

## INTRODUÇÃO AO ESTUDO DAS ENZIMAS

### META

Apresentar a estrutura e a função biológicas das enzimas, bem como os fatores que interferem nas reações enzimáticas.

### OBJETIVOS

Ao final desta aula, o aluno deverá:

- diferenciar catalisador químico de catalisador biológico;
- reconhecer as propriedades das enzimas como catalisadores;
- classificar as enzimas com base no tipo de reação catalisada;
- descrever o papel do catalisador na atividade catalítica;
- avaliar o efeito da concentração do substrato na catálise enzimática;
- definir KM;
- avaliar os efeitos da temperatura e do pH na catálise enzimática;
- identificar a estrutura do sítio ativo das enzimas;
- descrever a especificidade enzimática; e
- descrever os modelos chave fechadura e ajuste induzido da enzima ao substrato.

### PRÉ-REQUISITOS

Para acompanhar esta aula, é importante buscar subsídios nos conteúdos trabalhados nas aulas Introdução à Bioquímica, ao Estudo das Proteínas e Estruturas e Funções das Proteínas Globulares.



É conhecido por ter criado o termo “enzima”  
(Fonte: <http://pt.wikipedia.org>).

### INTRODUÇÃO

O termo enzima foi introduzido por Kuhne em 1878 para designar a presença no lêvedo (fermento) de um princípio químico responsável por sua atividade fermentativa (de produzir etanol a partir de um açúcar, na ausência de oxigênio). Todos os seres vivos utilizam a energia dos nutrientes (carboidratos, lipídios e proteínas) para manter os seus processos vitais. A produção de energia na célula requer a participação de muitas enzimas, num processo denominado metabolismo energético. Muitas dessas reações ocorrem muito lentamente na ausência de um catalisador (substância que acelera velocidade de reações químicas). Para resolver esse problema, as células desenvolveram um modo de acelerar a velocidade das reações. Neste contexto, surgem as enzimas que são os catalisadores biológicos. A maioria das enzimas são proteínas globulares. Elas apresentam especificidade (preferência) tanto por seus substratos (a molécula que vai sofrer a reação química) como para o tipo de reação efetuada sobre o substrato. Essa especificidade da enzima se deve a uma cavidade ou fenda de ligação do substrato, denominada sítio ativo. O sítio ativo é um arranjo de grupos químicos das cadeias laterais de aminoácidos que ligam o substrato por interações não-covalentes, localizado na sua superfície da enzima.



O desenvolvimento da catálise como ciência autônoma passou por diversas fases desde que, em 1836, o químico sueco Jöns Jacob Berzelius (1779-1848) inventou o termo catálise, para descrever processos em que pequenas quantidades de certas substâncias originavam extensas transformações químicas sem serem consumidas. Berzelius, contudo, interpretou erradamente esse efeito, atribuindo-o a uma força catalítica (Fonte: <http://www.infopedia.pt>).

## CONCEITO E PROPRIEDADES DAS ENZIMAS

As enzimas são proteínas com a função específica de acelerar reações químicas nas células. A maioria das enzimas é proteína globular, excetuando-se as ribozimas, que são enzimas de ribonucleotídeos, as unidades do RNA. As enzimas são os catalisadores mais notáveis, devido às propriedades descritas abaixo:

Catalisam reações nas condições do ambiente celular. As enzimas são capazes de acelerar velocidades de reações nas condições do ambiente celular, ou seja, a uma temperatura de 37°C e pH de 7,4 (valor do pH do plasma sanguíneo). Os catalisadores químicos (como platina e níquel) atuam apenas sob temperatura muito elevada, pressão alta e valores de pH ácido ou básico. Se as enzimas atuassem em condições tão extremas como os catalisadores químicos, a vida de animais (como os mamíferos) não seria possível, pois essas condições levariam inevitavelmente à destruição da célula.

Apresentam especificidade por seu substrato. Diferentemente dos catalisadores químicos que não demonstram especificidade por seus substratos, as enzimas são específicas por seus substratos. As ações catalíticas das enzimas não levam à formação de contaminantes..

Apresentam alto poder catalítico. As enzimas podem acelerar velocidade de reações químicas multiplicando-a por fatores de  $10^{17}$ . Na ausência de enzimas, a maioria das reações biológicas seria tão lenta, que essas reações não ocorreriam nas condições de temperatura e pH das células. Por exemplo, a hidratação do dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) formando o ácido carbônico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) na célula, pode ocorrer sem a presença de enzima, no entanto, essa reação levaria muito tempo para se completar, o que não seria compatível com as necessidades das células. A hidratação do  $\text{CO}_2$ , catalisada pela anidrase carbônica, ocorre em uma velocidade incomparavelmente alta.

Apresentam regulação de sua atividade catalítica. As enzimas reguladoras (alostéricas e as enzimas reguladas covalentemente) têm suas ações catalíticas reguladas de acordo com as necessidades metabólicas das células. As moléculas que se ligam à estrutura protéica da enzima alostéricas, regulando a sua atividade catalítica são denominados moduladores, efetores ou reguladores. Os moduladores podem ser tanto ativadores quanto inibidores da atividade catalítica.

