K_m podem ser determinados fazendo variar a concentração de [S] a partir da linearização de Lineweaver-Burk, a qual transforma a equação de Michaelis-Menten num gráfico em linha reta de $1/V$ em função de $1/[S]$, o qual intersecta o eixo de $1/V$ no ponto $1/V_{\max}$ com uma inclinação de K_m/V_{\max} .

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max} [S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

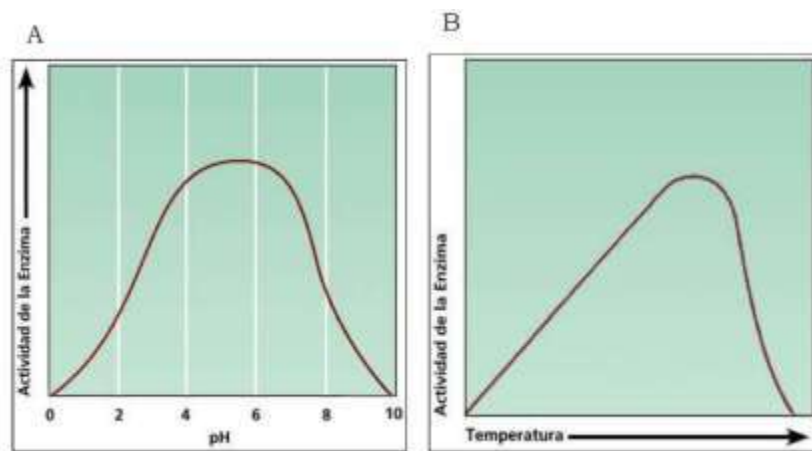
Alterações na Atividade Enzimática

Influência do pH na atividade enzimática

A atividade catalítica aumenta, à medida que o pH aumenta. No entanto, ao atingir um determinado valor de pH, a atividade catalítica atinge o seu máximo - pH ótimo. A partir deste valor de pH, a atividade catalítica dos enzimas começa a diminuir, dado que valores pH muito elevados originam a desnaturação das proteínas.

Influência da Temperatura na atividade enzimática

À medida que a temperatura aumenta, a atividade catalítica aumenta também, até atingir um determinado valor - **Temperatura Ótima**. A partir desta temperatura, que corresponde ao valor máximo de atividade enzimática, a atividade catalítica começa a diminuir, pois, a temperaturas elevadas inicia-se a desnaturação térmica das proteínas.



A – Gráfico da influência do pH na atividade enzimática
B - Gráfico da influência da Temperatura na atividade enzimática

Inibição enzimática

Os enzimas podem sofrer dois tipos de inibição:

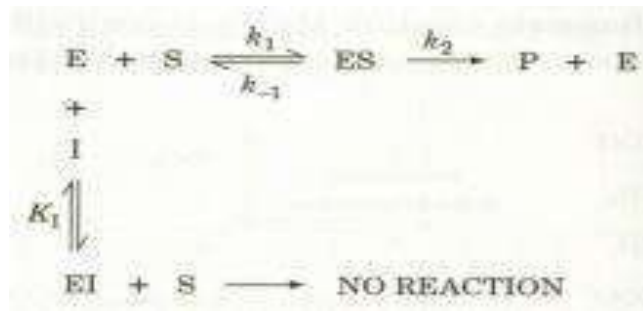
- A inibição reversível, que é caracterizada por uma dissociação rápida do complexo enzima-inibidor;
- A inibição irreversível, na qual o inibidor se dissocia muito lentamente do “enzima-alvo”.

A inibição reversível pode ser de três tipos

1 - Inibição competitiva: o enzima pode ligar-se ao substrato (formando um complexo ES) ou ao inibidor (formando o complexo EI), porém nunca se pode ligar aos dois (ESI).

Um inibidor competitivo é semelhante ao substrato, ligando-se ao centro ativo do enzima, impedindo assim que o substrato se ligue ao centro ativo do enzima. Portanto, este tipo de inibidor diminui a velocidade de catálise, reduzindo a proporção de moléculas de enzima ligadas a um substrato.

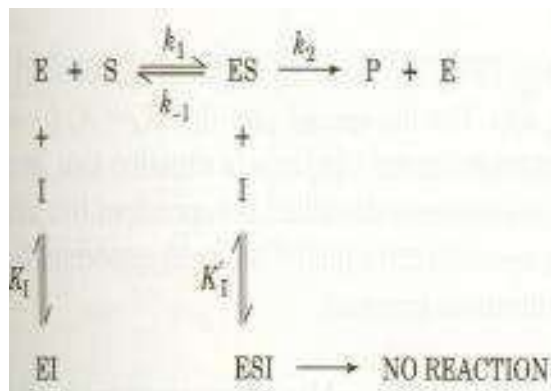




2 - Inibição não competitiva: o substrato e o inibidor podem ligar-se ao enzima em simultâneo. Então, um inibidor não competitivo age pela diminuição do número de renovação, em detrimento da diminuição da quantidade de complexos ES.



3 - Inibição mista: um inibidor tanto afeta a ligação do substrato, quanto altera o número de renovação.



As inibições competitivas são cineticamente distinguíveis das não competitivas, ou seja, na presença de um inibidor competitivo a equação (1) é substituída por:

$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{\alpha K_m + [S]}$$

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I} \quad \text{and} \quad K_I = \frac{[E][I]}{[EI]} \quad (3)$$

Na qual [I] é a concentração do inibidor e K_I é a constante de dissociação do complexo E-I ($K_I = [E] * [I] / [EI]$). Na inibição não competitiva, o valor de V_{\max} diminui.

Glúcidos– Hidratos de carbono

Os glúcidos representam o grupo mais abundante de compostos da matéria viva. Ainda hoje continuam a ser descobertos novos glúcidos bem como as funções que desempenham nos processos biológicos, normais ou patológicos. Muitos destes compostos constituem uma fonte de energia para os organismos. Alguns, como a glucose ou a sucrose (ou sacarose) com o qual adoçamos os alimentos, são utilizáveis pela célula, através de processos relativamente expeditos; outros, como o amido, nos vegetais e o glicogénio, nos animais, constituem as reservas energéticas oportunamente mobilizáveis através de mecanismos bioquímicos complexos. Muitos outros glúcidos intervêm como materiais de estrutura, tais como a celulose e a pectina das paredes das células vegetais, a quitina, constituinte preponderante do esqueleto de vários grupos de animais, nomeadamente dos insetos, o ácido hialurónico, presente nomeadamente nas cartilagens, ou o ágar-ágar que se extrai de certas algas marinhas.

Caraterização química

Os glúcidos são compostos de carbono, oxigénio e hidrogénio, muitos dos quais obedecem à fórmula empírica $C_n(H_2O)_n$, razão pela qual foram designados antigamente por hidratos de carbono. Na realidade existem muitas exceções, quer na proporção dos principais constituintes, quer pela presença de outros elementos associados, como o azoto, o enxofre ou o fósforo. Quimicamente, os glúcidos definem-se como poli-hidroalaldeídos, poli-hidroxicetonas e seus derivados simples ou poliméricos destes compostos unidos por ligações glicosídicas.

Classificação dos glúcidos

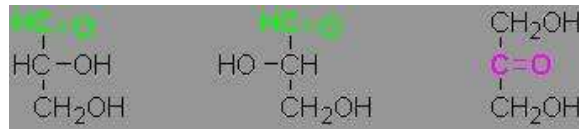
Os glúcidos agrupam-se em três grandes classes:

- (i) Oses (monossacarídeos);
- (ii) Derivados das oses;
- (iii) Ósidos (oligossacarídeos e polissacarídeos).

Oses

Caraterização

Designam-se por oses, ou igualmente por monossacáridos, as moléculas que obedecem à fórmula empírica $C_n(H_2O)_n$ possuindo $n-1$ grupos oxidrilos e um grupo carbonilo. Em função do número de átomos de carbono, que nunca pode ser inferior a três, assim se designam por trioses, tetroses, pentoses, hexoses, etc. Por sua vez, dependendo da natureza da função carbonilo ser um aldeído ou uma cetona, assim se designarão por aldoses ou por cetoses.



A B C

Exemplos de oses: Isómeros D e L de Gliceraldeído (A, B) e Di-hidroxiacetona (C)
(verde: função aldeído; roxo: função cetona)

Numa aldose, o átomo de carbono da função aldeído é o átomo número 1; numa cetose, o átomo de carbono da função cetona tem o número mais baixo possível, mas nas cetoses que intervêm no metabolismo fundamental, é sempre o carbono 2.

Isomeria

Se observarmos a fórmula do gliceraldeído, facilmente constataremos que podem existir duas configurações, dependendo da posição do oxidrilo do carbono assimétrico, se encontrar à direita (D de dextra) ou à esquerda (L de levogira).

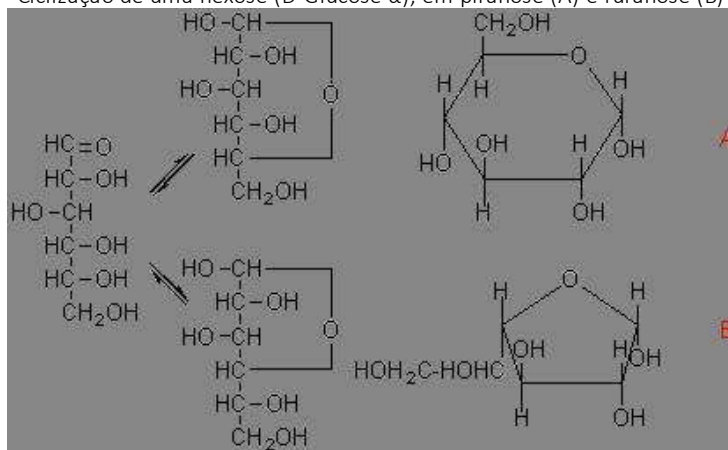
Estes isómeros, designados enantiómeros, possuem a característica de serem entre si como um objeto e a sua própria imagem num espelho. Estas duas formas do gliceraldeído podem considerar-se na base de duas séries de aldoses: a série D e a série L.

As letras D e L referem-se somente à configuração do penúltimo átomo de carbono do extremo da cadeia oposto ao grupo carbonilo. Por razões não esclarecidas, a grande maioria das oses que intervêm na composição e no metabolismo das células, pertencem às séries D.

Ciclização

Os monossacarídeos, a partir da tetrose (na série das aldoses) e da pentose (na série das cetoses) podem, em solução aquosa, sofrer uma ciclização e formar anéis de cinco (furanoses) ou de seis lados (piranoses). Esta ciclização ocorre por eliminação de uma molécula de água, entre o OH que ficou ligado ao carbono 1 das aldoses (ou carbono 2 das cetoses) e o OH ligado ao penúltimo ou ao antepenúltimo da estrutura.

Ciclização de uma hexose (D-Glucose α), em piranose (A) e furanose (B)



Por comodidade de expressão gráfica, utiliza-se correntemente a representação proposta por **Haworth**, na qual os átomos de carbono se dispõem num mesmo plano, com os grupos oxidrilo que figuram à direita, representados para baixo e os oxidrilos que figuram à esquerda, para cima.

É todavia importante ter presente que, devido aos ângulos de valência do carbono, o ciclo pirâmico (seis lados) não é plano, podendo assumir duas configurações: em barco ou em cadeira, sendo esta última termodinamicamente mais estável.



Estrutura em cadeira (A) e em barco (B)

Principais monossacarídeos

Trioses e tetroses

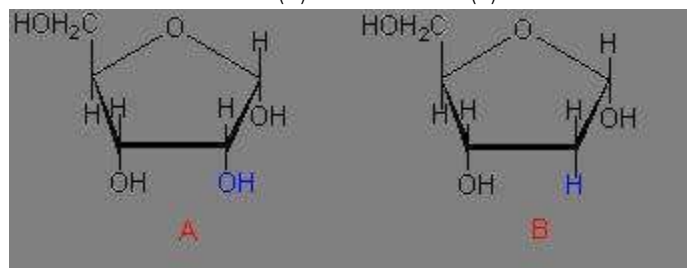
Duas trioses, o gliceraldeído e a di-hidroxiacetona, são muito comuns nas células animais e vegetais, onde se encontram geralmente sob a forma de ésteres fosfóricos e intervêm como compostos intermediários na glicólise.

A eritrose, é uma tetrose que se encontra presente também como éster fosfórico; intervém, nomeadamente, na via das pentose-fosfato e na fase escura da fotossíntese (**Ciclo de Calvin**).

Pentoses

A pentose mais importante é sem dúvida a ribose, a qual, à semelhança das anteriores, se encontra geralmente sob a forma de éster fosfórico. Na forma de éster 5 - fosfórico participa na fotossíntese e na via das pentose-fosfato e é constituinte do ATP, NAD⁺, NADP⁺, FAD e coenzima A. Na forma de ésteres 3,5 - fosfórico, entra na constituição da molécula de RNA.

Ribose (A) e Desoxirribose (B)



Duas cetopentoses, igualmente como ésteres fosfóricos, intervêm também como compostos intermédios na via das pentoses-fosfato: a xilulose e a ribulose. A ribulose 1,5-difosfato é por sua vez o composto ao qual o CO_2 se fixa no decurso da fotossíntese, na maioria das plantas.

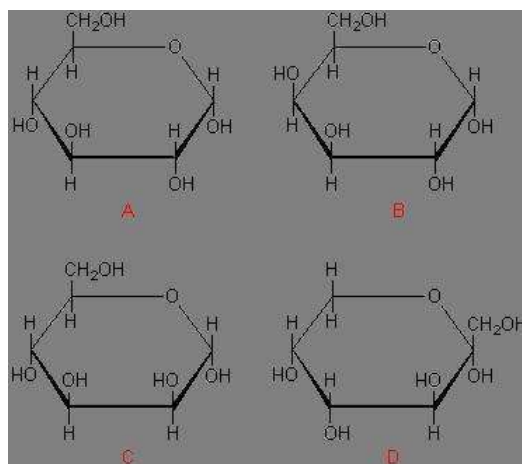
Hexoses

As hexoses mais comuns nos organismos são a glucose, a galactose, a manose (aldoses) e a frutose (cetose).

A glucose é o monossacarídeo mais difundido no mundo vivo. Na forma livre, encontra-se presente nos frutos e outros órgãos vegetais, no mel, no sangue e na linfa, etc. É, por sua vez, o principal constituinte de oligossacarídeos como a sacarose, a lactose e a trealose, e de polissacarídeos, como a celulose, o glicogénio e o amido. Os ésteres 1-fosfórico e 6-fosfórico são compostos intermediários das cadeias respiratórias.

A galactose é, depois da glucose, a ose mais abundante. Aparece em dissacarídeos como a lactose do leite e em diversos polissacarídeos.

A frutose é a única cetose que se encontra em grandes quantidades na natureza. No estado livre, encontra-se presente em muitos frutos, no néctar das flores e no mel. Enquanto ésteres fosfóricos (frutose-6-fosfato e frutose 1,6-bifosfato), intervêm, tanto nas células animais como nas vegetais, como importantes constituintes intermediários da glicólise.



Hexoses: D-Glucose (A); D-Galactose (B); D-Manose (B); D-Frutose (D)

Derivados das oses

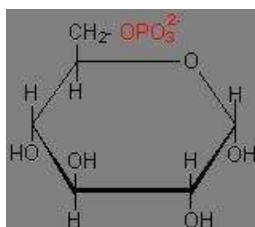
São diversos os derivados das oses e desempenham importantes funções metabólicas.

a) Esteres fosfóricos das oses

Os ésteres fosfóricos das oses resultam da esterificação da função álcool primária, do grupo hidroxilo hemiacetálico, ou de ambas as funções. Estes derivados das oses desempenham importantes funções nos processos metabólicos como a glicólise, a fotossíntese, a via das pentose-fosfato, entre outras.

b) Desoxiaçúcares

Os desoxiaçúcares resultam da substituição de um grupo oxidrilo de um monossacarídeo por um átomo de hidrogénio; recebem o prefixo desoxi, antecedido pelo algarismo de posição. O desoxiaçúcar mais importante é sem dúvida a pentose 2- desoxi-D-ribose, que intervém na estrutura dos nucleótidos constituintes dos ácidos desoxirribonucleicos (DNA).



D-Glucose-6-fosfato

Ósidos

Os ósidos são açúcares complexos, constituídos geralmente por determinado número de oses ou então por oses e outras moléculas não glucídicas. No primeiro caso, situam-se os oligossacarídeos, constituídos por um pequeno número de oses, e os polissacarídeos, em cuja constituição intervém um grande número de oses. No segundo caso, situam-se, entre outros, os glicolípidos e as glicoproteínas.

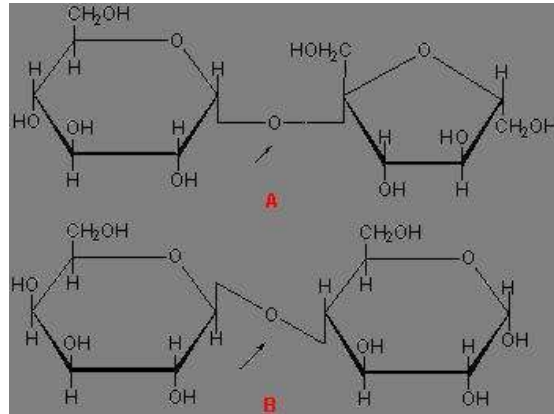
Oligossacarídeos

Os monossacarídeos ao constituírem um oligossacarídeo, estabelecem entre si pontes de oxigénio que se designam por ligações glicosídicas, que podem ser de tipo α ou β . Os oligossacarídeos mais comuns são constituídos apenas por duas oses. São por isso designados por dissacarídeos. Apresentam-se, em seguida, alguns exemplos.

a) Lactose

A lactose é o açúcar do leite dos mamíferos. É formado por uma molécula de galactose e por uma molécula de glucose, unidas por uma ligação glicosídica de tipo β .

São raros os enzimas capazes de hidrolisar ligações de tipo β , mas os jovens mamíferos possuem uma β -galactosidase, que lhes facultava a possibilidade de digerir a lactose do leite. Nos adultos, este enzima pode faltar, havendo então uma intolerância ao leite.



Sacarose (A): ligação glucosídica de tipo α
 Lactose (B): ligação glucosídica de tipo β

b) Sacarose

A sacarose é o açúcar comum, empregue em culinária. É o principal açúcar sintetizado pelas plantas e acumulado nos seus órgãos de reserva, sendo extraído comercialmente da cana-de-açúcar ou da beterraba sacarina. Por hidrólise, a sacarose produz uma mistura equimolecular de glucose e de frutose.

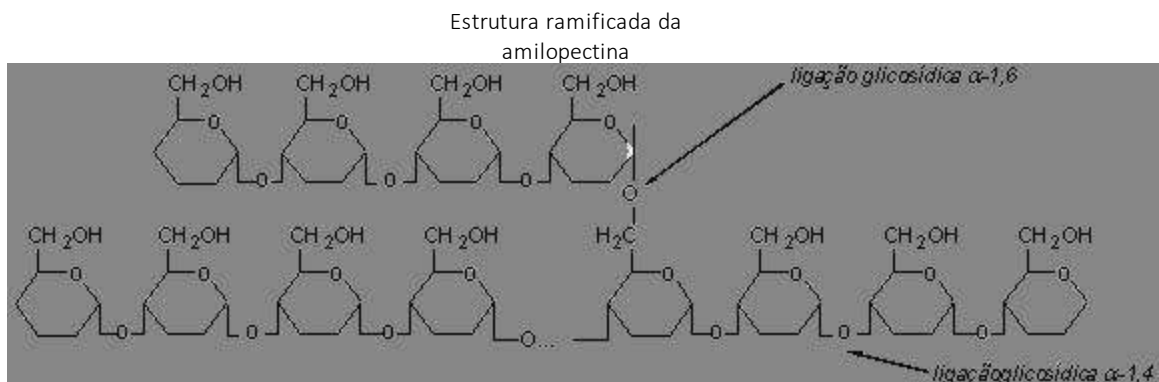
Polissacarídeos

Os polissacarídeos são constituídos por um grande número (milhares ou centenas de milhares) de moléculas de oses, podendo formar cadeias lineares ou estruturas ramificadas.

a) Amido

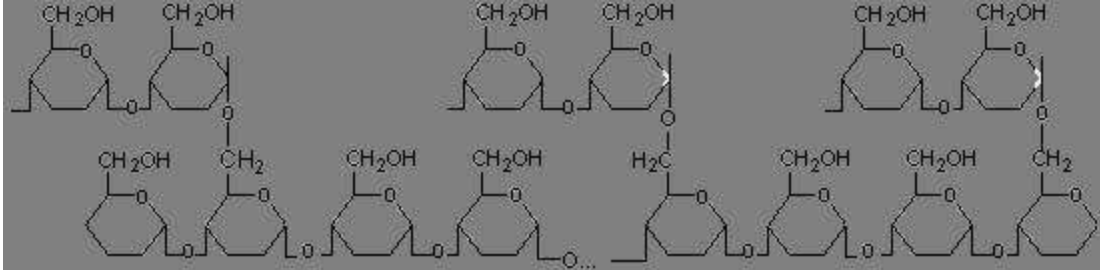
O amido é a forma de reserva glucídica dos vegetais, sendo constituído por dois polissacarídeos, a amilose e a amilopectina, em proporções variáveis, mas características das espécies e variedades. Tanto a amilose como a amilopectina são polímeros da glucose, na forma de α -D-glucopirranose. A amilose é uma molécula geralmente linear, apresentando por isso, tendência para enrolamento em hélice. Pelo contrário, a amilopectina é uma molécula ramificada.