## COFATORES E COENZIMAS

Como estudamos na aula de introdução a proteínas termos associados a proteínas conjugadas, vamos ver nesse tópico esses mesmos termos

aplicados ao estudo das enzimas. Como proteínas, as enzimas podem ser também simples e conjugadas, As enzimas conjugadas necessitam de cofatores (moléculas orgânica ou inorgânica) para exercer as suas atividades catalíticas. Os cofatores se ligam (transitória e frouxamente) ao sítio ativo da enzima por interações químicas não-covalente, como também podem se ligar (permanentemente) por ligação covalente. Nem toda enzima requer um cofator para exercer a sua atividade catalítica, exemplo desta classe são as enzimas ribonuclease, tripsina, quimotripsina, etc. Os cofatores inorgânicos são normalmente íons metálicos, como  $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  (Tabela 1). O cofator orgânico é denominado coenzima (Tabela 2).

A porção protéica da enzima conjugada é a apoproteína ou apoenzima. Quando o cofator se liga firme e permanentemente ao sítio ativo da enzima é denominado grupo prostético. Exemplo: o grupo heme da hemoglobina. Desta forma, a enzima conjugada cataliticamente ativa, ou seja, ligada ao seu cofator é denominada holoenzima.

**Tabela 1: Cofatores metálicos**

Cofator	Enzima
$Zn^{2+}$	Anidrase carbônica carboxipeptidase
$Mg^{2+}$	hexocinase
$Ni^{2+}$	urease
Mo	Nitrato redutase
Se	Glutathione peroxidase
$Mn^{2+}$	Superóxido dismutase
K+	Propionil-CoA -carboxilase

Na Tabela 2 são encontrados exemplos das coenzimas mais comuns nas reações catalisadas por enzimas, bem como o tipo de grupo químico que elas transferem. As coenzimas são derivadas de modificações químicas das vitaminas. A vitamina B1, a tiamina quando tem adicionado a sua estrutura dois grupos fosfatos (um pirofosfato) se transforma na coenzima tiamina pirofosfato.

Tabela 2: Vitaminas e Coenzimas

Vitamina	Coenzima	Grupo químico transferido
Tiamina (B <sub>1</sub> )	Tiamina pirofosfato	Aldeídos
Riboflavina (B <sub>2</sub> )	Flavina Adenina Dinucleotídeo (FAD)	Átomos de hidrogênio
Niacina (B <sub>3</sub> )	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo (NAD)	Íon hidreto (H <sup>-</sup> )
Pantotenato (B <sub>5</sub> )	Coenzima A	Grupo acila
Piridoxina (B <sub>6</sub> )	Piridoxal-fosfato	Grupo amino
Vitamina B <sub>12</sub>	5'-Desoxiadenosilcobalamina (coenzima B <sub>12</sub> )	Átomos de hidrogênio unidades de carbono
Biotina (vitamina H)	Biocitina	CO <sub>2</sub>
Ácido Fólico	Tetraidrofolato	Unidade de carbono

## NOMENCLATURA E CLASSIFICAÇÃO DAS ENZIMAS

Muitas enzimas são ainda designadas em livros textos de bioquímica por seu nome comum, cuja regra na maioria dos casos é feita de duas formas a saber:

Pela adição do sufixo -ase ao nome do substrato sobre os quais elas atuam; por exemplo, a enzima que hidrolisa a uréia é denominada urease; o amido, a amilase; ésteres do fosfato, as fosfatases. Outras são designadas pelo tipo de ação catalítica que realizam, tais como, anidrase carbônica; D-amino oxidase; lactato desidrogenase. Algumas levam nomes vulgares como a tripsina, pepsina, emulsina, etc.

Pela designação de nomes comuns, como os das proteínas, que se caracteriza pela terminação ina, como: tripsina, pepsina, emulsina, etc.

A União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (IUBMB) adotou um sistema racional e prático de nomenclatura identificando as enzimas em seis classes, de acordo com a natureza da reação química que catalisam. Para cada enzima, são atribuídos dois nomes e um número de classificação de quatro dígitos que identificam as classes, as subclasses e as sub-subclasses. Mas essa nomenclatura não será objeto do nosso estudo, para nossos propósitos será mencionada nessa aula apenas a classificação internacional sistemática para as enzimas adotada pela IUBMB. Nessa classificação as enzimas são agrupadas em seis classes segundo o tipo de reação catalisada: oxirredutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases.

a) Oxirredutases. Catalisam reações de óxido-redução (reações com transferência de elétrons). Essa classe é subdivida em várias subclasses como, por exemplo:

- Desidrogenases. Catalisam reações de óxido redução removendo elétrons na forma de um íon hidreto de seus substratos. O íon hidreto é um átomo de hidrogênio carregado negativamente e com dois elétrons ( $\text{H}^-$ );
- Redutases. Catalisam reações de redução, ou seja, adicionam átomos de hidrogênio ao substrato.
- Oxigenases. Catalisam a adição do oxigênio molecular ao substrato.

b) Transferases. São enzimas que catalisam reações de transferência de grupos, como por exemplo:

- Transaminases ou aminotransferases. Transferem grupos amino ( $\text{NH}_2$ ) de um aminoácido para um cetoácido.
- Quinases ou cinases. Transferem um grupo fosfato de um composto fosforilado, como o ATP, para seus substratos.

c) Hidrolases. São enzimas que catalisam reações de hidrólise, como por exemplo:

- Hidroxilases – adicionam um átomo de oxigênio do  $O_2$  no substrato, produzindo um grupo hidroxila (OH).
- Glicosidases. Hidrolisam ligações glicosídicas, ligações covalentes que unem os monossacarídeos
- Peptidases. Hidrolisam ligações peptídicas.
- d) Liases. Catalisam reações de adição de grupos químicos a duplas ligações ou retiram esses grupos, produzindo duplas ligações.
- e) Isomerases. Catalisam reações que levam a formação de isômeros.
- f) Ligases. Catalisam reações em que há formação de ligações covalentes C-C, C-S, C-O e C-N acopladas à energia de hidrólise de compostos do tipo nucleotídeo trifosfato como ATP, ou de outros compostos ricos em energia que não nucleotídeos trifosfatos.