Nas células, o amido apresenta-se em forma de grânulos de dimensões e formas características.



b) Glicogénio

O glicogénio é a forma de reserva glucídica dos animais, mas encontra-se também nos fungos. Possui uma estrutura ramificada semelhante à da amilopectina, mas com mais ramificações. Nas células, o glicogénio forma grânulos relativamente idênticos, mas de dimensões variáveis.

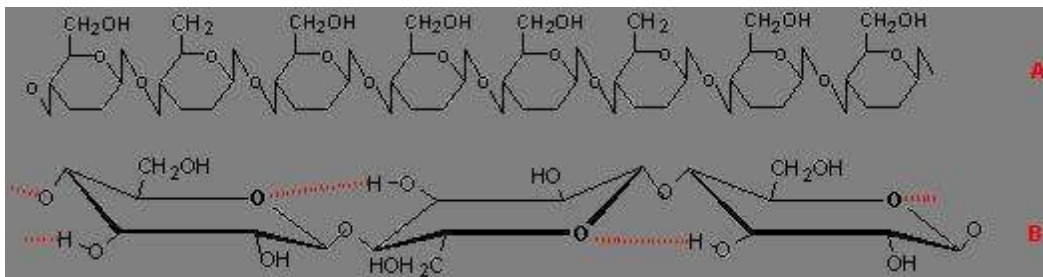


Estrutura do glicogénio

c) Celulose

A celulose é um dos componentes orgânicos mais abundantes. Este estatuto deve-se ao fato de ser o componente principal da parede das células vegetais. A celulose é constituída por cadeias muito longas, formadas por moléculas de D-glucose, unidas por ligações glicosídicas β -1,4., mas também por pontes de hidrogénio (entre o grupo hidroxilo do C(6) de uma glucose e o grupo hidroxilo do C(2) do resíduo da glucose anterior). Estas cadeias associam-se, lado a lado, através de pontes de hidrogénio e ligações de van der Waals, formando microfibrilhas. As microfibrilhas associam-se, por sua vez, em feixes.

Celulose: disposição das moléculas de glucose, unidas por ligações glicosídicas (A); as moléculas de glucose assumem a configuração em cadeira e estabelecem entre si pontes de hidrogénio (B)



ÁCIDOS NUCLEICOS

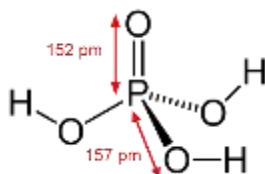
Ácido nucleico é um tipo de composto químico, de elevada massa molecular, que possui ácido fosfórico, açúcares e bases purícas e pirimidícas. São portanto macromoléculas formadas por nucleótidos.

Ocorrem em todas as células vivas e são responsáveis pelo armazenamento e transmissão da informação genética e por sua tradução que é expressa pela síntese precisa das proteínas.

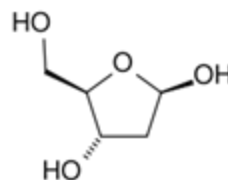
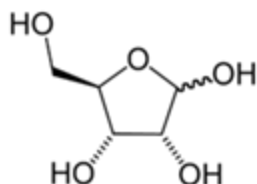
Os ácidos nucleicos são as biomoléculas mais importantes do controle celular, pois contêm a informação genética. Existem dois tipos de ácidos nucleicos: ácido desoxirribonucleico - DNA e ácido ribonucleico - RNA. Utilizando técnicas apropriadas, foi possível isolar os ácidos nucleicos e identificar os seus constituintes.

Nos ácidos nucleicos podem identificar-se três constituintes fundamentais:

Ácido fosfórico - confere aos ácidos nucleicos as suas características ácidas. Faz as ligações entre nucleótidos de uma mesma cadeia. Está presente no DNA e no RNA.

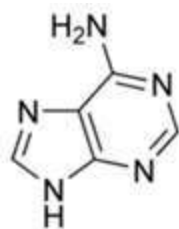


Pentoses - como o próprio nome descreve, é um açúcar formado por cinco carbonos. Ocorrem dois tipos: a ribose e a desoxirribose.

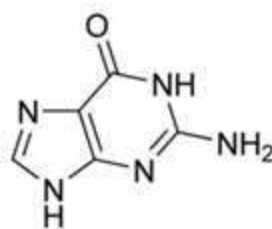


Bases azotadas - há cinco bases azotadas diferentes, divididas em dois grupos:

Bases de anel duplo (purinas) - adenina (A) e guanina (G);

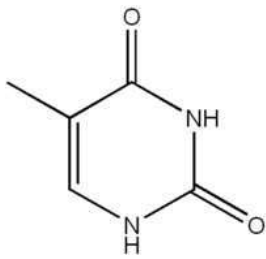


Adenina

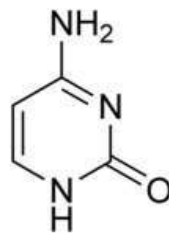


Guanina

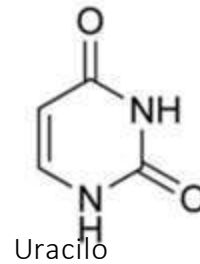
Bases de anel simples (pirimidinas) - timina (T), citosina (C) e Uracilo (U).



Timina



Citosina



Uracilo

Adenina

A adenina é uma das cinco bases nitrogenadas usadas na formação de nucleotídeos. No código genético é representada pela letra **A**. A adenina se emparelha com a timina, **T**, através de duas ligações de hidrogénio. No RNA a adenina se emparelha com a uracilo **U**. A Adenina e a Guanina, **G**, são bases nitrogenadas derivadas do composto purina, por isso são chamadas de bases púricas.

Adenina forma a adenosina (um nucleósido) quando ligado à ribose, desoadenosina quando ligada a desoxirribose, e forma a adenosina trifosfato (ATP), quando três grupos fosfato são adicionados à adenosina. A adenosina trifosfato é usada no metabolismo celular como um dos métodos básicos de transferir energia química entre reações. Outra função importantíssima de nucleósidos de adenina é o composto chamado AMPcíclico, que funcionam como sinalizadores secundários de hormonas.

Timina

A timina é uma base nitrogenada que compõe o nucleótido, a principal estrutura que forma o ácido desoxirribonucléico, mais conhecida como DNA.

A estrutura da timina é formada por substâncias químicas que formam uma molécula num único anel. Este tipo de composição é chamado pirimidina. A timina é a única molécula que existe apenas no DNA. As outras moléculas (guanina, citosina e adenina) também fazem parte do ácido ribonucléico (RNA), Nela, a timina é substituída pelo uracilo.

Uracilo

Uracilo ou uracila é uma base nitrogenada. É representada pela letra U no código genético. Substitui a timina na transcrição do DNA para RNA e é portanto, complementar à adenina.

Guanina

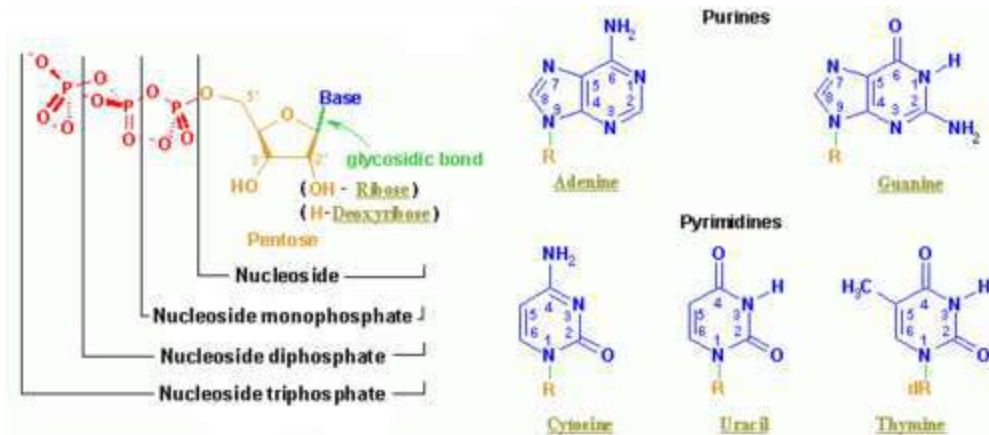
Guanina é uma base nitrogenada, orgânica, assim como a adenina, a citosina e a timina, que se une com uma molécula de desoxirribose (pentose, monossacarídeo) e com um ácido fosfórico, geralmente o fosfato, para formar um nucleotídeo, principal base para formar cadeias polinucleotídeas que, por sua vez, formam o DNA (ácido desoxirribonucléico).

Citosina

Citosina é uma fibra orgânica que constitui boa parte do citoplasma das células vivas, formando o chamado citoesqueleto. É uma substância cristalina, uma base nitrogenada. É uma das bases que compõem o código genético.

Nucleósido

Um nucleósido, ou nucleosídeo é constituído por uma base azotada ou nitrogenada (timina, adenina, guanina, citosina ou uracila) e por uma pentose, a ribose ou a desoxirribose. Um nucleosídeo equivale a um nucleotídeo sem o grupo fosfato.



Nucleótido

Nucleótidos são compostos ricos em energia e que auxiliam os processos metabólicos, principalmente as biossínteses, na maioria das células. Funcionam ainda como sinais químicos, respondendo assim a hormonas e outros estímulos extracelulares; eles são também componentes estruturais de cofatores enzimáticos, intermediários metabólicos e ácidos nucleicos.

Os nucleótidos podem ser considerados os monómeros da DNA/RNA, sendo o polímero, o próprio DNA/RNA. Os nucleótidos são compostos por uma base nitrogenada, uma pentose e um grupo fosfato. As bases nitrogenadas podem ser classificadas em pirimidinas e purinas. A base está ligada ao carbono 1 da pentose e o fosfato está esterificado ao carbono 5 da mesma. Tanto o DNA como o RNA tem duas bases púricas: a adenina e a guanina. Eles possuem também uma pirimidina principal: a citosina. Mas existe uma diferença entre as bases de DNA e RNA: a segunda base pirimídica, que vai ser a timina no DNA e a uracilo no RNA.

Ácido desoxirribonucleico

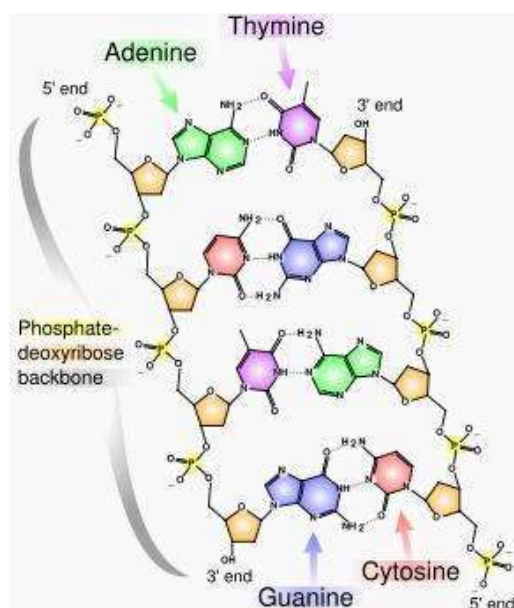
Ácido desoxirribonucleico (ADN ou DNA) é uma molécula orgânica que contém a "informação" que coordena o desenvolvimento e funcionamento de todos os organismos vivos. O seu principal papel é armazenar as informações necessárias para a construção das proteínas e RNAs. Os segmentos de DNA que são responsáveis por carregar a informação genética são denominados genes. O restante da sequência de DNA tem importância estrutural ou está envolvido na regulação da utilização da informação genética.

Do ponto de vista químico, o DNA é um longo polímero de unidades simples (monómeros) de nucleótidos, cujo cerne é formado por açúcar e fosfato intercalados unidos por ligações fosfodiéster. Atracado a molécula de açúcar está umas das quatro bases nitrogenadas e é a sequência dessas bases ao longo da molécula de ADN que carrega a informação genética.

O código genético é justamente a leitura destas sequências, a qual especifica a sequência linear dos aminoácidos das proteínas. O código não é lido diretamente no DNA, mas as suas informações são transmitidas para um intermediário (RNAm) que é sintetizado a partir de um molde de DNA através de um processo chamado **Transcrição** e posteriormente a informação contida neste é "traduzida" em proteínas através de um processo chamado **Tradução**. Embora a maioria do RNA produzido seja usado na síntese de proteínas, a outra parte tem função estrutural, como por exemplo o RNA ribossômico.

Dentro da célula, o DNA é organizado numa estrutura chamada cromossoma e o um conjunto de cromossomas de uma célula forma o **cariótipo**. Antes da divisão celular os cromossomas são duplicados através de um processo chamado **Replicação**.

Os eucarióticos têm o seu DNA dentro do núcleo enquanto que as bactérias o tem disperso no citoplasma. É responsável pela transmissão das características hereditárias de cada espécie de todos os seres vivos.



Propriedades físico-químicas

O DNA é um longo polímero formado de unidades repetidas chamadas nucleótidos. O DNA é uma cadeia de 2,2 a 2,4 nanómetros ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ e um nucleótido possui 0,33 nanómetros de comprimento. Embora os monómeros (nucleótidos) que constituem o DNA são muito pequenos, um polímero de DNA pode ser enorme uma molécula que contem milhões de nucleótidos. Por exemplo, o maior cromossoma humano (cromossoma 1), possui 220 milhões de pares de bases de comprimento.

Em organismos vivos, o DNA não existe como uma molécula única (fita simples), mas sim como um par de moléculas firmemente associadas. As duas longas fitas de DNA se enrolam em forma de uma dupla hélice. Os nucleótidos estão presentes em ambas as fitas da dupla hélice, estão unidos com os nucleótidos da mesma fita por ligações fosfodiéster e unidos a fita complementar através das pontes de hidrogénio formadas por suas bases. Em geral, uma base ligada a um açúcar é chamado nucleósido e uma base ligada a um açúcar e um fosfato é chamado nucleótido. Portanto, o DNA pode ser referido como um polinucleótido.

O cerne da fita de DNA é formada por fosfato e resíduos de açúcar dispostos alternadamente. O açúcar no DNA é 2-desoxirribose, o qual é um açúcar pentose (cinco carbonos). Os açúcares são unidos por grupos de fosfato que formam ligações fosfodiéster entre o terço e quintos átomos de carbono dos anéis de açúcar adjacentes. Estas ligações assimétricas significam que uma “única” fita de DNA tem uma direção. Em uma dupla hélice a direção dos nucleótidos em uma fita é oposta à direção dos nucleótidos na outra fita. Este arranjo das fitas do DNA é chamado antiparalelo. As terminações assimétricas das fitas de DNA são chamadas terminais 5' (cinco linha) e 3' (três linha). Um das diferenças principais entre DNA e RNA é o açúcar, com 2-desoxirribose sendo substituída pela ribose no RNA.

A dupla hélice DNA é estabilizada por pontes de hidrogénio entre as bases presas às duas fitas. As quatro bases achadas em DNA são adenina, citosina, guanina e timina. Estas quatro bases são mostradas na figura 3 e são ligadas ao açúcar / fosfato para formar o nucleótido completo, que na figura é mostrada como adenosina monofosfato.

Estas bases são classificadas em dois tipos; adenina e guanina são compostos heterocíclicos chamados purinas, enquanto citosina e timina são chamados pirimidinas. A quinta base (uma pirimidina pirimidina) é chamado uracilo (U), aparece no RNA e toma o lugar da timina, a uracila difere da timina pela falta de um grupo de metila em seu anel. O uracilo normalmente não está presente no DNA, só ocorrendo como um produto da “quebra” da citosina, mas há uma raríssima exceção para esta regra é um vírus bacteriano chamado PBS1 que contém uracilo em seu DNA. Em contraste, após a síntese de certas moléculas de RNA, um número significativo do uracilos são convertidas a timinas pela adição enzimática do grupo de metilo. Isto acontece principalmente em RNAs estruturais e enzimáticos como “RNA transportador” e “RNA ribossomal”.

A dupla hélice é uma espiral destra. Como as fitas de DNA giram uma ao redor da outra, elas deixam espaços entre cada cerne de fosfato, revelando os sítios das bases que estão localizadas na parte interna. Há dois destes espaços ao redor da superfície da dupla hélice: um espaço é maior e possui 22 Å de largura e o outro, o espaço menor com é 12 Å de largura. Proteínas como fatores de transcrição podem se ligar a sequências específicas no DNA dupla-fita normalmente estabelecendo contato aos sítios das bases expostos no espaço maior.

Composição do DNA

O DNA é composto por açúcar (pentose), radicais fosfatos e por sequências de quatro bases nitrogenadas, ligadas por pontes de hidrogénio, formando uma estrutura semelhante a uma escada em espiral - a dupla hélice. A sequência de pares de bases se assemelha aos degraus, enquanto a desoxirribose e o agrupamento fosfato se alternam, apresentando semelhança com o corrimão de uma escada em espiral.

As bases do DNA são:

- Adenina (A)
- Guanina (G)
- Citosina (C)
- Timina (T)

Sendo que a Adenina se liga por meio de duas pontes de hidrogénio à Timina, e a Citosina liga-se através de três pontes com a Guanina. A cadeia de DNA apresenta-se enrolada numa estrutura em dupla-hélice que uma vez no núcleo recebe a ação de histonas e se enovela para formar a cromatina.

O DNA é encontrado em todos os seres vivos, incluindo os vírus, que ora possuem DNA, ora possuem RNA, porém, rara e recentemente, foi encontrado um vírus que possuía tanto DNA como RNA, ao mesmo tempo. O diâmetro de uma molécula de DNA é de cerca de 2,3 nm.

Mutações

Mutações são alterações na sequência de nucleótidos, que uma vez transmitida para a prole pode ocasionar mudanças nas características dos indivíduos. As mutações podem ser de diferentes tipos, sendo que os principais são as de ponto, onde somente um nucleótido é substituído, inserções, eliminações ou estruturais, as quais alteram a morfologia dos cromossomas.

Dependendo do tipo da alteração no código genético, a mesma poderá ser letal caso seja afetada a produção de enzimas e proteínas essenciais à sobrevivência do organismo. Em outros casos, mutações podem conferir uma maior viabilidade ao indivíduo portador da alteração, favorecendo sua sobrevivência caso haja mudanças na pressão seletiva do ambiente.

Geralmente, as mutações ocorrem ao acaso e são um dos principais fatores do processo evolutivo já que as mesmas contribuem para a existência de variação intra e extraespecíficas. Com a presença de variação, o processo seletivo pode conferir uma maior viabilidade para certos indivíduos de uma população.

Simplesmente a mutação é um produto talvez de uma deficiência já concebida no gene, que, pode desencadear alterações desde uma cegueira até um problema cardíaco grave.

Um gene não é uma coisa descartável e sim um tipo de *impressão digital especial*. Uma mutação é um defeito de um ou mais cromossomas que tem uma programação genética falsa ou errada.

Replicação do DNA

A **replicação** é um processo no qual uma molécula de DNA dupla fita é duplicado. Devido ao fato do DNA conter a "informação" que é fundamental para codificar todas as proteínas e RNAs necessários para se "construir" um organismo, é através da replicação que os seres vivos conseguem dar origem a um novo ser que possui as mesmas características de quem o originou. A replicação também explica como nós, seres multicelulares, fomos formados a partir de uma única célula - o zigoto. Portanto a replicação do material genético é importante para todas as formas de vidas conhecidas. No entanto os mecanismos de replicação dos procarióticos e eucarióticos não são idênticos. Como cada fita de DNA contem a mesma informação genética, qualquer uma das duas fitas podem servir como molde por isso a replicação do DNA é dita semiconservativa. Para que o processo de replicação se inicie é necessário que a atuação de um enzima, o DNA *polimerase*.

O enzima liga-se à cadeia de DNA e desliza sobre esta, quebrando as ligações entre as duas cadeias de nucleótidos - ligações por pontes de hidrogénio - ficando então as duas cadeias de DNA separadas. Em seguida, os nucleótidos livres existentes no núcleo ligam-se, por complementaridade de bases, às cadeias de DNA. De uma cadeia original de DNA formam-se duas novas cadeias.

Etapas da polimerização do DNA

A replicação inicia-se numa zona da cadeia denominada triplete de iniciação, neste local as *helicases* começam a abrir a cadeia para ambos os lados da origem quebrando as ligações de hidrogénio existentes entre as bases complementares, formando-se um repliçãõ que é constituído por duas forquilhas de replicação. Em seguida liga-se às cadeias de DNA o enzima RNA*primase* que vai sintetizar um *primer* que consiste numa sequência de bases de RNA que vão iniciar a síntese visto que o DNA *polimerase III* não tem a capacidade de o fazer, devido a ausência de grupos hidroxilos -OH expostos.

Após a síntese do primer, o DNA *polimerase III* vai continuar o processo que ocorre no sentido da extremidade 5' para a extremidade 3' da nova cadeia. Como o DNA *polimerase* vai atuar para ambos os lados da origem de replicação, por cada cadeia simples de DNA existente vai existir uma parte da nova cadeia que vai ser sintetizada na direção da replicação, essa cadeia é sintetizada de modo continuo e denomina-se cadeia contínua e existe uma outra parte da cadeia em que a direção da replicação é contrária à direção da síntese, esta cadeia vai ser sintetizada descontinuamente, isto é, a RNA *primase* vai sintetizar vários primer's ao longo da cadeia começando o mais próximo da origem de replicação e terminando no mais distante e a partir daí vão formar-se fragmentos, denominados **fragmentos de Okazaki** constituídos pelo DNA, enquanto que entre estes fragmentos vão ainda existir os primer's, que serão removidos e substituídos por DNA, pela ação de um outro DNA *polimerase*, o DNA *Polimerase I*.

Como o DNA *polimerase* não consegue estabelecer a ligação entre esses nucleótidos e os que se encontram nas extremidades dos fragmentos de *Okazaki*, formam-se lacunas entre o grupo fosfato de um, e o carbono 3' do outro. Esses nucleótidos são posteriormente ligados pela DNA ligase. A esta cadeia chama-se cadeia descontínua. As partes finais da cadeia de DNA denominadas telómeros são sintetizadas pelo RNA *telomerase* por um processo de transcrição inversa, isto é, este enzima sintetiza DNA tendo por molde RNA. Durante todo o processo de replicação atuam outras enzimas entre eles os SSB e os *topoisomerases* que têm como função evitar o enrolamento da cadeia durante a síntese.

Síntese de RNA

Transcrição

Transcrição é o processo pelo qual uma molécula de RNA é sintetizada a partir de um molde de DNA. Através da transcrição, são sintetizados todos os tipos de RNAs da célula, ou seja, o RNA mensageiro (mRNA), o RNA ribossomal (rRNA), o RNA transportador (tRNA) e outros RNAs menores. Todos os RNAs estão envolvidos ativamente na síntese proteica. O mRNA será usado para transferir a informação genética do DNA às proteínas, mas os demais RNAs sintetizados têm, por si, funções finais na célula, tanto estruturais como catalíticas. É principalmente durante a transcrição que a célula exerce o controle da expressão genética. Os genes não são transcritos indiscriminadamente, pois esse processo é regulado por proteínas. Na maioria dos casos, o principal ponto de regulação da atividade de um gene é a decisão de iniciar ou não a sua transcrição. Existem muitas semelhanças entre a síntese de DNA e a de RNA. Entretanto, a função biológica de cada um desses processos é bastante diferente. A síntese de DNA deve ser precisa e uniforme. Estes conceitos se referem à necessidade da nova cópia de DNA ser exatamente uma réplica da original, e que esta síntese englobe toda a extensão da cadeia progenitora. Em contradição, a transcrição espelha o estado fisiológico da célula. Ela é extremamente variável para atender às suas necessidades num determinado momento. Tal variabilidade se reflete no fato de que somente um gene ou grupo de genes em particular é transcrito naquele instante fisiológico. Por outro lado, dependendo da necessidade da célula, o mesmo gene pode ser transcrito incontáveis vezes até que a procura seja suprimida.

Além da característica temporal da transcrição, este é um processo extremamente seletivo. Esta seletividade acontece em dois níveis:

- (1) Somente partes do DNA são transcritas para produzir RNA. Por exemplo, nas células da maioria dos mamíferos, somente 1% de toda a sequência do DNA é copiada para formar sequências de RNA funcional e algumas partes do DNA podem nunca ser transcritas.
- (2) Somente uma porção ainda menor da sequência de nucleótidos do RNA sobrevive os passos de processamento pelo qual o RNA recém transcrito passa para se tornar maduro e funcional. Para resumir, a célula restringe a expressão de informação genética para a formação de genes necessários naquele momento especificamente.

Mecanismos de transcrição

A transcrição ocorre a partir da informação contida na sequência de nucleótidos de uma molécula de DNA fita dupla, sendo sempre no sentido 5' → 3'.

Apenas uma das fitas do DNA, chamada de fita molde, é utilizada durante a síntese, que segue as mesmas regras de complementaridade e antiparalelismo, exceto pelo pareamento de uracil (U), ao invés de timina (T), com adenina (A). O RNA recém sintetizado (5' → 3') é, portanto, complementar à fita de DNA que serviu de molde (3' → 5') e idêntico a outra fita de DNA do duplex (5' → 3'). Por convenção, entretanto, a sequência de nucleótidos de um gene é sempre representada na orientação 5' → 3', ou seja, a fita que não serve de molde.

Em 1960 foi descoberto um enzima capaz de, na presença de DNA fita dupla e dos ribonucleótidos trifosfatados (ATP, CTP, GTP e UTP), sintetizar RNA. Esse enzima foi denominado *RNA-polimerase* (RNAP). A reação catalisada pelas RNAPs é mecanisticamente idêntica à reação catalisada pelas *DNA-polimerases*.

As RNAPs desempenham todas as atividades necessárias para a transcrição:

- 1) Reconhecem e ligam-se a sequências específicas de DNA;
- 2) Desnaturam o DNA, expondo a sequência de nucleótidos a ser copiada;
- 3) Mantêm as fitas de DNA separadas na região de síntese;
- 4) Mantêm estável o duplex DNA: RNA na região de síntese;
- 5) Restauram o DNA na região imediatamente posterior à da síntese;
- 6) Sozinhas ou com auxílio de proteínas específicas, terminam a síntese do RNA.

As sequências reguladoras da transcrição podem ser divididas em dois tipos: *promotores* e *elementos reforçadores (enhancers)*. Essas sequências reguladoras nada mais são do que um padrão de bases encontrado em todos os genes, que tem uma função designada de acordo com os fatores/proteínas/enzimas que o reconhecem e ligam-se a ele. Este conceito é como um “código enigmático e padrão” de bases que é entendido pelo agente que vai interpretá-lo. O agente específico capaz de descodificar este “código” se aproxima e sobre ele atua. Isto se dá de duas formas: ligando-se a ele e assim sinalizando a outros agentes o local de ação (*promotor*), ou ainda liga-se ao código, mas para modular a atividade de outros agentes (*enhancer*). Por estarem presentes em todos os genes, podem ser chamadas de região consenso ou conservada, termos que também se aplicam para outras sequências que não somente regulam, mas sinalizam.

Os *promotores* para transcrição no DNA são inicialmente reconhecidos por fatores de transcrição que, ligados ao DNA, interagem com outros fatores, formando um complexo ao qual as RNAPs se associam. Eles sempre estão próximos ao sítio de início da transcrição e possuem sequências consenso, comuns a todos os *promotores*, que são reconhecidas pelos fatores de transcrição. Eles são responsáveis por uma transcrição em nível basal – muito baixo.

Os *enhancers* são sequências pequenas de DNA que podem ocorrer na região 5' do gene, antes do *promotor* ou após o terminador, e ativam a expressão. Podem estar

muito distantes do promotor e ainda assim serem ativados. Alguns desses elementos de regulação dão a especificidade à transcrição, tanto temporal quanto tecido específico.

O processo pode ser dividido em 3 partes:

- 1- Iniciação;
- 2- Alongamento;
- 3- terminação.

Essas etapas serão detalhadas para os genes transcritos pela RNAP II, genes que codificam proteínas.

Iniciação

O primeiro passo da transcrição requer regiões reguladoras, acoplamento de fatores de transcrição, e fatores de RNAP II. Embora a organização das regiões reguladoras da transcrição por RNAP II variem para os diferentes genes e nos diferentes organismos, existem alguns componentes básicos:

A) Elementos que constituem o *promotor*:

- 1 - *Sítio de início da transcrição* representado pela primeira base a ser transcrita;
- 2 - *Uma região que inclui uma sequência conservada TATA Box* localizada na região – 25, anterior, portanto, ao sítio de início da síntese. Este elemento determina onde a síntese deve ser iniciada e, normalmente, não afeta os níveis de expressão. É aqui que ocorre o reconhecimento inicial do gene a ser transcrito por parte dos fatores de transcrição;
- 3 - *Uma região regulatória upstream denominada CAAT Box* (consenso GGNCAATCT), situada na região –60 a –80.
- 4 - *Outras sequências upstream*. Aqui e no CAAT Box ligam-se fatores que aumentam a eficiência de reconhecimento do promotor.

B) *Enhancers*

Esses elementos aumentam a expressão do gene, independentemente da sua orientação, localização (a 5' do promotor ou após o sinal de fim da transcrição) e distância do promotor.

O início da transcrição em genes que utilizam RNAP II é complexo e envolve uma cascata na qual vários fatores de transcrição vão se ligando ao DNA. Inicialmente há ligação de um fator ao TATA Box.

Essa ligação sinaliza para que outros fatores se liguem entre si e a outros elementos do promotor. Quando todos os fatores já estiverem em seus devidos locais, o complexo estará pronto para receber a RNAP II e formar o chamado complexo de iniciação da transcrição. A RNAP II é responsável por abrir as fitas de DNA, e colocar a primeira base. Essa abertura das cadeias forma a “bolha de transcrição”, estrutura que é característica do processo. Para ativar a transcrição, outros fatores ligam-se ao *enhancer* e interagem com o complexo de iniciação da transcrição.

Elongação

É o aumento da cadeia de RNA para o qual outros fatores acessórios são necessários. Os fatores utilizados no complexo de iniciação da transcrição são libertados e a RNAP II sofre alterações na sua conformação. A “bolha de transcrição” move -se sobre o molde de DNA, abrindo o DNA à frente e fechando atrás de si. Um duplex híbrido DNA-RNA forma-

se dentro da bolha à medida que o RNA é sintetizado. Os erros na sequência da cadeia produzidos nesta etapa são cuidadosamente corrigidos pela RNA *polimerase*.

Terminação

Muito pouco se conhece sobre o término da transcrição. Sabe-se que todas as três RNAPs terminam a síntese em regiões consenso do DNA ricas em T. Essas regiões são “sinais” codificados pelo DNA, que indicam onde deve ser a extremidade 3'. Esses sinais são reconhecidos por enzimas que se ligam ao RNA, clivando-o para formar a extremidade 3', ou seja, o sítio de clivagem precede esta região consenso. Após a clivagem, esses nucleótidos que compunham a região consenso sinalizadora para a clivagem, são degradados no núcleo.

Em resumo:

REPLICAÇÃO

A replicação do DNA no núcleo é iniciada quando as duas fitas de DNA são separadas pelo enzima DNA Helicase. As proteínas de ligação do DNA impedem as fitas de DNA de se ligarem outra vez. Uma fita de DNA encoda a “Strand” principal que se forma do prime 5' ao prime 3' usando a DNA polimerase III. Este processo não encontra nenhum problema a ser realizado, sendo um processo contínuo de replicação.

No filamento secundário levanta problemas a ser replicado porque se forma no sentido de 5' para 3' mas é inverso ao que acontece no filamento principal. Então formam-se os filamentos de OKASAKI.

Inicialmente o enzima RNA primase liga um primer de RNA e o enzima polimerase III inicia a formação de um novo DNA, sendo um processo que se repete continuamente. O DNA polimerase I substitui os nucleótidos do primer de RNA por nucleótidos de DNA. Finalmente o DNA Ligase “preenche” as ligações entre os fragmentos de OKASAKI.

TRANSCRIÇÃO

A transcrição é o processo de produção de RNA a partir de um “*template*” de DNA. Neste processo estão envolvidos vários fatores chave incluindo, DNA, fatores de transcrição, RNA polimerase e ATP.

A transcrição inicia-se com um “strand” de DNA, que é dividido em várias regiões importantes sendo a maior a unidade de transcrição, esta porção de DNA será utilizada para a formação de RNA. Na parte superior da unidade de transcrição encontra-se a “*TATA box*” e uma região de ligação. Vários complexos conhecidos como fatores de transcrição são necessários para uma transcrição bem-sucedida. O primeiro é TFIID, sendo o maior dos fatores. Um componente deste fator, TBP, liga-se ao DNA para posicionar o TFIID para dar início à transcrição. Outros fatores de transcrição, TFIIA e TFIIB ligam-se também ao complexo. Este complexo prepara o DNA para a ligação do enzima RNA polimerase. Este enzima ficará ligado aos fatores de transcrição até o processo estar completo.

O ATP é adicionado ao sistema para que a transcrição se inicie sendo reduzido a ADP e Pi. Quando o processo se inicia a maioria dos fatores de transcrição vão-se

libertando do complexo. Quando a transcrição aproxima-se do final o enzima RNA polimerase dissocia-se sendo também libertada a nova “*strand*” recém formada.

TRADUÇÃO

A sequência de aminoácidos numa proteína é encodada numa sequência de bases de DNA. A tradução ou síntese de proteínas inicia-se com a transcrição de DNA em RNA mensageiro. A sequência linear das bases do mRNA é então traduzida nas sequências lineares de aminoácidos de uma proteína. Cada aminoácido é especificado por um grupo de três bases do mRNA. Este grupo de três bases é chamado de *CODÃO*. Em adição ao mRNA outros componentes são essenciais para a síntese de proteínas. Os *strands* de tRNA correspondem a aminoácidos nas bases correspondentes do mRNA. As três bases do tRNA são chamadas de *ANTICODÕES* que se ligam por pontes de hidrogénio às bases do codão complementar do mRNA.

O anticodão do tRNA também especifica qual o aminoácido que está ligado ao prime 3' final da sua cadeia. Os enzimas sintetases de aminoácidos ligam o grupo carboxilo (COOH) ao grupo hidroxilo (OH) do tRNA libertando H₂O.

A síntese de proteínas ocorre nos ribossomas que são compostos de pequenas subunidades ribossomais e também uma subunidade um pouco maior que são formadas por RNA ribossomal ou rRNA e outras proteínas.

A tradução de mRNA em proteínas ocorre em três fases. Iniciação, Elongação, Terminação

A formação do complexo de iniciação dá-se quando as subunidades ribossómicas reconhecem-se e ligam-se a uma sequência líder no mRNA. Ao mesmo tempo o primeiro tRNA contendo o aminoácido liga o anticodão correspondente ao seu codão inicial no mRNA, por exemplo AUG

As subunidades ribossomais de RNA ligam-se ao mRNA e o primeiro tRNA também liga-se ao complexo formando então o complexo de INICIAÇÃO. O primeiro tRNA liga-se à subunidade do rRNA no sítio chamado por P, deixando o sítio A vazio.

A elongação inicia-se quando um segundo tRNA ligado ao seu aminoácido aproxima-se. O tRNA complementar ao seu anticodão com um segundo codão do mRNA preenchendo o sítio A. O primeiro aminoácido é transferido do seu tRNA para o segundo aminoácido por outro enzima formando uma ligação peptídica. Os dois aminoácidos formam então um dipeptídeo que está ligado ao segundo tRNA. O primeiro tRNA liberta-se do rRNA (sítio P). O ribossoma move-se até introduzir o segundo tRNA no sítio P, deixando vazio o sítio para o próximo tRNA com o aminoácido correspondente, este processo repete-se continuamente até a formação de polipeptídeos.

A tradução é terminada quando o tRNA encontra o **codão stop** no fim do gene. Os fatores de libertação ligam-se o **codão stop** e liga-se ao sítio **A**. Um enzima liberta a cadeia polipeptídica do tRNA com a adição de uma molécula de água. Após o processo de tradução o rRNA, o mRNA e o tRNA irão formar outros complexos de iniciação para iniciar outras traduções.

Numa cadeia longa de mRNA, vários complexos de rRNA poderão de ligar ao mRNA para formar vários complexos de iniciação, um polipeptídeo é produzido em cada ribossoma

em são formados vários polipeptídeos iguais.

LÍPIDOS

Os lípidos são biomoléculas insolúveis em água, e solúveis em solventes orgânicos, como o álcool, benzina, éter e clorofórmio. A família de compostos designados por lípidos é muito vasta. Cada grama de lípido armazena 9 calorias de energia cinética. Os ácidos gordos são constituídos por cadeias de hidrocarbonetos contendo um ácido carboxílico numa das extremidades e que, consoante contenham ou não duplas ligações entre os átomos de carbono, se denominam de insaturados ou saturados.

A nomenclatura utilizada para descrever um determinado ácido gordo informa sobre o comprimento da cadeia, o número e a posição das duplas ligações; por exemplo, o ácido palmitoleico, um ácido gordo monoinsaturado de 16 carbonos, designa-se 16:1 (em que o **16** significa o número de átomos de carbono e o **1** o de duplas ligações).

Há dois sistemas distintos de descrever a localização da(s) dupla(s) ligação(ões): a *designação n* e a *designação Δ*. No primeiro, a localização da dupla ligação é identificada contando os átomos de carbono desde a extremidade metil do ácido gordo e, na designação **Δ**, a posição da dupla ligação é contada a partir da terminação carboxil; assim, o ácido palmitoleico é designado por 16:1 n7, na designação *n*, e por 16: 1Δ9 utilizando a nomenclatura **Δ**.

Os ácidos gordos denominam-se essenciais quando não são passíveis de ser sintetizados pelo organismo humano, sendo necessários para uma dieta equilibrada. O tipo de ácido gordo consumido na dieta e as propriedades metabólicas do indivíduo definem as vias de utilização do ácido gordo. Atualmente, procura-se entender se e como é que a manipulação da composição das gorduras da dieta pode modificar determinadas funções orgânicas, particularmente a função imune.

Funções dos lípidos

Reserva energética: fornecem mais energia que os glúcidos, porém, não são preferencialmente utilizáveis pela célula. Toda vez que a célula necessita de uma substância energética, ela vai optar pelo uso imediato de um glúcido, para depois consumir os lípidos.

Estrutural: certos lípidos fazem parte da composição das membranas celulares, que são formadas pela associação de lípidos e proteínas. Os mais importantes são: os fosfolípidos e o colesterol.

Isolante térmico: auxiliam na manutenção da temperatura dos animais endotérmicos, por meios de uma camada de tecido denominado hipoderme, a qual protege o indivíduo contra as variações de temperatura.

Os lípidos constituem um grupo heterogéneo. Caracterizam-se por possuírem, na sua estrutura molecular, ácidos gordos com, pelo menos, 8 átomos de carbono. Na maioria dos casos, o ácido esterifica um álcool, o qual é, frequentemente, o glicerol. Noutros casos, os ácidos ligam-se a uma amina alcoólica.

Todavia, a característica essencial dos lípidos é a sua fraca, ou mesmo muito fraca solubilidade na água e a grande solubilidade nos solventes orgânicos, como o éter, a acetona, o álcool, o sulfureto de carbono, o tetracloreto de carbono.

Os lípidos desempenham funções biológicas de extrema importância, quer ao nível das estruturas (membranas celulares), quer como reserva energética, quer ainda, entre outras funções, como mensageiros (hormonas).

Existem diversos tipos de moléculas diferentes que pertencem à classe dos lípidos. Embora não apresentem nenhuma característica estrutural comum todas elas possuem muito mais ligações carbono-hidrogénio do que as outras biomoléculas, e a grande maioria possui poucos heteroátomos. Isto faz com que estas moléculas sejam **pobres em dipolos localizados** (carbono e hidrogénio possuem eletronegatividade semelhante). Uma das leis clássicas da química diz que "*o semelhante dissolve o semelhante*": daí a razão para estas moléculas serem **fracamente solúveis em água** ou etanol (solventes polares) e altamente solúveis em solventes orgânicos (geralmente apolares).

Ao contrário das demais biomoléculas, **os lípidos não são polímeros**, isto é, não são repetições de uma unidade básica. Embora possam apresentar uma estrutura química relativamente simples, as funções dos lípidos são complexas e diversas, atuando em muitas etapas cruciais do metabolismo e na definição das estruturas celulares.

Os químicos podem separar os lípidos de uma amostra biológica através de uma técnica conhecida como extração; um solvente orgânico é adicionado a uma solução aquosa da amostra e, com um auxílio de um funil de separação, obtém-se a fase orgânica rica em lípidos. Com a evaporação do solvente orgânico obtém-se o lípido. É desta maneira que, em escala industrial, se obtém o óleo vegetal.

Como veremos, alguns lípidos têm a habilidade de formar filmes sobre a superfície da água, ou mesmo de formar agregados organizados na solução; estes lípidos possuem uma região, na molécula, polar ou iónica, que é facilmente hidratada. Este comportamento é característico dos lípidos que compõe a membrana celular. Os lipossomos são "microenvelopes" capazes de envolverem moléculas orgânicas e entregarem-nas ao "endereço biológico" correto.

Classificação dos lípidos

A grande heterogeneidade dos lípidos justifica a existência de diversas classificações. Uma delas, por ventura a mais simples, agrupa os lípidos, à partida, em três classes:

- 1- Lípidos simples;
- 2- Lípidos conjugados;
- 3- Lípidos derivados.

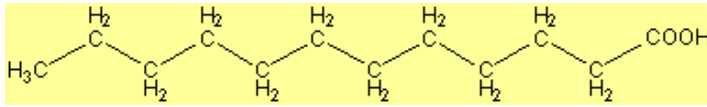
Lípidos simples

Os lípidos simples compreendem os glicéridos e as ceras. Os glicéridos são ésteres do glicerol e de ácidos gordos; são habitualmente designados por óleos ou gorduras, consoante se encontrem em estado líquido ou sólido, à temperatura ambiente. As ceras são igualmente ésteres, mas de mono-álcoois de elevado peso molecular.

Glicéridos

Como foi dito, os glicéridos são ésteres do glicerol de ácidos gordos. Estes, podem ser saturados ou possuírem uma ou mais duplas ligações (insaturados).