### COMO OS CATALISADORES ACELERAM VELOCIDADES DE REAÇÕES QUÍMICAS

Uma reação química, tal como um reagente ou substrato (S) formando um produto (P) somente formará o produto P, se uma determinada fração das moléculas de S, em qualquer instante considerado, possuir energia suficiente para ser levada ao topo da colina de energia, o estado de transição (Figura 1). A energia de ativação é a quantidade de energia necessária para levar o substrato para o estado de transição. No estado de transição o substrato (S) está num estado ativado, com igual possibilidade dos reagentes (S) formarem os produtos (P) da reação, ou retornarem à condição inicial, não reagindo.

Para as reações químicas reversíveis (reações que ocorrem nos dois sentidos, ou seja, S produzindo P ou P produzindo S) como a reação em que um substrato S forma um produto P, representada por  $S \rightleftharpoons P$ , podemos fazer as seguintes observações:

1. Se a reação se dá no sentido de formação do produto P, diz-se que ela é energeticamente favorável, portanto, exotérmica (libera calor para o meio).
2. Se a reação ocorre no sentido de formação de S, diz-se que ela é energeticamente desfavorável, portanto, endotérmica (absorve calor). Para que uma reação endotérmica ocorra é necessária a adição de energia.

### CONDIÇÕES QUE RESULTAM NO AUMENTO DA VELOCIDADE DE REAÇÕES QUÍMICAS

A velocidade de uma reação química pode ser acelerada aumentando a concentração do reagente químico no estado de transição, aumentando a temperatura do meio em que a reação está ocorrendo e adicionando um

catalisador a essa reação. Essas três situações serão discutidas agora na sequência da aula.

**Concentração de reagentes no estado de transição.** A velocidade de qualquer reação química é proporcional à concentração de reagentes no estado de transição. Portanto, a velocidade de uma reação química será muito alta se uma grande fração das moléculas de reagentes estiver no estado de transição, mas essa velocidade será muito baixa se apenas uma pequena fração de reagentes estiver no estado de transição.

**Aumento de temperatura.** A velocidade de uma reação química pode ser acelerada pela elevação da temperatura da reação. Isso provoca um aumento de colisões entre os reagentes, o que faz com que grande parte deles possua energia interna suficiente para alcançar o estado de transição. Geralmente a velocidade de uma reação dobra quando a temperatura aumenta de 10 °C.

**Adição de catalisador.** A velocidade de uma reação pode ser aumentada também pela adição de um catalisador, que direciona as reações, por uma via de mais baixa barreira energética de ativação. Desta forma, os catalisadores diminuem a energia de ativação das reações, permitindo que uma fração muito maior de moléculas de uma dada reação forme produtos por unidade de tempo (figura 1).



(Fonte: Nelson e Cox, 2002).

Figura 1: Variação de energia livre ( $\Delta G$ ) e a energia de Ativação ( $\Delta G^\ddagger$ ) de reações catalisadas e não catalisadas



## COMO AS ENZIMAS ACELERAM VELOCIDADES DE REAÇÕES QUÍMICAS

As enzimas aceleram a velocidade de uma reação química diminuindo a energia de ativação. As enzimas não são modificadas (em termos químicos) ou consumidas nessa reação química. As enzimas não modificam a constante de equilíbrio ( $K_{eq}$ ), nem alteram a variação de energia livre da reação ( $\Delta G$ ). A constante de equilíbrio ( $k_{eq}$ ) de uma reação química reversíveis mede a concentração de reagentes e produtos quando a reação atinge o equilíbrio. A Energia Livre de Gibbs ( $G$ ) é a forma de energia que realiza trabalho sob temperatura e pressão constantes. Como as reações das células ocorrem num ambiente de temperaturas e pressão constantes, diz-se que a energia livre é a energia das reações que ocorrem no ambiente celular. A Energia Livre de Gibbs padrão ( $G^\circ$ ) é a energia das células em que os reagentes e produtos estão em concentrações padrões, ou seja, 1M, temperatura a 25°C, pressão de 1 atm e pH 7,0. A variação da energia livre padrão de Gibbs é representada por ( $\Delta G^\circ$ ). A tabela 3 mostra a relação entre a constante de equilíbrio ( $K_{eq}$ ) de uma reação e a variação da energia livre padrão de Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ). Os valores de variação de energia livre de Gibbs ( $G$ ) das reações exotérmicas são negativos e os das reações endotérmicas são positivos (Tabela 3).

Tabela 3. Relação entre  $\Delta G^\circ$  e  $K_{eq}$  a 25° C.