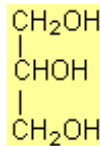
Os ácidos gordos saturados obedecem à fórmula $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_n - \text{COOH}$, e possuem um número par de átomos de carbono. A estrutura mais simples é do tipo representado na figura seguinte, tendo em conta que os ângulos de valências são de 109° .



Estrutura molecular de um ácido gordo

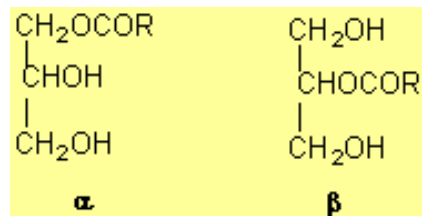
Os ácidos Gordos são insolúveis na água em razão da maior parte da molécula, formada por CH_2 , ser hidrofóbica, e somente o radical carboxílico ser hidrofílico.

O glicerol é um tri-álcool com três carbonos. É solúvel na água e insolúvel ou pouco solúvel nos solventes orgânicos.



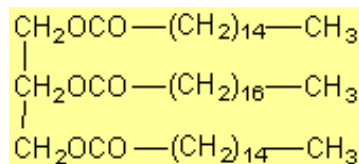
Glicerol

Ao ser esterificado por ácidos gordos, o glicerol dá origem aos glicéridos. Os monoglicéridos podem ser formados a partir de um álcool primário (isómero α) ou de um álcool secundário (isómero β).



Monoglicéridos: isômeros α e β

Quando todos os álcoois estiverem esterificados, obtêm-se um triglicérido.



Triglicérido: dipalmitoesterarina (2 ácidos palmíticos e 1 ácido esteárico)

Lípidos conjugados

Contrariamente aos lípidos simples, os lípidos conjugados contêm na sua molécula, outras substâncias para além do álcool estrutural e dos ácidos gordos, como fosfato, bases azotadas, açúcares, etc. Os mais importantes no contexto da biologia da célula, são os glicerofosfolípidos, os esfingolípidos e os glicolípidos.

(7, por exemplo) praticamente todo o ácido encontra-se ionizado, formando um sal com o seu contra-íon; num pH menor (3) todo o ácido encontra-se protonado.

A natureza do catião determina as propriedades do sal carboxílico formado. Em geral, sais com catiões bivalentes (Ca^{2+} ou Mg^{2+}) não são bem solúveis em água, ao contrário do formado com metais alcalinos (Na^+ , K^+ , etc.), que são bastante solúveis em água e em óleo - são conhecidos como sabão. É por este motivo que, em regiões onde a água é rica em metais alcalinos terrosos, é necessário se utilizar formulações especiais de sabão na hora de lavar a roupa.

Na água, em altas concentrações destes sais, ocorre a formação de **micelas** - glóbulos microscópicos formados pela agregação destas moléculas. Nas micelas, as regiões polares das moléculas de sabão encontram-se em contato com as moléculas de água, enquanto as regiões hidrofóbicas ficam no interior do glóbulo, em uma pseudofase orgânica, sem contato com a água.

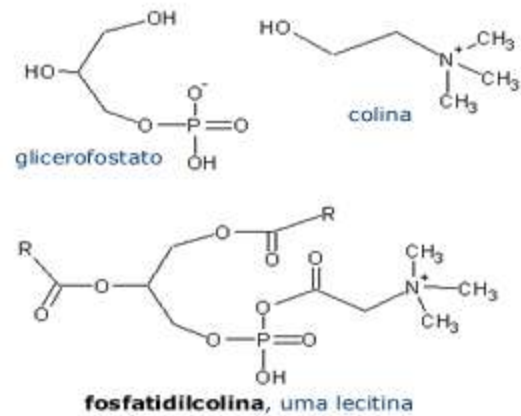
Os ácidos gordos também podem ser classificados como **saturados ou insaturados**, dependendo da ausência ou presença de ligações duplas carbono-carbono.

Os insaturados (que contém tais ligações) são facilmente convertidos em saturados através da hidrogenação catalítica (este processo é chamado de redução). **A presença de insaturação nas cadeias de ácido carboxílico dificulta a interação intermolecular**, fazendo com que, em geral, estes se apresentem, à temperatura ambiente, no estado líquido; já os saturados, com uma maior facilidade de empacotamento intermolecular, são sólidos. A **margarina**, por exemplo, é obtida através da hidrogenação de um líquido - o óleo de soja ou de milho, que é rico em ácidos gordos insaturados.

Conhecidos como gorduras neutras, esta grande classe de lípidos não contém grupos carregados. São **ésteres do glicerol** - 1,2,3-propanotriol. Estes ésteres possuem longas cadeias carbônicas ligadas ao glicerol, e a hidrólise ácida promove a formação dos ácidos gordos correspondentes e o álcool (glicerol). Nos animais, os TAGs são lípidos que servem, principalmente, para o **armazenamento de energia**; as células lipídicas são ricas em TAGs. É uma das mais eficientes formas de armazenamento de energia, principalmente com TAGs saturados; cada ligação C-H é um sítio potencial para a reação de oxidação, um processo que liberta muita energia. Os TAGs provindo de **animais terrestres contém uma maior quantidade de cadeias saturadas se comparados aos TAGs de animais aquáticos**. Embora menos eficientes no armazenamento de energia, as TAGs insaturadas oferecem uma vantagem para os animais aquáticos, principalmente para os que vivem em água fria: elas têm uma menor temperatura de fusão, permanecendo no estado líquido mesmo em baixas temperaturas. Se fossem saturadas, ficariam no estado sólido e teriam maior dificuldade de mobilidade no organismo do animal. Os TAGs podem ser chamados de **gorduras ou óleos**, dependendo do estado físico na temperatura ambiente: se forem sólidos, são gorduras, e líquidos são óleos. No organismo, tanto os óleos como as gorduras podem ser hidrolisados pelo auxílio de enzimas específicas, as lipases (tal como a fosfolipase A ou a lipase pancreática), que permitem a digestão destas substâncias.

Fosfolípidos

Os fosfolípidos são ésteres do glicerofosfato - um derivado fosfórico do glicerol. O fosfato é um diéster fosfórico, e o grupo polar do fosfolípido. A um dos oxigénios do fosfato podem estar ligados grupos neutros ou carregados, como a colina, a etanoamina, o inositol, glicerol ou outros. As fosfatidilcolinas, por exemplo, são chamadas de lecitinas.

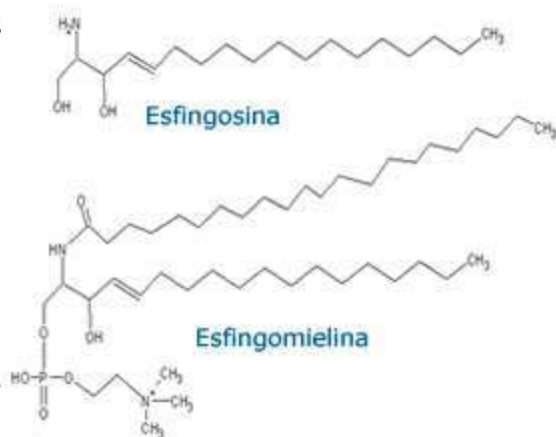


Os fosfolípidos ocorrem em praticamente todos os seres vivos. Como são anfífilos, também são capazes de formar pseudomicrofases em solução aquosa; a organização, entretanto, difere das micelas. **Os fosfolípidos se ordenam em bicamadas**, formando vesículas.

Estas estruturas são importantes para conter substâncias hidrossolúveis em um sistema aquoso - como no caso das membranas celulares. Mais de 40% das membranas das células do fígado, por exemplo, é composto por fosfolípidos. Envolvidos nestas bicamadas encontram-se outros compostos, como proteínas, açúcares e colesterol.

Esfingolípidos

A principal diferença entre os esfingolípidos e os fosfolípidos é o álcool no qual estes se baseiam: em vez do glicerol, eles são derivados de um amino álcool. Estes lípidos contêm **3 componentes fundamentais**: um grupo polar, um ácido gordo, e uma estrutura chamada base esfingóide - uma longa cadeia hidrocarbônica derivada do **d-eritro-2-amino-1,3-diol**. É chamado de base devido a presença do grupo amino que, em solução aquosa, pode ser convertido para o respectivo ião amônio.



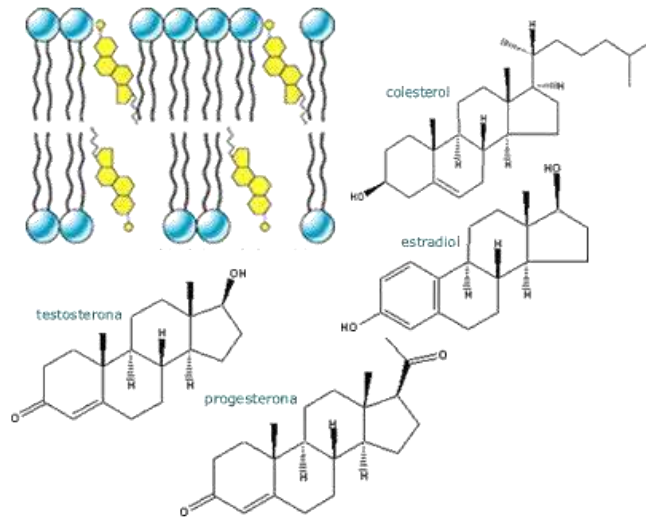
A esfingosina foi o primeiro membro desta classe a ser descoberto e, juntamente com a di-hidroesfingosina, são os grupos mais abundantes desta classe nos mamíferos. No di-hidro, a ligação dupla é reduzida. O grupo esfingóide é ligado ao ácido gordo graças a uma ligação amídica.

A esfingomielina, encontrada em muitos animais, é um exemplo de esfingolípido. Os vários tipos de esfingolípidos são classificados de acordo com o grupo que está ligado à base esfingóide. Se o grupo hidroxila estiver ligado a um açúcar, o composto é chamado de glicosfingolípido. O grupo pode ser, também, um éster fosfórico, como a fosfocolina, na esfingomielina. Gangliosídeos são glicosfingolípidos que contêm o ácido N-acetilneurâmico (ácido siálico) ligado à cadeia oligossacarídica. Estas espécies são

muito comuns no tecido cerebral.

Esteróides

Os esteróides são **lípidos derivados do colesterol**. Estes atuam, nos organismos, como hormonas e, nos humanos, são secretados pelas gónadas, córtex adrenal e pela placenta. A testosterona é a hormona sexual masculina, enquanto o estradiol é a hormona por muitas das características femininas.

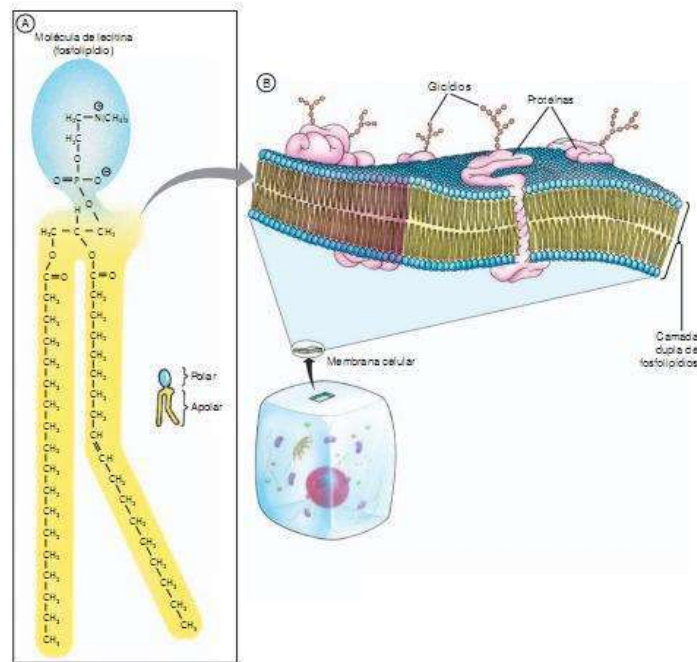


O colesterol, além da atividade hormonal, também desempenha um papel estrutural - habita a pseudofase orgânica nas membranas celulares. O colesterol é um composto vital para a maioria dos seres vivo.

Prostaglandinas

Estes lípidos não desempenham funções estruturais, mas são importantes componentes em vários processos metabólicos e de comunicação intercelular. Um dos processos mais importantes controlados pelas prostaglandinas é a **inflamação**. Todas estas substâncias têm estrutura química semelhante do ácido prostanóico, um anel de 5 membros com duas longas cadeias ligadas em trans nos carbonos 1 e 2. As prostaglandinas diferem do ácido prostanóico pela presença de insaturação ou substituição no anel ou da alteração das cadeias ligadas a ele.

Estrutura da Membrana Celular



A. Estrutura molecular da lecitina, um fosfolípido fundamental na composição das membranas das células vivas.

B. Representação esquemática da estrutura da membrana celular, mostrando a organização dos fosfolípido que a compõem. Note que há também moléculas de proteínas e de glúcidos dispersas na camada dupla de fosfolípidos.

Metabolismo e Integração Metabólica

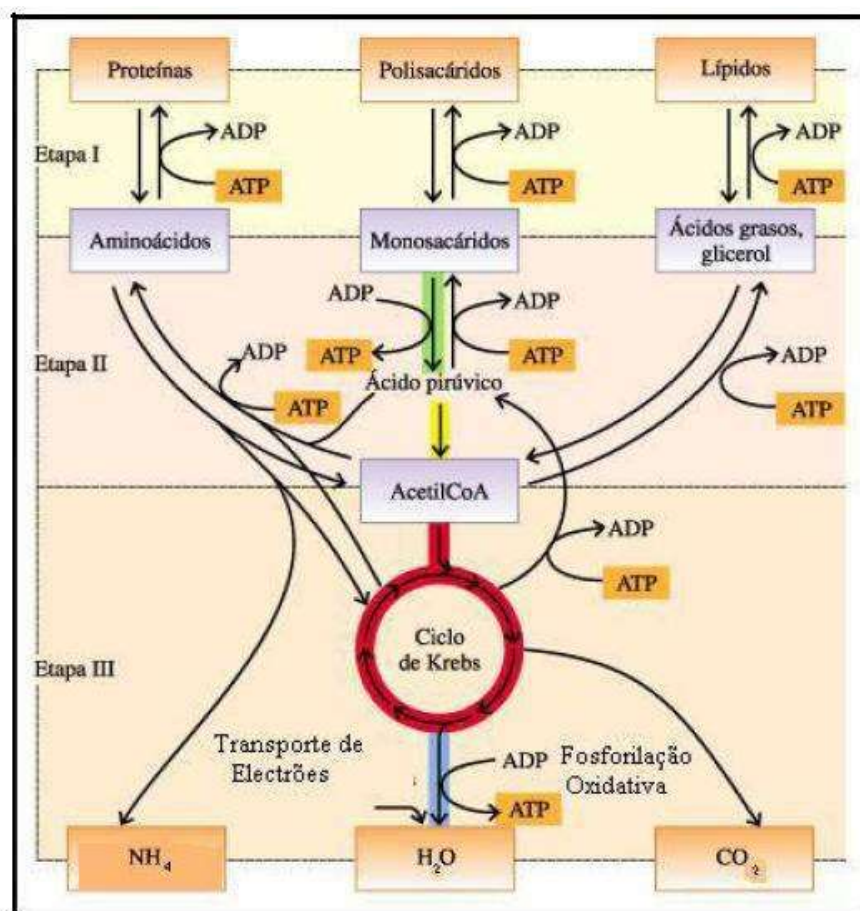
Metabolismo

Primeiramente, o metabolismo refere-se de grosso modo à síntese (anabolismo), à degradação (catabolismo) e à transformação de proteínas, ácidos gordos e hidratos de carbono.

Chama-se metabolismo, num sentido lato, ao conjunto de reações químicas que ocorrem nas células, e que lhe permitem manter-se viva, crescer e dividir-se. Classicamente, divide-se o metabolismo em:

Catabolismo – obtenção de energia e poder redutor a partir dos nutrientes.

Anabolismo – produção de novos componentes celulares, em processos que geralmente utilizam a energia e o poder redutor obtidos pelo catabolismo de nutrientes.



Várias vias metabólicas

Existe uma grande variedade de vias metabólicas. Nos humanos as vias metabólicas mais importantes são a Glicólise, onde ocorre a oxidação da glucose obtendo-se desta forma ATP; o Ciclo de Krebs sendo o acetil-CoA oxidado para obtenção de energia; na Fosforilação Oxidativa são eliminados os elétrons libertados na oxidação da glucose e do Acetil-CoA. Grande parte da energia libertada neste processo pode ser armazenada na célula sob a forma de ATP. Aquando da vida das pentose-fosfato processa-se a síntese de pentoses, obtendo-se também o poder redutor para reações anabólicas.

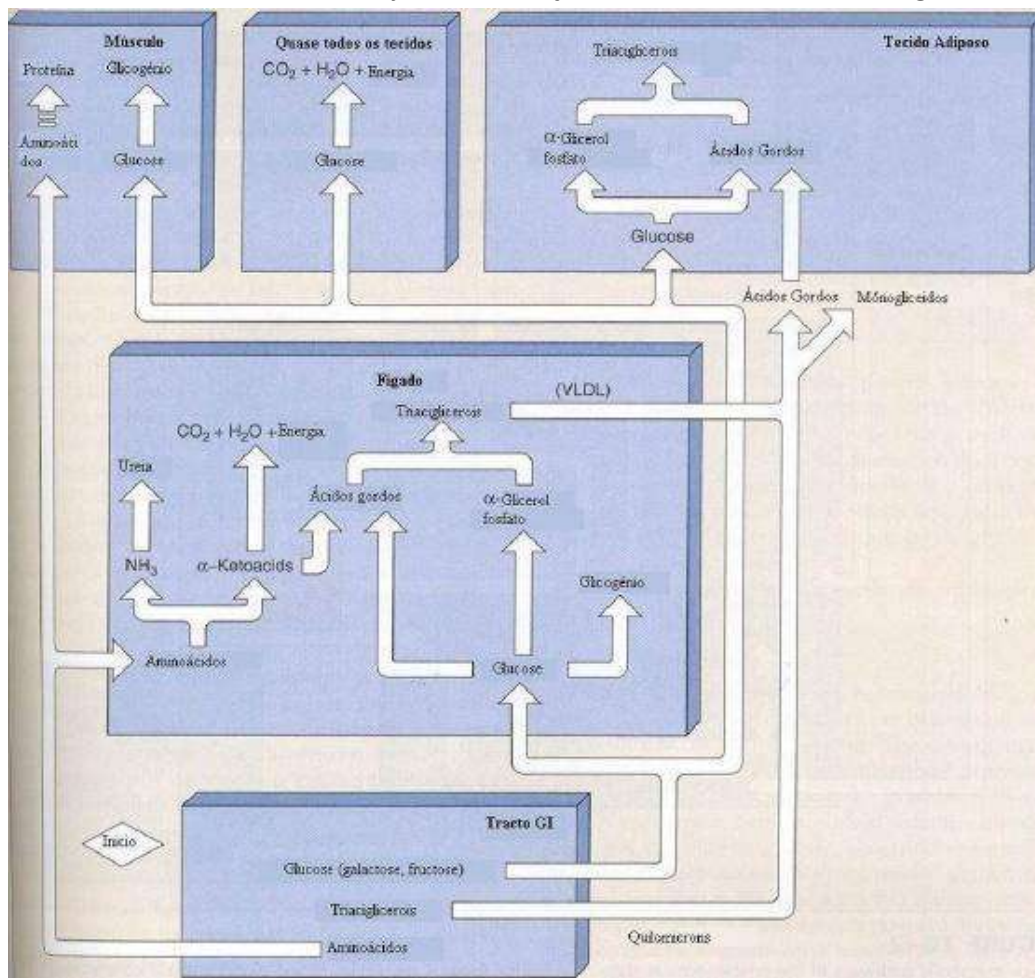
O Ciclo da Ureia contribui para a eliminação de NH_4^+ sob formas menos tóxicas. Na β -oxidação dos ácidos gordos ocorre a transformação de ácidos gordos em acetyl-CoA.

Finalmente na Glucogénese produz-se a glucose a partir de moléculas mais pequenas. As diversas vias metabólicas relacionam-se entre si de forma complexa, de modo a permitir uma regulação adequada. Este relacionamento envolve a regulação enzimática de cada uma das vias, o perfil metabólico característico de cada órgão e controlo hormonal.

Integração Metabólica

O equilíbrio das nossas reações químicas é dinâmico, ou seja, adapta-se às variações do meio externo dentro de um intervalo, de modo a que as células funcionem bem ainda que as concentrações não sejam sempre exatamente as mesmas. O objetivo final das células é produzir energia e manter-se vivas, havendo várias vias metabólicas responsáveis por esta finalidade, para além da preferencial.

A integração metabólica é a integração das várias vias metabólicas e o seu funcionamento conjunto para o funcionamento da célula em questão. As inter-relações entre os diferentes tipos de compostos são numerosas e deve considerar-se todo o metabolismo celular como um conjunto de reações harmoniosamente integradas.



Maior parte das vias metabólicas humanas num **pré-absorção** – o foco central é a regulação da concentração de glicose no sangue. As setas entre as caixas traduzem o transporte de substâncias no sangue.

Perfil metabólico dos principais órgãos



As diferenças na capacidade metabólica dos órgãos constituem um aspecto essencial da regulação metabólica. Permite, assim, uma interação entre órgãos dada através da existência de mecanismos de comunicação hormonal que facilitem um funcionamento integrado.

Fígado

Regula a disponibilidade de combustíveis metabólicos no organismo. Controla a glicemia e boa parte do metabolismo lipídico obtendo uma maior obtenção de energia necessária para essas funções a partir de outro tipo de nutrientes. Quando a glicemia é elevada, retira glicose “sérica”, transformando-a em forma de glicogénio.

Tecido adiposo

O tecido adiposo é a principal reserva de combustíveis metabólicos e precursores glucogénicos em jejum, estando assim o seu metabolismo estritamente relacionado com o metabolismo do fígado.

Quando existem muitos nutrientes, o fígado sintetiza ácidos gordos que são enviados para o tecido adiposo sob a forma de VLDL (lipoproteína). O tecido adiposo estratifica-as e armazena-as como triglicéridos. Quando a glicemia baixa, os triglicéridos do tecido adiposo são hidrolisados e passam a ácidos gordos e glicerol.

Estes compostos podem ser utilizados como combustível por alguns órgãos, ou são captados pelo fígado e são transformados em glicose (e glicerol) ou corpos cetónicos (ácidos gordos), que voltam à corrente circulatória para serem distribuídos pelo organismo.

O cérebro e o músculo

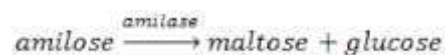
O cérebro é totalmente dependente da glucose como combustível. Só após a adaptação que se produz num jejum prolongado é que se podem utilizar, em determinada medida, os corpos cetónicos produzidos pelo fígado. Fora este caso, as necessidades da glucose diminuem mas não desaparecem.

Pelo contrário, o músculo é um tecido relativamente versátil relativamente às suas capacidades metabólicas. Em repouso, o sem combustível preferido é os ácidos gordos ou, corpos cetónicos, no caso do miocárdio.

Durante um exercício intenso, o músculo consome preferencialmente glucose e já vimos que se o exercício ocorre em condições anaeróbias, o ácido láctico produzido, pode ser transformado em glucose pelo fígado, de igual forma ai que ocorre com a alanina produzida a partir do excesso de piruvato. Durante um jejum prolongado, as proteínas do músculo podem degradar-se para resultar em intermédios neoglucogénicos.

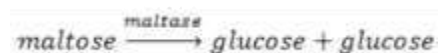
Metabolismo dos Glúcidos

Os glúcidos são nutrientes que se encontram normalmente nos alimentos dos animais ou dos microorganismos. Os glúcidos como o amido e o glicogénio são, em parte, hidrolisados por *amilases*, que quebram determinadas ligações obtendo-se maltose e glucose:



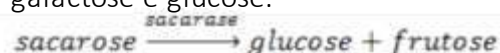
Degradação da amilase

A hidrólise das ligações glucosídicas do glucogénio realiza-se com mais dificuldade nos pontos de ramificação, que não são degradados pela *amilase*, resultado moléculas de maltose, maltotriose e de dextrina (oligossacárido). A dextrina sofre a ação da *oligo-1-6-glucosidade* segregada pelas células da mucosa intestinal. Por outro lado, a hidrólise da maltose e da maltotriose está a cargo da *glucosidade* e da *maltase*, originando duas moléculas de glucose.



Degradação da maltose

Apesar destes enzimas, ainda há as que catalisam os di-holósidos como a *frutosidase* (*sacarase* ou *invertase*), que hidrolisa a sacarose em glucose e frutose, e a *galactosidase* que hidrolisa a lactose em galactose e glucose.



Degradação da sacarose



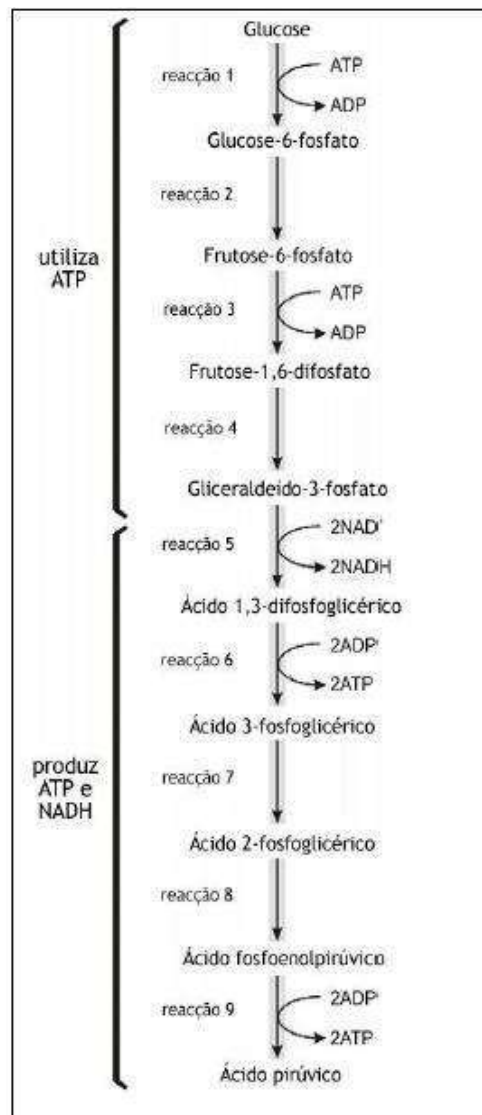
Degradação da lactose

GLUCÓLISE

O termo glucólise provém do grego glykos, doce, lysis, perda, ou seja, o desaparecimento de algo doce. Este é a principal via metabólica para obtenção de energia, ATP (adenosina trifosfato), através da degradação de moléculas de açúcar, pelo que é visto como o mecanismo oposto à gluconeogénese. É um processo considerado universal por ocorrer em quase todas as células vivas, para além de poder ocorrer em situações que haja falta de oxigénio.

Este mecanismo começou a ser estudado por volta de 1930 por bioquímicos alemães, entre os quais se destacaram **Gustav Embden** e **Otto Meyerhof**, que também estão na origem do nome alternativo desta via metabólica: via Embden-Meyerhof. Para as células armazenarem a glucose, no seu interior têm que lhe provocar algumas modificações. O processo consiste em duas fases, a primeira é extramitrocondrial (ocorre no citosol) e termina na produção do ácido pirúvico a dióxido de carbono (CO₂).

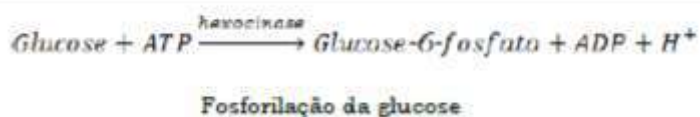
Para facilitar a compreensão do processo, este encontra-se dividido em várias reacções.



Processo da glucólise

Reação 1 – Fosforilação da glucose

No citosol da célula, a glucose sofre a ação de um enzima, a *hexocinase*. Este induz a ligação de um grupo fosfato, proveniente da molécula de ATP, ao oxigénio que se encontra ligado ao carbono-6 da cadeia, originando a glucose-6-fosfato que é retida no interior da célula, uma vez que a membrana lhe é permeável. A reação pode se descrita da seguinte maneira:



Reação 2 – Isomerização da glucose-6-fosfato

Para poder ser utilizada para fins energéticos, a glucose-6-fosfato é convertida em frutose-

6-fosfato por ação da *glucose-fosfato-isomerase*, numa solução alcalina fraca.

Reação 3 – Fosforilação da frutose-6-fosfato

Por ação do enzima *fosfofrutocinase*, a frutose-6-fosfato é fosforilada em frutose-1,6-difosfato, pela transferência de um grupo fosfato pelo ATP.

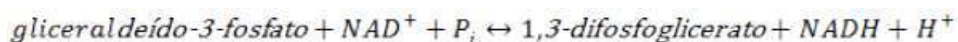
Reação 4 – Cisão da frutose-1,6-difosfato em trioses-fosfato

Nesta etapa ocorre a quebra de ligações da frutose-1,6-difosfato, por ação do enzima *aldolase*, e são formadas duas trioses isoméricas: gliceraldeído-3-fosfato e di-hidroxiacetona-fosfato.

Reação 5 – Oxidação do Gliceraldeído-3-fosfato

É nesta fase do processo que ocorre a única oxidação nesta via metabólica. A oxidação do gliceraldeído-3-fosfato é a primeira reação que permite a formação de energia, devido aos baixos potenciais de oxidação-redução dos aldeídos que permitem uma grande espontaneidade na reação desta molécula com o NAD^+ , produzindo o ATP (a partir do ADP e do fosfato inorgânico).

Para a reação ocorrer, é necessária a presença de um enzima para converter o gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase. Esta reação é representada pela seguinte equação:



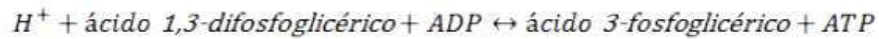
Oxidação do gliceraldeído-3-fosfato

Esta reação inicia-se quando um dos grupos que constituem o enzima se liga ao gliceraldeído-3-fosfato, por condensação. Por outro lado, devido à facilidade que existe na molécula de di-hidroxiacetona-fosfato por ser isomerada em gliceraldeído-3-fosfato, à medida que o gliceraldeído-3-fosfato é oxidado, a di-hidroxiacetona-fosfato é isomerizada, o que permite a continuidade do processo.

Reação 6 – Hidrólise do ácido 1,3-difosfoglicérico

Neste passo, a energia libertada pela hidrólise é usada na síntese de ATP, em que um dos grupos fosfato do ácido 1,3-difosfoglicérico é transferido para uma molécula de ADP, por ação do enzima *3-fosfoglicerato-cinase*, e forma-se o ácido 3-fosfoglicérico.

A reação é então representada pela seguinte equação:



Hidrólise do ácido 1,3-difosfoglicérico

Reações 7, 8 e 9 – Formação do Ácido Pirúvico

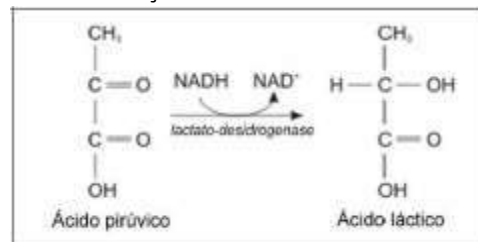
Na 7ª reação, através do enzima *fosfoglicerato-mutase*, o ácido 3-fosfoglicérico é transformado em ácido 2-fosfoglicérico, que na reação 8, é catalisado pelo enzima *enolase*, que provoca a desidratação do ácido 2-fosfoglicérico e forma-se o ácido fosfoenol-pirúvico. Na última reação, ocorre novamente uma fosforilação de ADP a ATP, devido à energia libertada pela reação 8, que com a ação da *piruvato-cinase*, permite a formação o ácido pirúvico.

Assim, a glucólise recorre a duas moléculas de ATP para decorrer, no entanto, produz quatro moléculas deste. Relativamente ao NAD^+ utilizado como substrato na oxidação do gliceraldeído-3-fosfato, é regenerado para este processo ter continuação através da reoxidação do NADH.

Esta poderá processar-se em condições aeróbias, através do sistema transportador de eletrões, ou por anaerobiose, em que o sistema transportador de eletrões não funciona e a célula recorre a outras reações para reoxidar o NADH, nomeadamente a produção de ácido láctico, a fermentação alcoólica e a redução da di-hidroxiacetona a glicerol.

Fermentação láctica

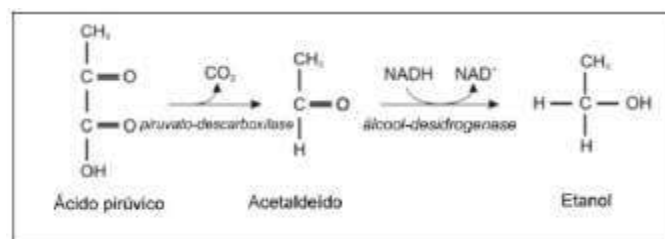
Nas células musculares, por catálise da *lactato-desidrogenase*, o ácido pirúvico é reduzido a ácido láctico e permite a oxidação do NADH a NAD^+ .



Fermentação Láctica

Fermentação alcoólica

O ácido pirúvico é numa primeira fase descarboxilado a dióxido de carbono e acetaldeído através da ação da *piruvato-descarboxilase*. Posteriormente, através da catalisação da *álcool-desidrogenase*, o acetaldeído é reduzido a etanol, o que permite a oxidação o NADH a NAD^+ .



Fermentação alcoólica

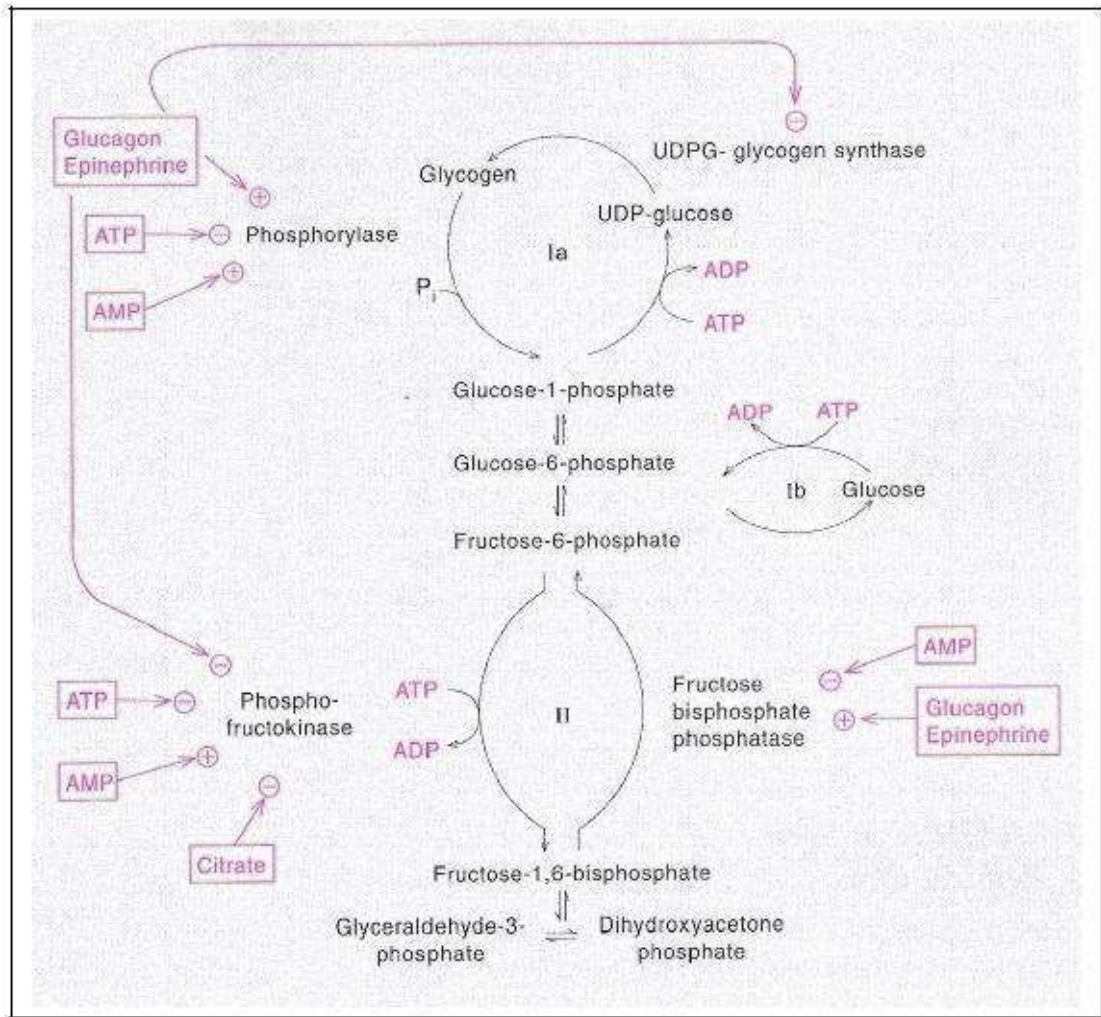
Regulação da glicólise e a neogluco-gênese

O controle do processo de regulação tanto da neogluco-gênese como da glicólise recai sobre os enzimas *hexocinase*, *fosfofrutocinase* e *piruvato-cinase* que catalisam as reações irreversíveis da glicólise, sendo a *fosfofrutocinase* o centro de regulação mais importante.

Na regulação da neogluco-gênese temos a *frutose-1,6-difosfatase*, enzima que atua ao mesmo nível da *fosfofrutocinase*. Esta última, que atua na regulação da glicólise, é inibida pela AMP (adenosina monofosfato) e ativada pelo ATP.

É necessário ter conhecimento que estes processos, glicólise e neogluco-gênese, ocorrem no mesmo compartimento celular (com a exceção da primeira reação da neogluco-gênese), o que faz com que tenham reações comuns, pelo que a regulação de ambos os processos tem de estar intimamente conjugada.

Uma regulação de tipo alostérico ocorre a nível da *fosfofrutocinase* e, juntamente com esta, o enzima que catalisa a reação no sentido inverso, a *frutose-1,6-difosfatase*. Quando se encontra em concentrações muito elevadas, a *fosfofrutocinase* é ativada pelo AMP e P_i (fosfato inorgânico), o que acontece com frequência em anaerobiose e, em qualquer caso quando o nível de reserva energética de ATP for reduzida. Por outro lado, o ATP também atua como inibidor sobretudo em aerobiose à custa de ADP e P_i e pode ser considerado produto final e último da glicólise.



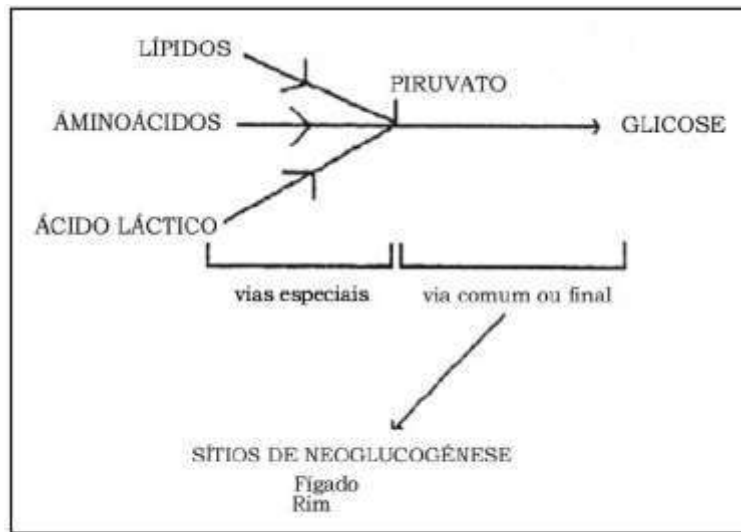
Regulação da glucólise e da neoglicogénese

Neoglucogénese

A neoglucogénese é o conjunto de vias metabólicas que permite utilizar compostos não glucídicos, como o lactato, o glicerol e a alanina. Este processo ocorre quando o organismo se encontra com hipoglicemia e permite manter os níveis de glicemia, uma vez que o sistema nervoso central apenas ocorre a esta molécula como fonte de energia.

Os precursores referidos anteriormente são encaminhados para uma via comum a partir do piruvato (ácido pirúvico) ou lactato (ácido láctico), existindo também vias especiais que vão dos precursores ao piruvato.

O fígado e o rim possuem uma elevada capacidade neoglucogénica.

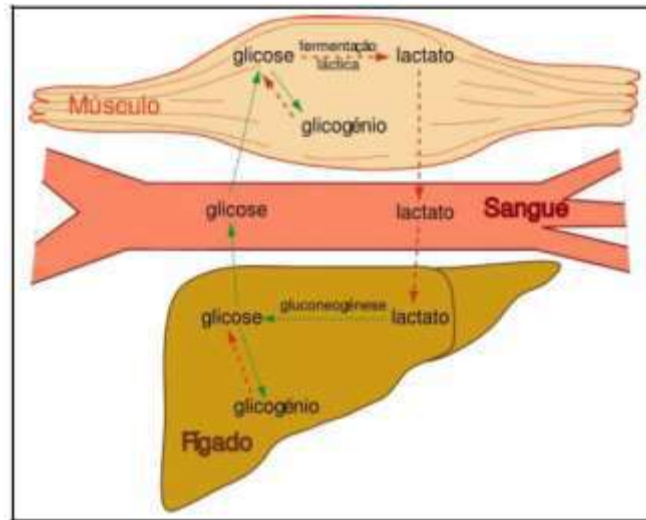


Vias da neoglucogénese

Via final

Há pontos de controlo-chave, regulados por enzimas que não catalisam reações reversíveis. Estes pontos de controlo são a transformação do ácido pirúvico em ácido fosfoenolpirúvico e as desforilações da frutose-1-6-difosfato e da glucose-6-fosfato. Estes enzimas que têm a particularidade de funcionar numa só direção chamam-se enzimas-chave, enquanto os que funcionam em ambos os sentidos têm por nome enzimas bifuncionais.