$K_{eq}$	Kcal mol <sup>-1</sup>	Quanto à energia da reação
$10^{-5}$	+ 6,82	Endergônica
$10^{-4}$	+ 5,46	Endergônica
$10^{-3}$	+ 4,09	Endergônica
$10^{-2}$	+ 2,73	Endergônica
$10^{-1}$	+ 1,36	Endergônica
1	0	
10	-1,36	Exergônica
$10^2$	-2,73	Exergônica
$10^3$	-4,09	Exergônica
$10^4$	-5,46	Exergônica
$10^5$	-6,82	Exergônica

## EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO SUBSTRATO NA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Se testarmos o efeito da variação crescente da concentração de substrato em função da velocidade da reação, num meio em que a



concentração da enzima é mantida constante, observaremos o seguinte: a concentrações bastante baixas de substrato, a velocidade da reação será igualmente baixa. Incrementos consideráveis da concentração do substrato resultarão em aumentos pronunciados da velocidade enzimática. Com aumentos significativos das concentrações do substrato, a velocidade da reação sofrerá pouca alteração (Figura 2). Isso ocorre devido às enzimas demonstrarem o efeito de saturação por seus substratos. Essa saturação significa que todas as enzimas estão com seus sítios ativos ligados ao substrato. Portanto, a partir desse ponto não importa o quanto seja aumentada a concentração do substrato, a curva da velocidade tenderá a aproximar-se de um máximo, sem que nunca seja alcançado. Essa velocidade da reação corresponde à velocidade máxima ( $V_{\max}$ ) da enzima.

Examinando a Figura 2, que mostra a relação entre a concentração de substrato e a velocidade da reação enzimática, constata-se que é difícil afirmar com exatidão qual a concentração de substrato que fornece a velocidade máxima de uma reação. Isto se explica pelo fato da curva que expressa essa relação ter o formato de uma hipérbole retangular, e não o de uma reta. No entanto, Michaelis-Menten definiram uma constante chamada  $K_M$ , utilizada para estabelecer essa relação. Assim sendo, a constante  $K_M$  é definida como a concentração de substrato necessária para que uma enzima produza metade de sua velocidade máxima. A equação matemática que descreve a forma característica da curva de saturação das enzimas do tipo Michaelis-Menten (que apresentam curva hiperbólica) é a seguinte:

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

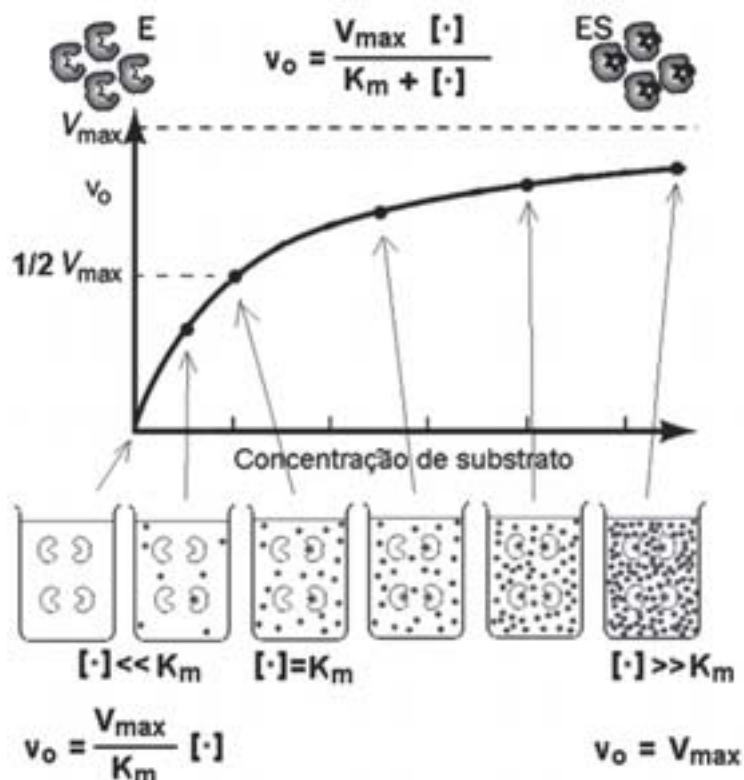
Em que:

$V_o$  = velocidade inicial da reação.

$[S]$  = concentração do substrato.

$V_{\max}$  = velocidade máxima.

$K_M$  = Constante de Michaelis-Menten para um dado substrato.



(Fonte: [http://users.med.up.pt/ruifonte/PDFs/2008-2009/Cinetica\\_Reg\\_Enz\\_Med\\_2008-09\\_slides29-48.pdf](http://users.med.up.pt/ruifonte/PDFs/2008-2009/Cinetica_Reg_Enz_Med_2008-09_slides29-48.pdf))

Figura 2: Efeito da concentração do substrato na velocidade inicial de uma reação enzimática.

### SIGNIFICADO DA CONSTANTE DE MICHAELIS-MENTEN ( $K_M$ )

O conhecimento do valor da constante de Michaelis-Menten ( $K_M$ ) das enzimas é de grande importância uma vez que a partir dele podemos tirar várias informações sobre a reação catalisada, tais como:

- a) A constante  $K_M$  estabelece um valor aproximado da concentração intracelular do substrato, tendo em vista que ela mede a concentração de substrato que leva uma enzima a produzir metade de sua velocidade máxima. Portanto, é improvável que a sua concentração seja significativamente maior ou menor do que a  $K_M$  (Figura 2).
- b) A constante de Michaelis-Menten indica a afinidade da enzima por seus substratos, de maneira que o substrato que apresentar o menor valor de  $K_M$  terá uma maior afinidade pela enzima. Os substratos com um  $K_M$  elevado apresentarão uma baixa afinidade pelo substrato. A

Tabela 4 mostra o exemplo de duas enzimas, hexocinase e quimotripsina, que têm mais de um substrato. O substrato que apresenta uma maior afinidade pela enzima hexocinase é a glicose, já a frutose é o de menor especificidade. Para a enzima quimotripsina, o substrato N-Benzoiltirosinamida apresenta uma maior afinidade do que o tripeptídeo Gliciltirosinilglicina.

Tabela 4. Valores de  $K_M$  de algumas enzimas

Enzimas	Substratos	$K_M$ mM
Hexocinase	ATP	0,4
	Glicose	0,05
	Frutose	1,5
Quimotripsina	Gliciltirosinilglicina	108
	N-Benzoiltirosinamida	2,5

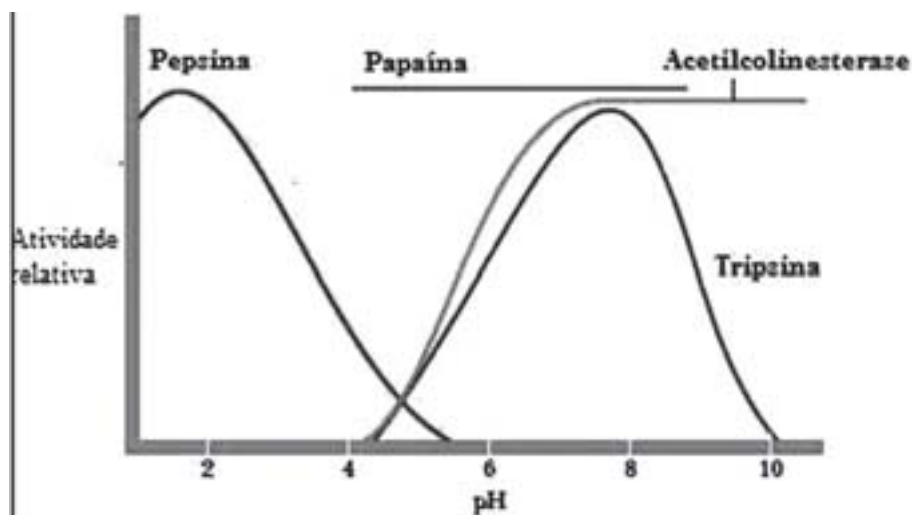
## EFEITO DO pH NA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

A maioria das enzimas apresenta um valor de pH em que a sua atividade catalítica é máxima (Figura 3). Esse valor de pH é denominado pH ótimo. A atividade da enzima é afetada (é reduzida) quando ela está num meio cujo valor de pH varia em torno do pH ótimo. O pH ótimo de uma enzima não é necessariamente idêntico ao pH do meio em que normalmente ela se encontra; esse pode estar um pouco acima ou abaixo do valor do pH ótimo. Variações bruscas de pH, tanto para valores ácido como alcalino, podem causar a desnaturação da enzima, com conseqüente perda da sua atividade biológica. A tabela 7 apresenta valores de pH ótimo de algumas enzimas.

Tabela 5: Valor de pH ótimo de algumas enzimas

ENZIMA	pH ÓTIMO
Pepsina	1,5
Tripsina	7,7
Catalase	7,6
Arginase	9,7
Fumarase	7,8
Ribonuclease	7,8

Figura 3: Efeito do pH na atividade enzimática. Essas curvas demonstram o efeito do pH na atividade enzimática da enzima tripsina, pepsina, papaína e acetilcolinesterase, que apresentam pH ótimo de 8,0, 2,0, 8,0 e 10, respectivamente. Essas enzimas apresentam ainda atividade catalítica em faixa de valores de pH em torno do ótimo, mas essa atividade é um pouco mais baixa do que elas teriam no pH ótimo.



Fonte: Garret & Grishman, 2000.

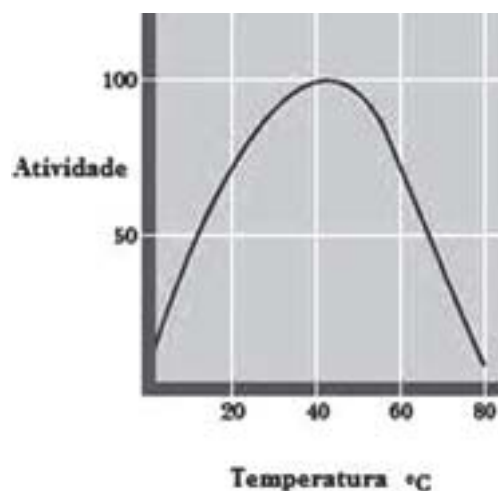
### EFEITO DA TEMPERATURA NA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

A velocidade das reações enzimáticas aumenta com a temperatura, dentro de determinada faixa na qual a enzima é estável e mantém sua atividade catalítica. A velocidade das reações enzimáticas duplica a cada elevação de 10° C. Mesmo que as reações catalisadas por enzimas pareçam muitas vezes apresentar uma temperatura ótima (Figura 4), o pico desse gráfico de atividade enzimática versus temperatura ocorre desta forma porque as enzimas, sendo proteínas, são desnaturadas pelo calor e se tornam inativas à medida que a temperatura é elevada. O “ótimo” de temperatura é assim resultante de dois processos:

1. o aumento usual na velocidade de reação com a temperatura e
2. o valor crescente de desnaturação térmica da enzima acima de uma temperatura crítica.