Ciclo de Cori

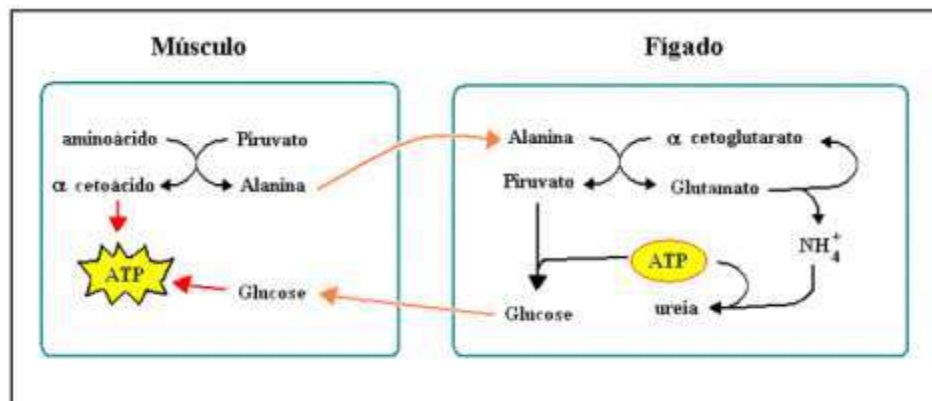


Ciclo de Cori

Durante a prática de exercício físico, forma-se lactato que é transportado para o fígado ou para o rim para ser oxidado em ácido pirúvico.

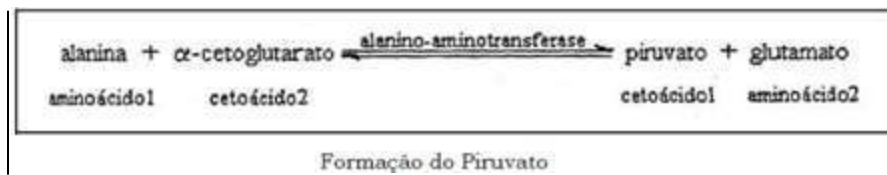
Ciclo da alanina

No músculo, o ácido pirúvico não é convertido em ácido fosfoenolpirúvico (PEP), uma vez que não tem enzimas glicogénicas-chave para tal processo, pelo que o ácido pirúvico sofre transaminação em alanina que ao ser transportada para o fígado pode ser transformada em ácido pirúvico e entrar na neoglucoénese.



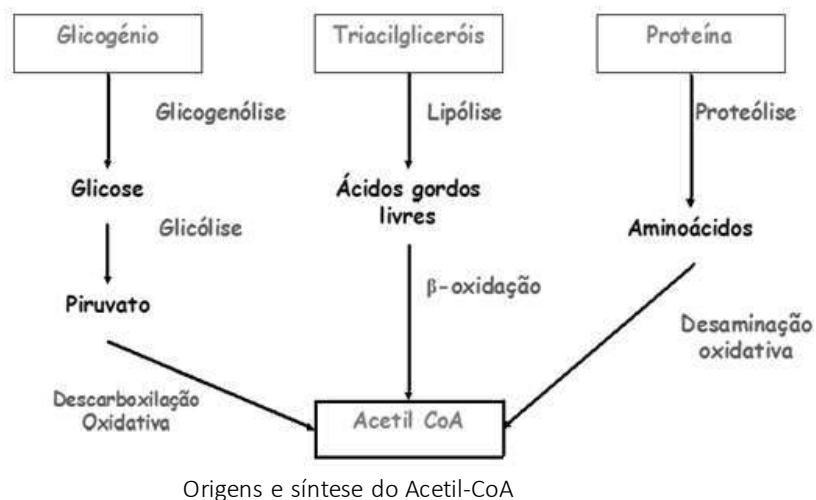
Ciclo da alanina

No músculo forma-se alanina que é excretada para o fígado, onde novamente por transaminação, se forma piruvato:

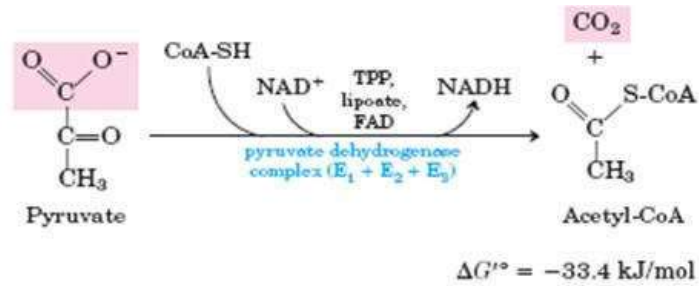


Origens e síntese do Acetil-CoA

O Acetil-CoA, componente fundamental e transversal no metabolismo dos seres vivos, forma-se a partir do catabolismo das três biomoléculas principais a nível energético. A partir dos açúcares (graças ao intermediário piruvato), por descarboxilação oxidativa; a partir dos lípidos que se decompõem em ácidos gordos livres, por beta-oxidação (não será aprofundado este mecanismo visto ter sido abordado anteriormente); a partir das proteínas, por desaminação oxidativa dos aminoácidos cetogénicos (entre outros).



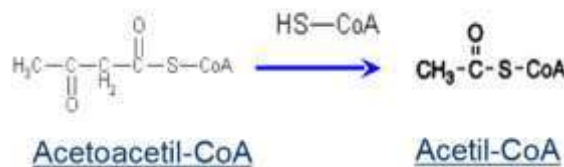
O mecanismo da descarboxilação oxidativa é realizado sequencialmente, na matriz mitocondrial, por ação do complexo multienzimático Piruvato Desidrogenase (PDH). Este é composto: pelos enzimas E1 – *Desidrogenase Pirúvica* (grupo prostético TPP), E2 – *Dihidrolipolitranscetilase* (g.p. Lipoamida) e E3- *Dihidropolidesidrogenase* (g.p. FAD); e pelos coenzimas Tiamina pirofosfato (TPP), Lipoamida, CoA, FAD, NAD⁺. Como se pode constatar pelo valor da energia livre de Gibbs, esta reação é fortemente exergónica, levando a que não seja reversível.



Formação do Acetil CoA a partir do piruvato

Catabolismo dos aminoácidos cetogénicos

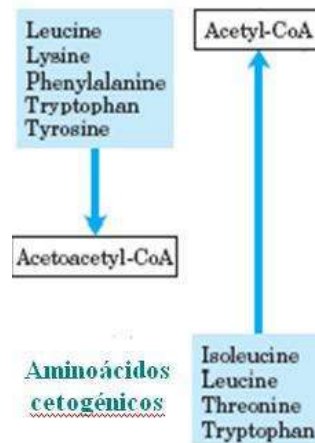
Os aminoácidos cetogénicos, por desaminação oxidativa, podem originar Acetil-CoA e Acetoacetil-CoA (origina Acetil-CoA por cisão tiolítica). Observamos na figura os aminoácidos que formam Acetil-CoA e Acetoacetil-CoA.



Conversão Acetoacetil-CoA Acetil-CoA

Aminoácidos que formam só Acetoacetil-CoA

A partir da Tirosina, por transaminação, obtém-se para-hidroxifenilpiruvato que é degradado em Fumaril-acetoacetato, que de seguida é hidrolisado em Acetoacetato que se degrada em Acetoacetil-CoA. Através da Fenilalanina, é possível obter Tirosina, que se degrada em Acetoacetil-CoA.



Aminoácidos que formam Acetoacetil-CoA e Acetil-CoA

A partir da Leucina, por perda dos grupos α -amina em reações de transaminação, formam-se α -cetoácidos ramificados que, por cisão tiolítica, formam Acil-CoA. Este dá origem a Acetil-CoA e Acetoacetato que se decompõe em Acetoacetil-CoA. O Triptofano, gera 3-hidroxiantranilato que se degrada em Acetil-CoA. Por outro lado, o Triptofano degrada-se em Glutanil-CoA que se degrada em Acetoacetil-CoA.

Aminoácidos que formam só Acetil-CoA

A partir da Isoleucina, por perda dos grupos α -amina em reações de transaminação, formam-se α -cetoácidos ramificados que, por cisão tiolítica, formam acetil-CoA.

A partir da Treonina, por ação da treonina desidrogenase, forma-se o 2-amino-3-cetobutirato, que por ação de uma ligase gera Acetil-CoA.

Ciclo de KREBS

O ciclo de Krebs vai aproveitar o catabolismo das principais biomoléculas para a obtenção de energia. É um ciclo anfibólico que se realiza na matriz mitocondrial pois é aí que se encontra as principais fontes do seu substrato – Acetil-CoA. O seu objetivo primário é a oxidação completa de Acetil-CoA em CO_2 resultando na formação de equivalentes redutores através de oito reações sequenciais.

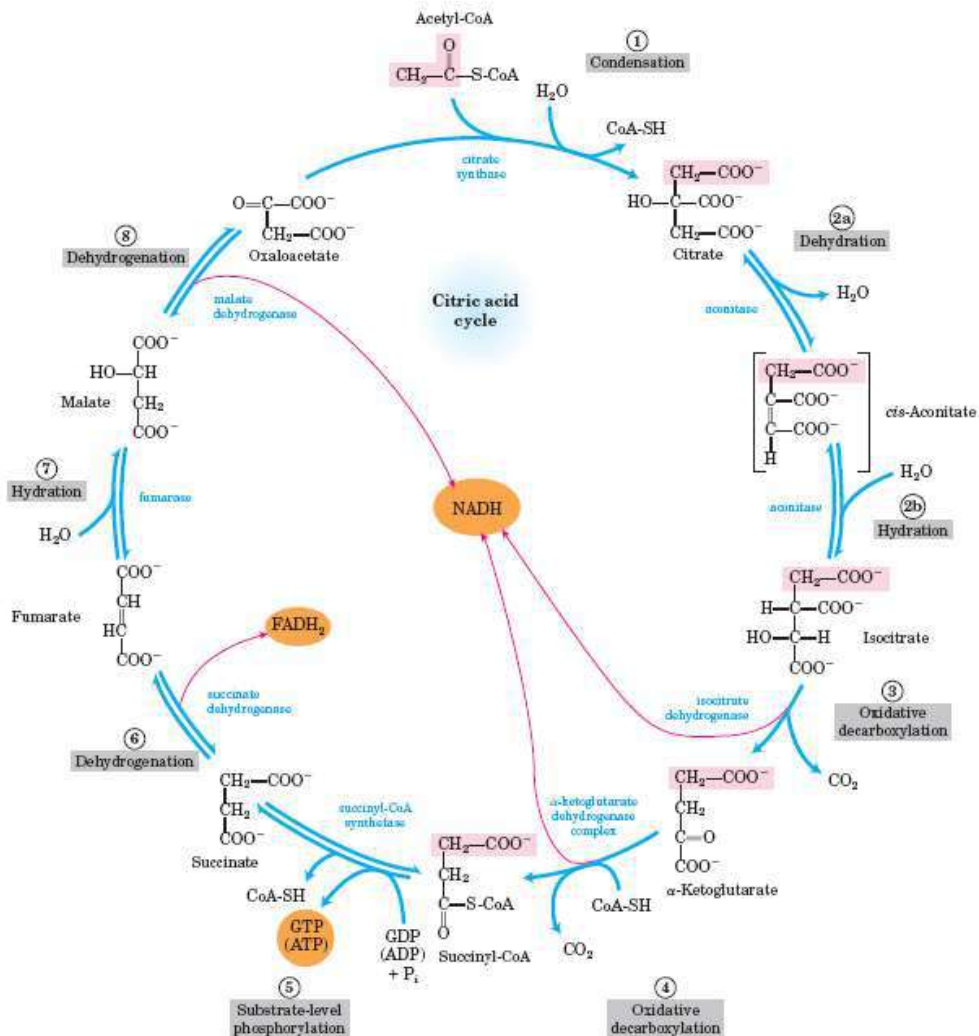
1- Por ação dos enzimas da glicólise a glicose é, no citosol das células, parcialmente oxidada a piruvato. O piruvato entra para a mitocôndria e, através da ação catalítica da desidrogenase do piruvato ($\text{piruvato} + \text{NAD}^+ + \text{CoA} \rightarrow \text{acetil-CoA} + \text{NADH} + \text{CO}_2$), dá origem a **acetil-CoA**. No catabolismo dos aminoácidos, dos ácidos gordos e do etanol também se forma acetil-CoA. O ciclo de Krebs (do citrato ou dos ácidos tricarbóxicos) é uma via metabólica central no metabolismo dos nutrientes pois permite a **oxidação do grupo acetilo da acetil-CoA (a CO_2) com a concomitante redução do NAD^+ e do FAD a NADH e FADH_2 que são intermediários no processo de redução do O_2 (a H_2O).**

2- Nas mitocôndrias hepáticas, os enzimas envolvidos nas reações do ciclo de Krebs são: (1) a **síntase do citrato** ($\text{acetil-CoA} + \text{oxalacetato} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{citrato} + \text{CoA}$), (2) a **aconitase** ($\text{citrato} \leftrightarrow \text{isocitrato}$), (3) a **desidrogenase do isocitrato** ($\text{isocitrato} + \text{NAD}^+ \rightarrow \alpha\text{-cetogluturato} + \text{CO}_2 + \text{NADH}$), (4) a **desidrogenase do α -cetogluturato** ($\alpha\text{-cetogluturato} + \text{NAD}^+ + \text{CoA} \rightarrow \text{succinil-CoA} + \text{NADH} + \text{CO}_2$), (5) a **sintetase de succinil-CoA** [$\text{succinil-CoA} + \text{GDP}$ (ou ADP) + $\text{Pi} \leftrightarrow \text{succinato} + \text{CoA} + \text{GTP}$ (ou ATP)], (6) a **desidrogenase do succinato** ($\text{succinato} + \text{FAD} \leftrightarrow \text{fumarato} + \text{FADH}_2$), (7) a **fumarase** ($\text{fumarato} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{malato}$) e (8) a **desidrogenase do malato** ($\text{malato} + \text{NAD}^+ \leftrightarrow \text{oxalacetato} + \text{NADH}$). A **sintetase** de succinil-CoA existe na forma de dois isoenzimas sendo que um deles tem maior especificidade para o ADP e a outra maior especificidade para o GDP. Embora a **cínase dos nucleosídeos-difosfatos** não seja, habitualmente, considerada um enzima do ciclo de Krebs ela tem um papel importante neste contexto já que permite a transferência do fosfato terminal do GTP (formado pela ação de um dos isoenzimas da **cínase** do succinato) para o ADP e a formação de ATP ($\text{GTP} + \text{ADP} \leftrightarrow \text{GDP} + \text{ATP}$). Por contraponto com a formação de ATP na fosforilação oxidativa esta fosforilação do ADP diz-se que ocorre “ao nível do substrato”.

3- A fase preparatória da oxidação do **grupo acetilo da acetil-CoA** a CO_2 começa com a sua **ligação ao oxalacetato** por ação da **síntase** do citrato. Os **passos oxidativos** em que ocorre a redução do NAD^+ e do FAD são os **catalisados pelas desidrogenases do isocitrato, α -cetogluturato, do malato** (NAD^+ reduzido a NADH) e **do succinato** (FAD reduzido a FADH_2). As **descarboxilações** (e consequente libertação de CO_2) ocorrem durante as ações catalíticas da **desidrogenase** do isocitrato [$\text{isocitrato} (6\text{C}) + \text{NAD}^+ \rightarrow \alpha\text{-cetogluturato} (5\text{C}) + \text{CO}_2 + \text{NADH}$] e da **desidrogenase** do α -cetogluturato [$\alpha\text{-cetogluturato} (5\text{C}) + \text{NAD}^+ + \text{CoA}$

→ succinil-CoA (4C-CoA) + NADH + CO₂]. No “último” passo do ciclo de Krebs ocorre a **regeneração do oxalacetato**.

Uma visão global do processo permite compreender que se diga que o **oxalacetato** tem, no ciclo de Krebs, **um papel catalítico**.



Tal como os enzimas (que em cada ciclo catalítico se ligam ao substrato e se regeneram como enzima livre após a formação do produto) o oxalacetato reage com o acetil-CoA na “primeira” reação do ciclo mas é regenerado na “última” quando o malato é oxidado.

4- A equação que descreve o somatório das reações que constituem o ciclo de Krebs $\text{CH}_3\text{CO-CoA} + 2 \text{H}_2\text{O} + 3 \text{NAD}^+ + \text{FAD} + \text{ADP} + \text{P}_i \rightarrow 2 \text{CO}_2 + \text{CoA} + 3 \text{NADH} + \text{FADH}_2 + \text{ATP}$ mostra que, **conceptualmente**, este pode ser entendido como um somatório de três processos: (1) a hidrólise da acetil-CoA, (2) a oxidação do acetato a CO₂ e (3) a síntese de ATP (a partir de ADP + Pi). $\text{CH}_3\text{CO-CoA} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CoA} + \text{CH}_3\text{COOH}$ (1) $\text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} + 3\text{NAD}^+ + \text{FAD} \rightarrow 2\text{CO}_2 + 3 \text{NADH} + \text{FADH}_2$ (2) $\text{ADP} + \text{P}_i \rightarrow \text{ATP} + \text{H}_2\text{O}$

Os processos (1) e (2) referidos acima são exergônicos enquanto o (3) é endergônico e só ocorre porque está acoplado, via ação catalítica da sintetase do succinato e da cínase dos nucleosídeos-difosfatos, com os processos exergônicos de rotura da ligação tioéster do succinil-CoA (catalisada pela sintetase de succinil-CoA) e da ligação anidrido (β-γ) do GTP (catalisada pela cínase dos nucleosídeos difosfatos).

5- A oxidação do grupo acetilo do acetil-CoA implica a redução do NAD⁺ a NADH₂ e do FAD a

FADH₂. O processo só pode ocorrer **em regime aeróbio** pois o **único** mecanismo que, **na mitocôndria**, permite a regeneração do NAD⁺ e do FAD é a cadeia respiratória que consome O₂. O O₂ é o oxidante último que, na **cadeia respiratória**, se reduz a H₂O possibilitando esta regeneração. O NAD⁺ e o FAD existem nas células em concentrações de ordem micromolar e têm de ser regenerados para permitir a oxidação da glicose, de ácidos gordos, de etanol e de aminoácidos que são ingeridos em quantidades de alguns moles por dia.

6- Os enzimas que catalisam **reações fisiologicamente irreversíveis são as catalisadas pela síntase do citrato e pelos desidrogénases do isocitrato e do α-cetoglutarato**. Estes enzimas são todos **inibidos pelo ATP e estimuladas pelo ADP** de tal forma que a velocidade com que ocorre a oxidação de acetil-CoA e a formação de CO₂ aumenta quando aumenta a velocidade de hidrólise do ATP. As desidrogénases do isocitrato e do α-cetoglutarato também são **inibidas** por um dos produtos, o **NADH**; em condições metabólicas (como, por exemplo, déficit de O₂) em que a velocidade dos processos oxidativos da cadeia respiratória está é baixa ocorre acumulação de NADH que inibe a oxidação da acetil-CoA e a produção de CO₂. Assim no processo evolutivo foram, nestes enzimas, positivamente selecionados características que contribuem para a homeostasia e em particular para a manutenção de concentrações de ATP compatíveis com a vida e o trabalho celular.

7- É de notar que **o acetil-CoA não estimula a atividade dos enzimas do ciclo de Krebs**; ou seja, não é de esperar que a ingestão aumentada de glicose leve por si só a um aumento da oxidação da acetil-CoA formada a partir desta. Os sistemas oxidativos e em particular o ciclo de Krebs funcionam mais ou menos lentamente em função do gasto de ATP: só é possível aumentar a oxidação do acetil-CoA (e, em última análise, a oxidação dos nutrientes) aumentando o consumo de ATP, ou seja, fazendo exercício.

8- O ciclo de Krebs tem carácter **anfibiólico**: os intermediários deste ciclo são intermediários no **catabolismo dos nutrientes** mas também podem ser intermediários em **processos anabólicos**, como a síntese de ácidos gordos a partir de glicose, a síntese de glicose a partir de muitos aminoácidos ou a síntese de alguns aminoácidos a partir de glicose.

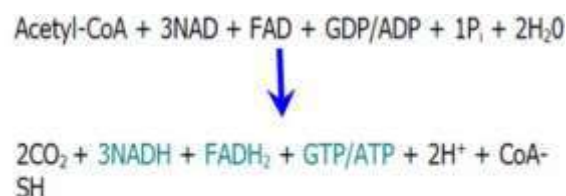
9- O acetil-CoA, reage com um intermediário do ciclo de Krebs (o oxalacetato) formando citrato. Esta reação pode ser interpretada como a conversão de um intermediário do ciclo de Krebs noutro intermediário do ciclo de Krebs e não pode, por este motivo, aumentar a concentração dos intermediários do ciclo de Krebs entendidos como um todo. Pelo contrário, alguns aminoácidos (como, por exemplo, o glutamato, a metionina, a fenilalanina e o aspartato) geram, no seu catabolismo, intermediários do ciclo de Krebs mas o processo não pode ser interpretado como a conversão de um intermediário noutro. Estes aminoácidos dizem-se glicogénicos porque aumentam a concentração dos intermediários do ciclo de Krebs podendo formar oxalacetato que pode converter-se em glicose. Ao conjunto dos processos que permite formar glicose a partir de compostos não glicídicos chama-se gliconeogénese.