A maioria das enzimas perde a sua atividade enzimática com temperaturas acima de 55° C. Outras enzimas mantêm suas atividades com temperaturas superiores a 55° C. As enzimas de várias espécies de bactérias termofílicas (que habitam as fontes de água extremamente quente,

como as águas vulcânicas), apresentam atividade enzimática com temperaturas superiores a 85° C. A taqpolimerase, uma enzima obtida de bactérias termofílicas é utilizada em técnicas de Biologia Molecular, amplificando moléculas de DNA. Essa enzima atua a temperaturas tão altas quanto 85° C. A ribonuclease perde sua atividade com o aquecimento, mas a recupera com o resfriamento.



(Fonte: Garret & Grishnam, 1999).

Figura 4: Curva de atividade enzimática das enzimas em função da temperatura.

## ESTRUTURA DO SÍTIO ATIVO DAS ENZIMAS

O sítio ativo da enzima é uma fenda ou sulco tridimensional localizado na superfície da enzima. É formado pelos grupos das cadeias laterais dos aminoácidos. Os aminoácidos do sítio ativo estão distantes entre si na seqüência primária da enzima, mas se aproximam com o enovelamento da cadeia polipeptídica da enzima. Esse enovelamento é o resultado de interações não-covalentes na estrutura terciária, como foi visto na aula de estrutura tridimensional das proteínas globulares, quando tratamos da estrutura terciária das proteínas globulares.

O sítio ativo de uma enzima ocupa somente uma pequena parte da molécula de enzima. Cerca de doze resíduos de aminoácidos estão envolvidos na formação do sítio ativo de uma enzima. Dos doze aminoácidos, apenas dois ou três participam da ligação com substrato. Então, qual é a lógica molecular que explica o fato das enzimas serem proteínas grandes e não moléculas pequenas como di e tripeptídeos? Se considerarmos que os dois ou três grupos R se ajustam perfeita-

mente num espaço tridimensional, um peptídeo pequeno, linear, pode conter todos os grupos necessários na ligação do substrato, porém as distâncias fixas das ligações e dos ângulos não permitiriam que os grupos R assumam a forma necessária. Uma proteína grande composta de centenas de resíduos de aminoácidos pode se curvar, torcer e se enrolar sobre si mesma e, portanto, fixar exatamente a posição dos grupos R no espaço. Os outros resíduos de aminoácidos (não catalíticos) têm função igualmente importante, o de manter a estrutura terciária da enzima através das ligações não covalentes como: pontes de hidrogênio, ligação iônica, interação hidrofóbica e a ligação covalente: ponte dissulfeto (S-S).

### ESPECIFICIDADE ENZIMÁTICA

A especificidade enzimática é a propriedade das enzimas apresentar preferência por seus substratos. Quanto à especificidade as enzimas se classificam absolutas e relativas.

**Especificidade absoluta.** As enzimas que apresentam especificidade absoluta por um dado substrato, não ligam em seu sítio ativo nem mesmo moléculas bastante semelhantes, como os isômeros. Um bom exemplo disso é a enzima aspartase, encontrada em plantas e bactérias. A aspartase catalisa a adição reversível de íon amônio ( $^+\text{NH}_4$ ) à dupla ligação do fumarato, produzindo o L-aspartato (Figura 5a). Entretanto, a aspartase não promove a adição de íon amônio a nenhum outro ácido insaturado (ou seja, que apresenta dupla ligação). A aspartase não reconhece nem o D-aspartato nem o maleato como substratos (Figura 5b). O D-aspartato é o isômero óptico do L-aspartato e maleato é o isômero cis do fumarato. A aspartase apresenta tanto especificidade óptica por seu substrato, (reconhecendo diferenças entre as formas D- e L- do aspartato) quanto especificidade geométrica (discriminando as forma trans e cis do fumarato e maleato). A aspartase é uma enzima estereoespecífica, ou seja, apresenta a propriedade da estereoespecificidade. A estereoespecificidade permite as enzimas reconhecer moléculas de acordo com as suas formas.