10- A maioria dos ácidos gordos contém um **número par de carbonos**. Estes ácidos gordos geram, no seu catabolismo, **apenas acetil-CoA** e não podem, portanto, contribuir para a formação de glicose: **não são glicogénicos**. Pelo contrário, **a glicose pode dar origem a ácidos gordos** cuja síntese ocorre no citosol partindo de acetil-CoA (**lipogénese**). O acetil-CoA que

se forma a partir do piruvato e que, num determinado momento, está em excesso relativamente às necessidades energéticas da célula não pode ser oxidada a CO_2 sendo convertida em ácidos gordos no citosol das células. O acetil-CoA não pode sair da mitocôndria **diretamente** porque não existe, na membrana interna da mitocôndria, um transportador adequado para esta substância. Contudo, existe um mecanismo complexo que permite o transporte de acetil-CoA para o citosol. Este mecanismo envolve as atividades catalíticas da (1) **síntase do citrato** ($\text{oxalacetato} + \text{acetil-CoA} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{citrato} + \text{CoA}$) dentro da mitocôndria, (2) de um transportador para o citrato e, (3) já no citosol, da **líase docitrato-ATP** ($\text{ATP} + \text{citrato} + \text{CoA} \rightarrow \text{oxalacetato} + \text{ADP} + \text{P}_i + \text{acetil-CoA}$). O somatório das ações combinadas dos dois enzimas e do transportador de citrato mostra que o transporte de acetil-CoA ocorre à custa do gasto de uma “ligação rica em energia” do ATP: $\text{acetil-CoA (mit.)} + \text{oxalacetato (mit.)} + \text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{acetil-CoA (cit.)} + \text{oxalacetato (cit.)} + \text{ADP} + \text{P}_i$.

Caraterísticas energéticas do ciclo de Krebs

No fim de um ciclo de Krebs completo, que se dá segundo a seguinte equação química:



é possível obter o seguinte rendimento energético: 3 moléculas de NADH, uma molécula de FADH_2 e uma molécula de GTP/ATP. Em termos energéticos as moléculas de ATP e de GTP são semelhantes e, como tal, a única razão para a produção de uma ou de outra no ciclo de Krebs relaciona-se apenas com o tecido onde o ciclo se dá, ou seja, com a afinidade de cada tecido para cada uma das moléculas. Embora em cada ciclo apenas seja produzida uma molécula de GTP/ATP, o rendimento global vai ser muito superior, pois as 4 moléculas reduzidas nas diferentes etapas oxidativas do ciclo de Krebs (NADH e FADH_2) são depois transportadas para a cadeia respiratória onde através de fosforilação oxidativa irão gerar mais ATP.

Caraterísticas anfibólicas do ciclo de Krebs

Uma das caraterísticas do ciclo de Krebs está relacionada com o fato de este ser um ciclo anfibólico, ou seja, tem a capacidade de participar em reações de catabolismo e de anabolismo. Por um lado participa, tal como foi visto anteriormente, no catabolismo de aminoácidos, ácidos gordos e oses, que servem como precursores de vários intermediários do ciclo. Por outro lado, em caso de necessidade, alguns intermediários do ciclo também podem servir como precursores na biossíntese de determinados compostos. Alguns exemplos importantes são os casos do oxaloacetato e do alpha-cetoglutarato que por transaminação dão origem respectivamente ao aspartato e ao glutamato, que por sua vez são precursores de outros aminoácidos e de bases azotadas. O succinil-CoA também tem um papel muito importante, ao ser um precursor das porfirinas, constituintes do grupo

grupo heme.

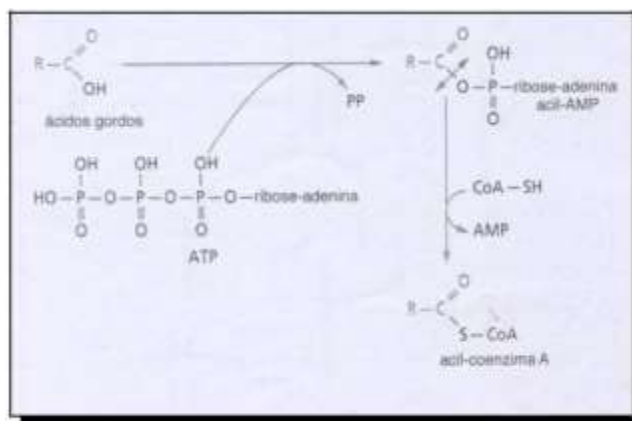
Todavia, para que um ciclo decorra normalmente é necessário que as concentrações dos vários intermediários se mantenham mais ou menos constantes, e como tal torna-se necessário repor um dos intermediários de cada vez que este sai do ciclo para originar outro composto. Para que isso seja possível ocorrem as chamadas reações anapleróticas, que permitem uma renovação eficiente dos intermediários em caso de necessidade. Estas reações permitem regenerar as concentrações de malato e oxaloacetato a partir do piruvato e do fosfoenolpiruvato.

Formas de regulação do ciclo de Krebs

A regulação do ciclo de Krebs é feita em todas as etapas devido à concentração dos substratos e dos produtos. Contudo, é importante referir o papel que têm as etapas mais exergónicas (síntese do citrato, descarboxilação do isocitrato e descarboxilação do alpha-cetoglutarato) nessa mesma regulação, visto serem consideradas as etapas limitantes do ciclo. Torna-se necessário existir um controlo mais eficaz destas etapas, pois devido às suas características exergónicas são as que têm mais tendência para se dar. Os enzimas participantes nestas 3 etapas são regulados de forma alostérica por ação de vários compostos. Também se deve referir o papel da regulação da conversão do piruvato em Acetil-CoA que, embora não faça parte do ciclo, influencia o funcionamento deste através do controlo da quantidade de Acetil-CoA que reage com o oxaloacetato. A regulação desta conversão é feita de forma alostérica e covalente. É importante referir a regulação covalente do complexo PDH visto esta ser semelhante à do complexo alpha-cetoglutarato desidrogenase (os dois são estruturalmente semelhantes). Na presença de uma grande concentração de ATP, a enzima E_1 do complexo sofre uma fosforilação num resíduo específico de serotonina, fazendo com que a proteína altere a sua conformação e consequentemente a sua função.

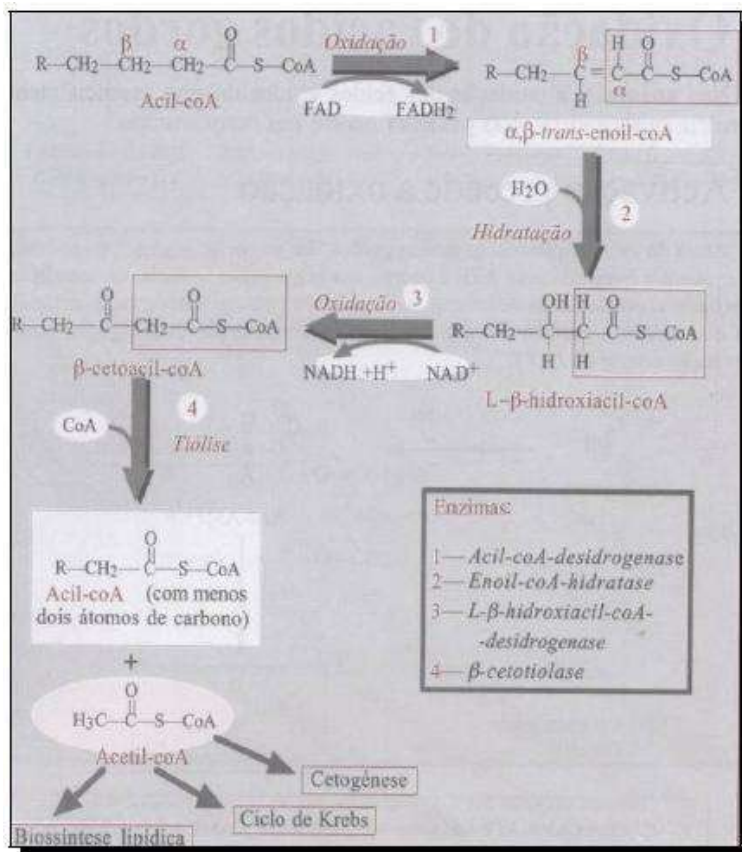
β -Oxidação dos Ácidos Gordos

A lipólise compreende a ativação dos ácidos gordos. Esta ativação, que produz Acil-CoA, ocorre na membrana mitocondrial externa, enquanto a oxidação ocorre na matriz mitocondrial dos hepatócitos. Este é um processo ativado pela glucagina quando é necessário mobilizar reservas.

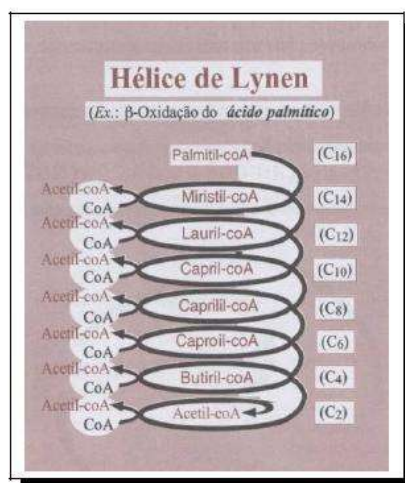


Ativação dos ácidos gordos (Adaptado de WEIL, 2000)

O acil-CoA formado entra na vida da β -oxidação, numa reação cíclica.



Note-se que na última reação, cada Acil-CoA formado sofrerá por sua vez a mesma série de quatro reações para originar um Acetil-CoA e um novo Acil-CoA, sempre com menos dois carbonos que aquele que lhe deu origem. Este processo é exemplificativo para o ácido palmítico onde cada espiral representa um conjunto de reações que permite oxidar dois carbonos. Conseqüentemente o número de reações em espiral, em cada ácido gordo, é função do tamanho do mesmo.



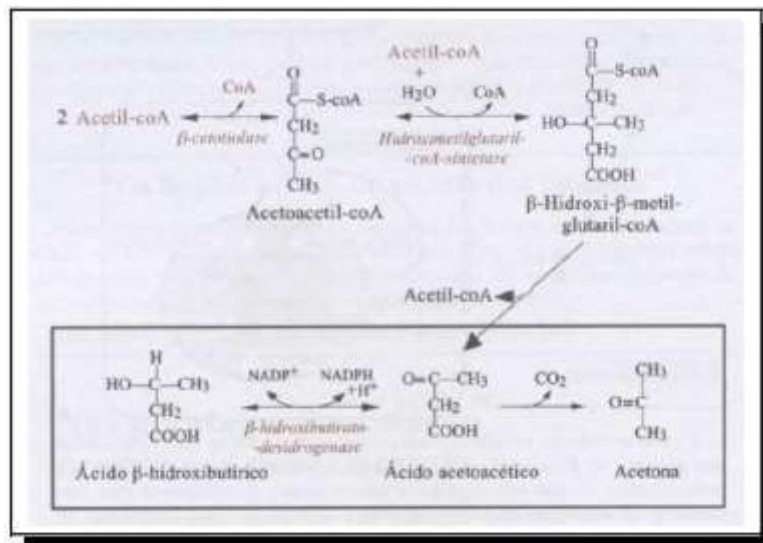
β -Oxidação do ácido palmítico segundo a hélice de Lynen (Adaptado de CAMPOS, 2002)

A β -oxidação permite à célula obter H_2O e ATP. O balanço energético é:

- Por cada volta da espiral – 2 a 3 ATP;
- Por cada ciclo de Krebs – 12 ATP;
- Por cada átomo de carbono – 8 ATP.

Cetogénese

O acetil-CoA produzido pela oxidação de ácidos gordos pode ser oxidado adicionalmente no ciclo do ácido cítrico. Nas mitocôndrias dos hepatócitos, parte desse acetil-CoA tem outro destino: Cetogénese que compreende a formação de corpos cetónicos, sendo então convertido em ácido acetoacético, ácido β -hidroxibutírico, e acetona.



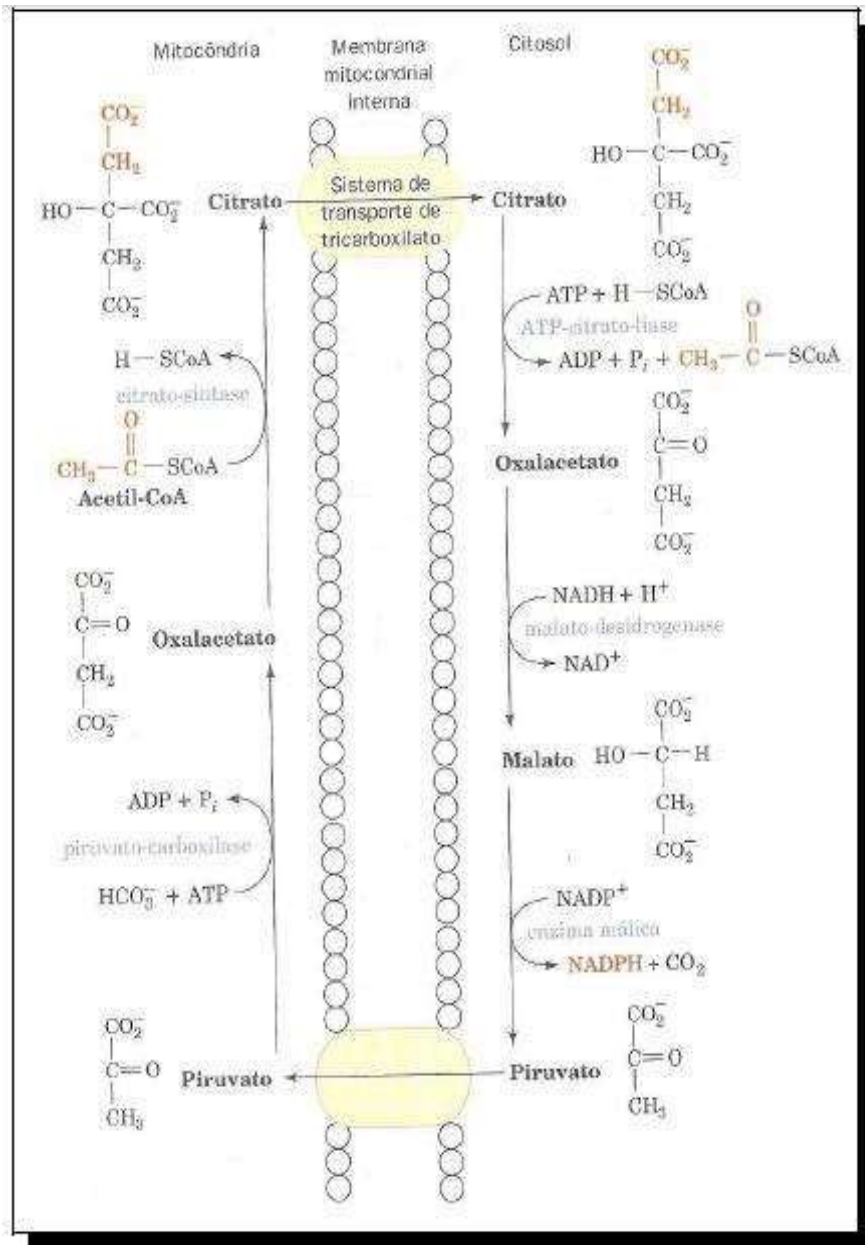
Cetogénese (adaptado de CAMPOS, 2002)

A regulação da cetogénese, alude que esta é essencialmente dependente da concentração de duas hormonas: a insulina e a glucagina.

Relativamente às funções metabólicas dos corpos cetónicos, estes são combustíveis metabólicos importantes para vários tecidos periféricos, nomeadamente para o coração e para o músculo-esquelético. Em situações normais, o cérebro utiliza apenas a glicose como fonte de energia, pois os ácidos gordos são incapazes de passar a barreira hematoencefálica. No entanto, durante um jejum prolongado, os pequenos corpos cetónicos hidrossolúveis torna-se a principal fonte de combustível metabólico do cérebro.

Biossíntese dos Ácidos Gordos

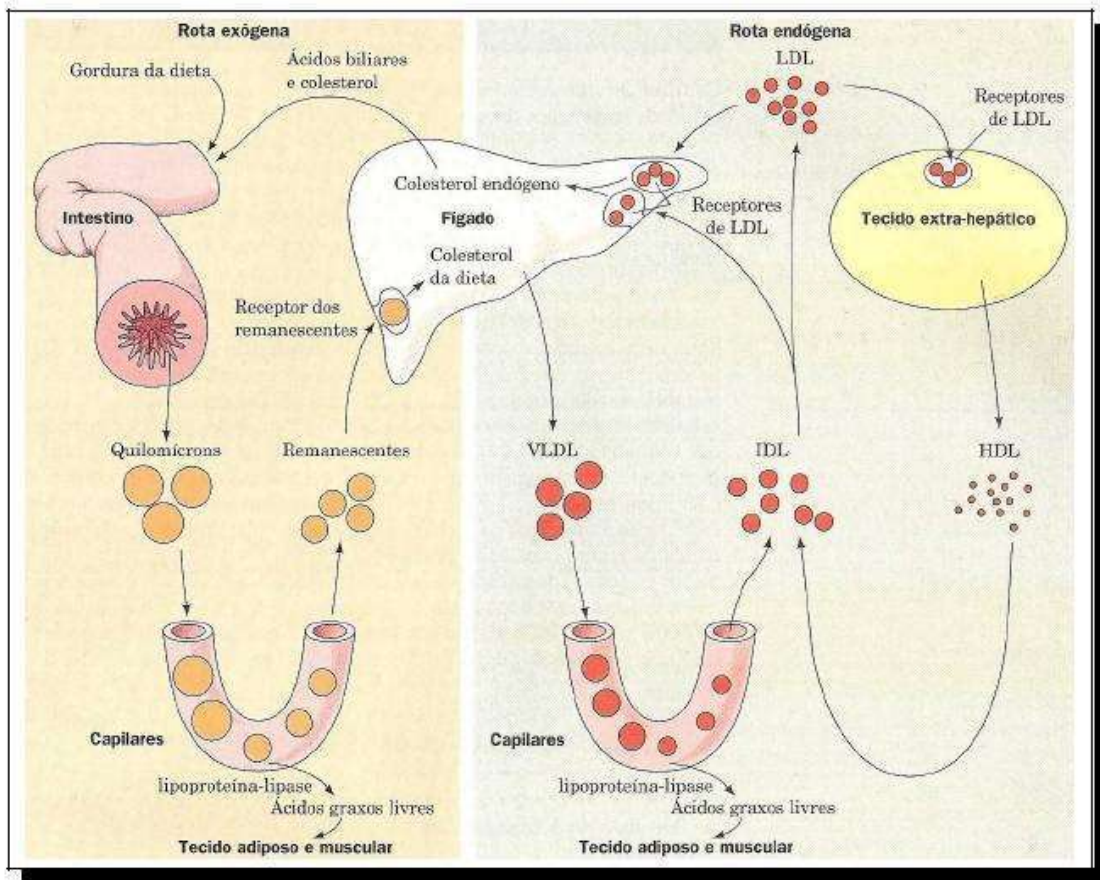
A síntese dos ácidos é um processo complexo que ocorre em várias etapas distribuídas entre o citoplasma e as mitocôndrias das células. Inicia-se quando existe baixas concentrações de Acetil-CoA no citoplasma, e é regulado pela insulina. Como o Acetil-CoA não pode atravessar a membrana mitocondrial, o seu transporte é feito com a intervenção do citrato:



Sistema de transporte de Citrato/ Acetil-CoA entre o citoplasma e a mitocôndria (Adaptado de VOET *et al.*, 2000)

Transporte dos Lípidos

Os lípidos por serem substâncias hidrófobas necessitam de um sistema de transporte que lhes possibilite o deslocamento na corrente sanguínea. Esse transporte é feito peças lipoproteínas ou pela ligação à albumina, no caso dos ácidos gordos livres.



Modelo de transporte plasmático de triglicéridos e de colesterol em seres humanos

Metabolismo dos corpos cetônicos

1- Durante o jejum a glicemia diminui induzindo diminuição da liberação de insulina nas células β dos ilhéus de Langerhans. No tecido adiposo, a queda da insulinemia provoca aumento da atividade da *lipase* hormono-sensível e consequente liberação de ácidos gordos para o sangue. Nestas circunstâncias, a maior parte dos tecidos (nomeadamente os tecidos muscular esquelético e cardíaco) utiliza os ácidos gordos como combustível preferencial poupando glicose. No cérebro, no entanto, devido a características particulares nas células endoteliais dos capilares sanguíneos a maior parte dos ácidos gordos não é capaz de atravessar a chamada “barreira hemato-encefálica”. Embora o combustível preferencial do tecido cerebral seja a glicose, à medida que o tempo de jejum aumenta, o cérebro passa também a usar como combustíveis os ácidos D- β -hidroxibutírico ($\text{CH}_3\text{CHOHCH}_2\text{COOH}$) e acetacético ($\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{COOH}$) que são formados nas mitocôndrias do fígado por oxidação incompleta dos ácidos gordos.

2- Por razões de tradição os ácidos D- β -hidroxibutírico e acetacético e a acetona (CH_3COCH_3) são coletivamente designados como corpos cetônicos. No plasma sanguíneo a concentração dos corpos cetônicos pode variar entre valores tão baixos como 0.1 mM (estado bem alimentado) e tão altos como 6 mM (jejum) ou mesmo 12 mM (diabetes tipo I). A acumulação de corpos cetônicos no sangue chama-se cetose e parece resultar, principalmente, de aumento na velocidade da sua síntese (cetogénese).

3- No homem, a cetogénese ocorre nas mitocôndrias do fígado sendo o substrato para a formação dos corpos cetônicos a acetil-CoA formada durante a oxidação em β dos ácidos gordos. À via metabólica em que se forma o acetoacetato também se chama ciclo do β -hidroximetilglutaril-coenzima-A (HMG-CoA) ou ciclo de Lynen. Por ação catalítica sucessiva da tiólase ($2 \text{ acetil-CoA} \rightarrow \text{acetoacetil-CoA} + \text{CoA}$) e da síntese do HMG-CoA ($\text{acetil-CoA} + \text{acetoacetil-CoA} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HMG-CoA} + \text{CoA}$) três resíduos acetato (2C) da acetil-CoA dão origem ao resíduo β -hidroximetilglutaril (6C) da HMG-CoA. A clivagem deste último composto por ação de uma *líase* ($\text{HMG-CoA} \rightarrow \text{acetil-CoA} + \text{acetoacetato}$) leva à formação do acetoacetato (4C) e acetil-CoA. Parte do acetoacetato formado pode converter-se nos outros dois corpos cetônicos. O ácido β hidroxibutírico (4C) forma-se por ação catalítica da desidrogenase do D- β -hidroxibutirato ($\text{acetoacetato} + \text{NADH} \rightarrow \text{D-}\beta\text{-hidroxibutirato} + \text{NAD}^+$) enquanto a formação da acetona é não enzimática ($\text{acetoacetato} \rightarrow \text{acetona} + \text{CO}_2$).

4- A acetona não sofre metabolização no organismo e é eliminada nos pulmões e na urina. Os ácidos D- β -hidroxibutírico e acetacético não são utilizados como combustíveis pelo fígado. O seu transporte da mitocôndria para o citoplasma e do citoplasma para o espaço extra-celular envolve a atividade de simporters prótão-ácidos monocarboxílicos. Vertidos pelo fígado na corrente sanguínea entram em todas as células do organismo (via simporte com o prótão) constituindo, juntamente com os ácidos gordos, os combustíveis preferenciais dos tecidos extra-hepáticos durante o jejum. O D- β -hidroxibutirato é uma espécie de fundo de saco metabólico: o enzima que no fígado

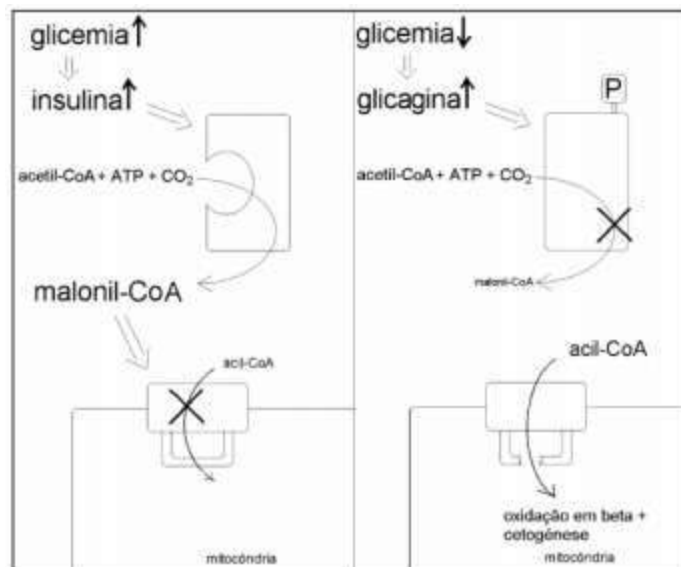
permite a formação de D-β-hidroxiacetil-CoA é a mesma que, nos tecidos extra-hepáticos, permite a sua metabolização (desidrogenase do D-β-hidroxiacetil-CoA: D-β-hidroxiacetil-CoA + NAD⁺ → acetoacetato + NADH). A metabolização do acetoacetato implica a sua ativação a acetoacil-CoA. Ao contrário do que acontece no fígado a conversão de succinil-CoA em succinato no ciclo de Krebs (que implica a ação catalítica da sintetase de succinil-CoA: succinil-CoA + GDP + Pi ↔ succinato + CoA + GTP) nos tecidos extra-hepáticos pode envolver uma *transférase* que catalisa a transferência do CoA do succinil-CoA para o acetoacetato (*succinil-CoA-acetoacetato-CoA-transférase*: succinil-CoA + acetoacetato → succinato + acetoacil-CoA). O acetoacil-CoA sofre cisão tiolítica (acetoacil-CoA + CoA → 2 acetil-CoA) e o acetil-CoA formado é oxidado, no ciclo de Krebs, a CO₂.

5- A cetogénese aumenta durante o jejum e na diabetes tipo I porque, nestas circunstâncias,

- (i) ...há diminuição da insulina e aumento da glicagina que implica uma...
- (ii) ...Oferta aumentada de ácidos gordos livres ao fígado e uma...
- (iii) ...diminuição da atividade de síntese de malonil-CoA cuja concentração baixa permitindo...
- (iv) ...um aumento da velocidade da oxidação em β e da síntese de acetil-CoA....
- (v) ...cuja oxidação só ocorre na exata medida das necessidades metabólicas neste órgão. Para além disto a diminuição da razão [insulina] / [glicagina] também....
- (vi) ...estimula diretamente o ciclo de Lynen estimulando a atividade da síntese da HMG-CoA.

6- A diminuição da razão [insulina] / [glicagina] durante o jejum e na diabetes tipo I implica um aumento na lipólise no tecido adiposo (e conseqüente aumento da concentração dos ácidos gordos livres no plasma sanguíneo e de acil-CoA nas células) e inibição da síntese de ácidos gordos em muitos tecidos incluindo o fígado. O enzima “marca passo” da síntese dos ácidos gordos é a carboxilase de acetil-CoA (acetil-CoA + CO₂ + ATP → malonil-CoA + ADP + Pi) que é inativada por fosforilação dependente da cinase de proteínas dependente do AMP (AMPK) e inibida pelos acis-CoA.

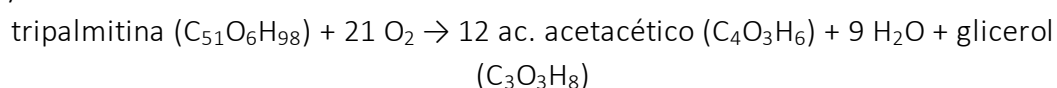
A diminuição da razão [insulina] / [glicagina] leva à diminuição da concentração intracelular do malonil-CoA nos hepatócitos porque nesta condição há diminuição da atividade da carboxilase de acetil-CoA (via fosforilação dependente da ação da AMPK e via inibição direta pelos acis-CoA). O malonil-CoA para além de ser um precursor na síntese de ácidos gordos é também um inibidor alostérico da transférase I de palmitil-carnitina. Este enzima faz parte do sistema de transporte de acil-CoA para a mitocôndria e é o enzima “marca passo” no processo de oxidação dos ácidos gordos. Assim, em conseqüência da diminuição da concentração do malonil-CoA, ocorre um aumento da velocidade da oxidação em β o que implica aumento da formação de acetil-CoA. No fígado, um dos possíveis destinos metabólicos da acetil-CoA é a formação de corpos cetónicos.



7- Um dos destinos metabólicos da acetil-CoA é a sua oxidação a CO_2 no ciclo de Krebs mas a atividade desta via metabólica é estritamente regulada pelas concentrações de ADP/ATP e NAD^+/NADH . Um aumento do consumo de acetil-CoA que permitisse compensar o aumento da sua formação só poderia ocorrer se houvesse, simultaneamente, um aumento proporcional no consumo de ATP hepático. No fígado o consumo de ATP durante o jejum e na diabetes de tipo I não permite a oxidação de toda a acetil-CoA formada e a remanescente, devido à presença dos enzimas do ciclo de Lynen, é convertida em corpos cetónicos. **A cetogénese é um mecanismo que permite ao fígado oxidar grandes quantidades de ácidos gordos sem aumentar a velocidade de hidrólise do ATP.**

8- A diabetes tipo I deve-se a incapacidade de produzir insulina por destruição das células β dos ilhéus de Langerhans. Na ausência de terapêutica adequada podem ocorrer situações de crise que põem em risco a vida do doente. Uma dessas situações é a cetoacidose cuja causa é um aumento anormal da produção de corpos cetónicos. O pKa dos ácidos acetacético e D- β -hidroxibutírico é, em ambos os casos, inferior a 5 o que explica que, ao pH do sangue, estejam predominantemente na forma ionizada; ou seja, aquando da sua formação estes ácidos orgânicos sofrem protólise gerando H^+ e os respetivos sais acetoacetato e D- β -hidroxibutirato.

Os protões libertados levam a uma descida do pH do plasma sanguíneo (acidose). Uma equação que permite compreender o que se passa durante a cetoacidose do diabético é a que descreve o somatório dos processos de hidrólise da tripalmitina, da oxidação em β dos ácidos gordos, da fosforilação oxidativa, da hidrólise do ATP e do ciclo de Lynen:



9- Algumas semelhanças entre a acumulação de ácido láctico durante o esforço muscular intenso e a cetogénese durante o jejum podem ser enfatizadas. Em ambos os casos ocorre:

(i)...a oxidação parcial de um nutriente (a oxidação é apenas parcial porque, nas condições em que a oxidação parcial está a ocorrer, a via metabólica comum não acelera de forma proporcional)...

(ii)...acumulando-se intermediários do metabolismo que ...

(iii)...têm características ácidas e que ...

(iv)...são transportados através das membranas através da ação catalítica de simporters com o próton. Modificadas as condições que levaram à sua acumulação, ...

(v)...diminuem de concentração porque acabam por sofrer oxidação completa.

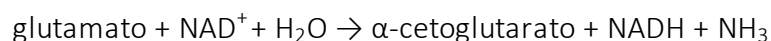
Ciclo da Ureia - Metabolismo do azoto dos aminoácidos

Os aminoácidos existentes no sangue e nas células resultam da **hidrólise** das **proteínas endógenas** ou das **proteínas da dieta**. Parte desses aminoácidos são utilizados na síntese de protídios ou de compostos especializados (como, por exemplo, certas hormonas, neurotransmissores, nucleotídeos e heme) mas uma outra parte **sofre catabolismo perdendo o azoto e gerando intermediários da glicólise, intermediários do ciclo de Krebs e/ou acetil-CoA**.

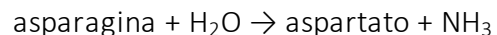
A esmagadora maioria dos aminoácidos é degradada no fígado mas uma parte importante do catabolismo dos aminoácidos ocorre no músculo. Nos processos catabólicos dos aminoácidos os átomos de azoto que fazem parte da sua estrutura podem, direta ou indiretamente, converter-se (a) no azoto do grupo amina da alanina e (b) do grupo amida da glutamina. Por exemplo:

(a) Por ação catalítica da **transaminase da alanina**, o piruvato pode aceitar o **grupo amina** de diversos aminoácidos **gerando alanina** e os α -cetoácidos correspondentes.

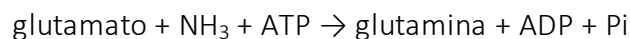
(b) **Em reações de desaminação** (i) oxidativa, como o caso do glutamato que sofre a ação da **desidrogenase do glutamato**;



(ii) hidrolítica (como no caso da asparagina que sofre a ação da **asparaginase**;



ou (iii) outra (como nos casos da histidina, da serina, treonina e da homoserina) **forma-se amoníaco** que, por ação da **sintetase da glutamina**:

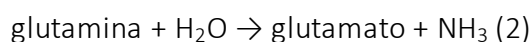


Pode ser incorporado na glutamina. A alanina e a glutamina formadas no músculo são libertadas no sangue. Em conjunto estes dois aminoácidos constituem 60% dos aminoácidos do plasma sanguíneo (≈ 2 mM) e são a principal forma de transporte de azoto no sangue. A concentração sanguínea de amoníaco é, no indivíduo saudável, muito baixa (cerca de 20 μM no sangue sistémico e cerca de 260 μM na veia porta).

A **alanina** pode ser captada **no fígado** e, neste órgão, por ação das **transaminases da alanina ou do glutamato** pode transferir o grupo amina para o α -cetogluturato **formando glutamato** (alanina + α -cetogluturato \leftrightarrow piruvato + glutamato). No fígado, o grupo aminado **glutamato** (que pode ter origem na alanina proveniente dos músculos e doutros tecidos mas também provir doutros aminoácidos que sofrem catabolismo no fígado; α -aminoácido + α -cetogluturato \leftrightarrow α -cetoácido + glutamato) **pode formar amoníaco** por ação catalítica da **desidrogenase do glutamato**:

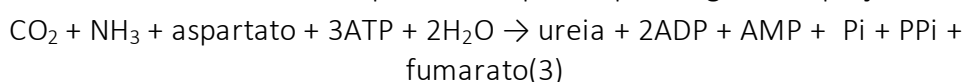


Grande parte da **glutamina** formada no tecido muscular ou proveniente da dieta é, sobretudo nos **enterócitos** e por ação da **glutamínase**, convertida em glutamato e **amoníaco** (ver eq. 2); o amoníaco aí libertado passa para o sangue da veia porta e é captado pelo fígado. (A maior concentração de NH_3 na veia porta relativamente ao sistema vascular sistémico também tem como causa a ação das bactérias intestinais que podem formar NH_3). O glutamato formado por ação da glutamínase pode ser dador de grupos amina para o piruvato (transaminação) formando alanina que é também transportada via veia porta para o fígado.

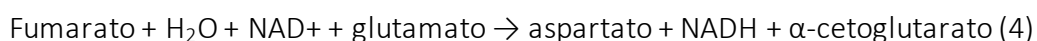


O **amoníaco** é um substrato na **síntese de ureia** ($\text{OC}(\text{NH}_2)_2$) que tem lugar no **fígado**. Numa reação ($\text{NH}_3 + \text{CO}_2 + 2\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{carbamil-P} + 2\text{ADP} + \text{Pi}$) catalisada pela **sintétase do carbamil-P I**, uma enzima da matriz mitocondrial, forma-se carbamil-P. O processo pode ser entendido conceptualmente como uma reação exergónica (a hidrólise de 2 ATP) acoplada com outra endergónica (a combinação de NH_3 , CO_2 e Pi).

No chamado ciclo da ureia intervém um enzima da matriz mitocondrial (**transcarbamilase da ornitina**) e três do citosol (**sintétase do arginino-succinato**, **argininosuccínase** e **argínase**). Diz-se que a **ornitina**, desempenha aqui um papel catalítico porque se consome na primeira reação (**transcarbamilase da ornitina**: ornitina + carbamil-P \rightarrow citrulina + Pi) e se regenera na última (**argínase**: arginina + $\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ ureia + ornitina). A hidrólise da arginina leva à formação de ureia e ornitina cuja estrutura vai aceitando os componentes da ureia presente na estrutura da arginina. A ornitina aceita o grupo carbamilo do carbamil-P gerando citrulina que reage com o aspartato gerando arginino-succinato. A formação do arginino-succinato (catalisada pela sintétase do arginino-succinato) é um processo endergónico acoplado com a hidrólise de ATP a AMP + PPi . Por ação duma líase (argininosuccínase) o arginino-succinato desdobra-se em arginina e fumarato. O somatório das reações catalisadas pelas enzimas do ciclo da ureia e pela sintétase do carbamil-P I pode ser expresso pela seguinte equação:



Por ação da **fumárase** e da **desidrogénase** do malato citosólicas o fumarato pode ser convertido em malato e este em oxalacetato. O oxalacetato é um α -cetoácido que pode, por ação catalítica de transaminases, aceitar o grupo amina do glutamato e converter-se em aspartato. A conversão de **fumarato em aspartato** pode ser esquematizada:



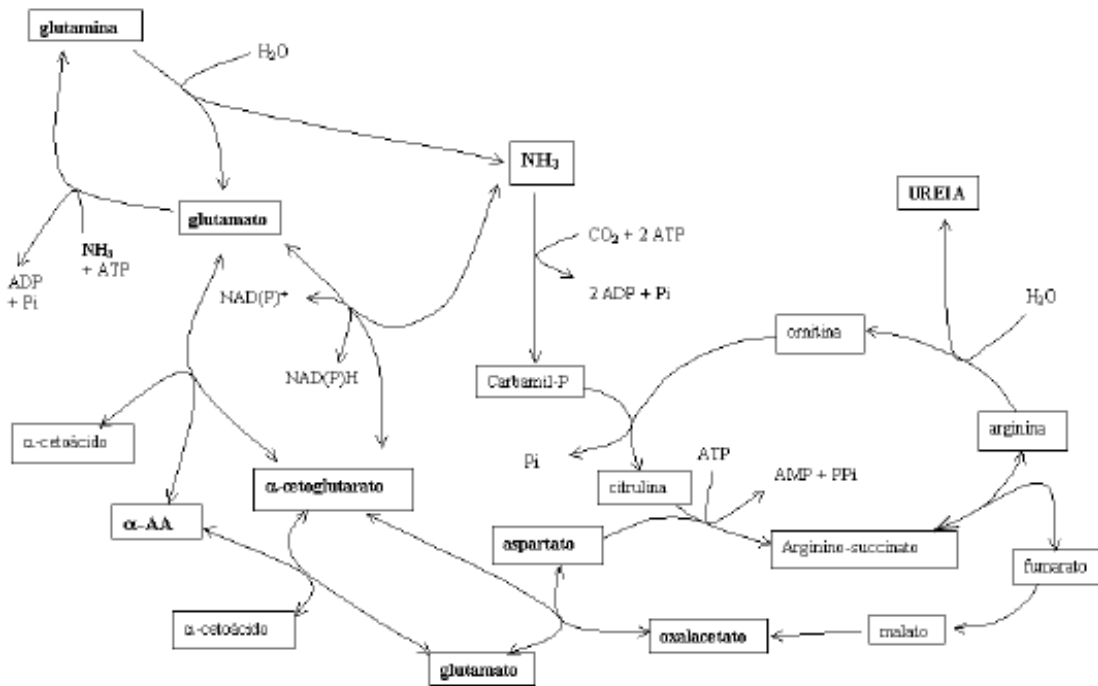
Embora um dos azotos da ureia provenha diretamente do aspartato e o outro do amoníaco, as equações (1), (3) e (4) e o papel do α -cetoglutarato como aceitador do grupo amina de aminoácidos em processo catabólico permite compreender que, em última análise, **os azotos da ureia provém de todos os aminoácidos** e que o glutamato tem um papel chave no catabolismo destes.

No seu conjunto cerca de **16% da massa dos proteídos é azoto** que, no catabolismo dos aminoácidos, é convertido em ureia que é eliminada **na urina**. Mesmo na ausência de ingestão de protídeos um mínimo de 20 a 30 gramas de aminoácidos são diariamente degradados correspondendo à eliminação de 6 a 8 gramas de ureia. Se admitirmos que os protídeos ingeridos contêm os aminoácidos nutricionalmente indispensáveis nas quantidades que permitem repor os que foram degradados então a absorção de 20 a 30 gramas de aminoácidos (ingeridos normalmente na forma de protídeos) seriam suficientes para compensar as perdas e permitir um balanço azotado (azoto ingerido – azoto eliminado) nulo.

Em geral, tendo em conta que parte dos protídeos ingeridos não são eficazmente digeridos, para assegurar uma reposição adequada dos aminoácidos nutricionalmente indispensáveis recomenda-se uma ingestão diária de, pelo menos, 0,8 g de protídeos por Kg de peso. Porque **os mamíferos não fazem reservas de aminoácidos num adulto saudável** que não faz musculação **está em equilíbrio azotado** (tem um balanço azotado nulo) e **em resposta a um aumento da ingestão de protídeos aumenta o catabolismo dos aminoácidos**. Para o total do azoto eliminado também contribui o azoto das proteínas das células da pele ou das mucosas que no seu processo de renovação cíclica descamam assim como as proteínas da dieta cujo digestão e absorção é incompleta. A digestão incompleta de proteínas é mais marcada no caso das proteínas dos alimentos vegetais. Dependendo da dieta as perdas nas fezes podem constituir cerca de 20% do total do azoto eliminado diariamente sendo que o restante é, quase todo, eliminado na urina. Cerca de 85% do azoto urinário é azoto ureico sendo o restante componente de diversos compostos azotados da urina (ácido úrico, creatinina, amónia, etc.). Assim, se admitirmos que à ingestão de 100 g/dia de proteínas (a ingestão média nos EUA) corresponde uma absorção de 80 g/dia a eliminação de ureia poderia ser de cerca de 23g/dia ($80g * 0,16 * 60/28 * 0,85$).

A atividade da *sintétase* de carbamil-P I depende estritamente da presença de um ativador alostérico: o N-acetil-glutamato. O enzima responsável pela síntese deste composto denomina-se *sintase* do N-acetil-glutamato e a sua atividade aumenta aumentando a atividade de síntese de ureia e o catabolismo dos aminoácidos sempre que há aumento na concentração hepatocitária de aminoácidos. **Este aumento de concentração de aminoácidos e conseqüente aumento do seu catabolismo tanto pode ser devido a uma ingestão aumentada de proteínas como a jejum prolongado** condição em que os "esqueletos carbonados" dos aminoácidos são usados como substrato da gliconeogénese.

12- Para além da ureia, um importante composto azotado da urina é o **ião amónio** (NH_4^+). O amoníaco forma-se nas células tubulares renais quer por desaminação hidrolítica da glutamina (ver eq. 2) quer por desaminação oxidativa do glutamato (ver eq. 1). O valor do pKa do ião amónio é de cerca de 9,3 encontrando-se por isso na forma protonada em pHs fisiológicos. O ião amónio formado é segregado para o lúmen tubular e quer a síntese quer a secreção aumentam em situações de acidose.



Fim