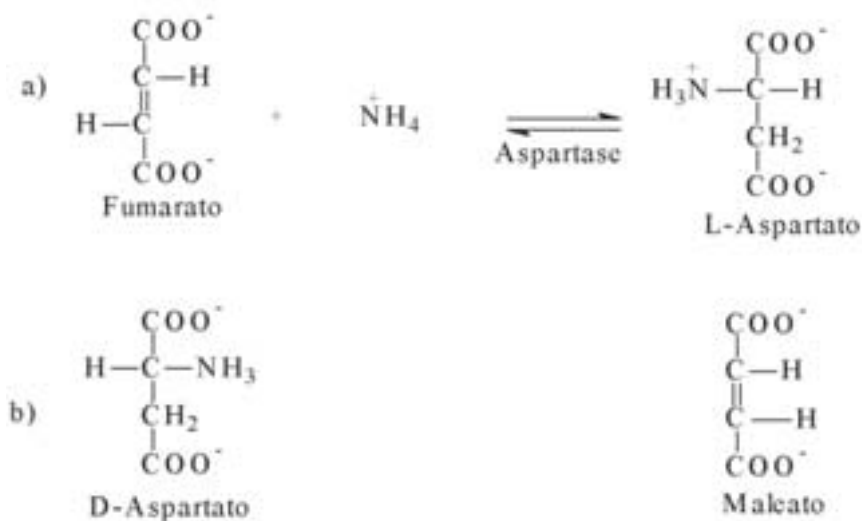


Figura 5: Especificidade absoluta da enzima por seu substrato. A figura 5a mostra a reação catalisada pela enzima aspartase, uma liase, que adiciona grupo amino a dupla ligação do fumarato produzindo o L-aspartato. Na reação reversa, ela retira o íon amônio ( $^+\text{NH}_4$ ) do L-aspartato produzindo o fumarato. 5b) O D-aspartato é o isômero óptico do L-Aspartato e o Maleato é o isômero geométrico do fumarato.

### ESPECIFICIDADE RELATIVA

As enzimas que apresentam especificidade relativa por seus substratos, reconhece grupos químicos comuns encontrados nas estruturas dos substratos. A quimotripsina (uma das enzimas da digestão) catalisa a hidrólise de alguns peptídeos (Figura 6). A quimotripsina cliva (quebra) ligações peptídicas cujo grupo carbonila é de um dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano).

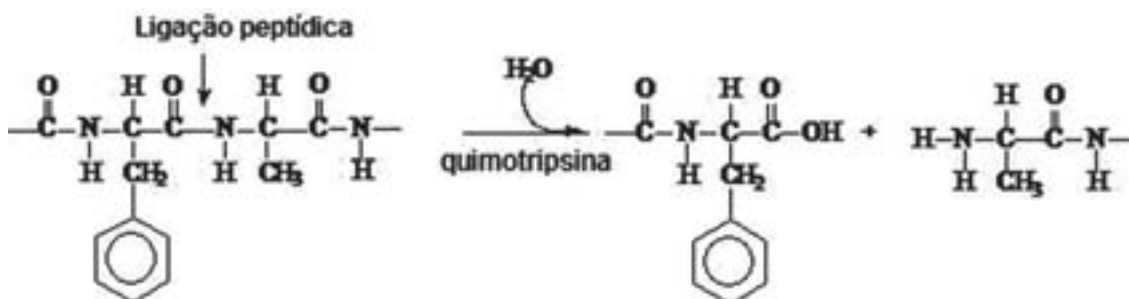


Figura 6: Especificidade relativa da enzima quimotripsina por seu substrato



## MODELOS QUE EXPLICAM A RELAÇÃO ENZIMA-SUBSTRATO

### MODELO CHAVE FECHADURA

O alto grau de especificidade da enzima por seu substrato levou Emil Fischer em 1894 a propor um modelo que explicasse a ligação do substrato ao sítio ativo da enzima. O modelo proposto por ele foi denominado chave fechadura. O modelo chave fechadura considera que o sítio ativo da enzima é complementar em tamanho, forma e natureza química à molécula do substrato, proporcionando, assim, um encaixe perfeito entre a enzima (a fechadura) e o substrato (a chave) (Figura 7). Esse modelo não é suficiente para explicar a relação da enzima com o seu substrato por que as estruturas tridimensionais das enzimas não são estáticas (rígidas) como uma fechadura, mas sim, dinâmicas. As estruturas enzimáticas podem sofrer mudanças conformacionais quando na interação com o substrato.

### MODELO DO AJUSTE INDUZIDO DA ENZIMA AO SUBSTRATO.

Daniel E. Koshland propôs em 1958 um modelo alternativo para explicar o encaixe da enzima ao seu substrato, denominando-o “modelo do ajuste induzido da enzima ao substrato”. No ajuste induzido o sítio ativo não apresenta uma forma geométrica rígida (como a do modelo chave fechadura), mas um arranjo espacial preciso e específico dos grupos R dos aminoácidos do sítio ativo das enzimas. Desta forma, quando o substrato interage com a cadeia polipeptídica da enzima, induz nela uma mudança conformacional (mudança na estrutura), ao que a enzima se distorce. Quando a enzima se distorce, induz também uma mudança na estrutura do substrato. O substrato distorcido se liga adequadamente ao seu sítio ativo (Figura 7).

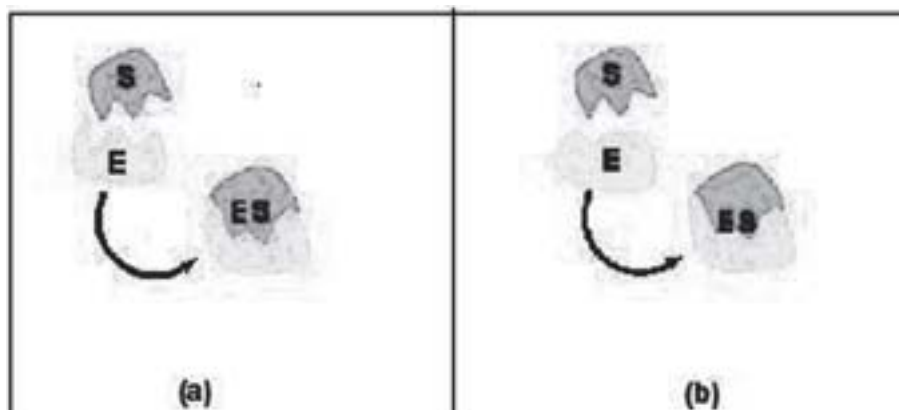


Figura 7. Relação do encaixe do substrato à enzima substrato de acordo com os modelos chave-fechadura e do ajuste da enzima ao substrato.

## CONCLUSÃO

As enzimas são os catalisadores biológicos com propriedades incomuns. A maioria delas são proteínas globulares, com exceção das ribozimas (enzimas de RNA). As propriedades que fazem das enzimas os catalisadores notáveis é que elas aumentam a velocidade de reação químicas nas condições do ambiente celular, apresentam especificidade por seus substratos, não produzem sub produtos ou contaminantes e podem ter sua atividade catalítica regulada. As enzimas se classificam em seis classes a saber: oxirredutases, transferases, hidrolases, isomerases, liases e ligases. Esses catalisadores biológicos aumentam a velocidade de reações químicas diminuindo a energia de ativação da reação catalisada, sem interferir no perfil da energia livre padrão ( $\Delta G$ ) nem a constante de equilíbrio da reação ( $K_{eq}$ ). As enzimas do tipo Michaelis-Menten demonstram uma curva de saturação pelo substrato do tipo hipérbole retangular. Constante de substrato que dá metade da velocidade máxima é denominada constante de Michaelis-Menten ( $K_M$ ). A velocidade das reações enzimáticas podem ser alteradas tanto por variação na temperatura, como variações do pH do meio em que as enzimas se encontram. A especificidade das enzimas por seus substratos é absoluta ou relativa. As enzimas que apresentam especificidade absoluta são estereoespecíficas (discriminam entre estereoisômeros) e as que apresentam especificidade relativa reconhecem mais de um substrato, desde que tenham um grupo químico comum.



### RESUMO

As enzimas são proteínas com função específica de acelerar reações químicas nas células. A maioria delas é proteína globular, excetuando-se as ribozimas, que são enzimas de ribonucleotídeos. As enzimas são catalisadores notáveis, pois além de apresentarem alto poder catalítico, catalisam reações nas condições do ambiente celular. Apresentam, ainda, regulação de sua atividade catalítica e especificidade por seu substrato. As enzimas conjugadas requerem cofatores (moléculas orgânica ou inorgânica) para desenvolver suas atividades catalíticas. Normalmente, os cofatores inorgânicos são íons metálicos e o cofator orgânico é um composto orgânico denominado coenzima. A porção protéica da enzima conjugada é a apoproteína ou apoenzima. Quando o cofator se liga firme e permanentemente ao sítio ativo da enzima, é nominado grupo prostético. As enzimas compõem seis classes conforme a reação catalisada: oxirredutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases. As enzimas aumentam a velocidade de reações químicas por diminuir a energia de ativação. Nesse processo as enzimas formam complexos com seus substratos. As enzimas do tipo Michaelis-Menten descrevem uma hipérbole retangular quando são lançados em gráfico os dados de velocidade da reação por variação na concentração do substrato. A concentração do substrato que dá metade da velocidade máxima é denominada  $K_M$  (Constante de Michaelis-Menten). A maioria das enzimas apresenta um pH ótimo, valor de pH em que a sua atividade catalítica é máxima. A atividade da enzima é reduzida em meio cujo valor de pH varia em torno do pH ótimo. A velocidade das reações enzimáticas duplica a cada elevação de  $10^\circ \text{C}$ , dentro de certa faixa na qual a enzima é estável e mantém sua atividade catalítica. A temperatura acima de  $50^\circ \text{C}$  as enzimas perdem sua função biológica por sofrer desnaturação. A especificidade enzimática é a propriedade das enzimas apresentar preferência por seus substratos. Quanto a especificidade por seus substratos as enzimas são classificadas em absolutas (não ligam em seu sítio ativo nem mesmo moléculas bastante semelhantes, como os isômeros ópticos) e relativas (reconhecem grupos químicos comuns encontrados nas estruturas dos substratos). Os modelos que explicam a relação das enzimas com seus substratos são o chave-fechadura (que considera que o sítio ativo da enzima é complementar em tamanho, forma e natureza química à molécula do substrato, gerando um encaixe perfeito entre a enzima (a fechadura) e o substrato (a chave); e o do ajuste induzido da enzima ao substrato (neste, o sítio ativo não apresenta uma forma geométrica rígida mas um arranjo espacial preciso e específico dos grupos R dos aminoácidos do sítio ativo das enzimas).

## ATIVIDADES

1. Quais as propriedades das enzimas que fazem delas catalisadores incomparáveis?
2. O que são transferases e oxirredutases?
3. Como as enzimas aumentam a velocidade de uma reação química?
4. Como a concentração do substrato pode influenciar a velocidade de uma reação enzimática?
5. Por que o modelo do ajuste induzido é mais aceito na explicação da relação da enzima com o seu substrato do que o modelo chave-fechadura?
6. Como variações do valor de pH afetam a velocidade de uma reação enzimática?



## COMENTÁRIO SOBRE AS ATIVIDADES

1. Certamente ao responder essa atividade você deve ter pensado na ação catalítica de catalisadores químicos comuns como níquel e platina com as propriedades dos catalisadores biológicos, as enzimas. Nessa comparação você deve ter apontado as características das enzimas que fazem delas os melhores catalisadores conhecidos como o fato de essas moléculas catalisarem reações químicas nas condições do ambiente celular, de elas apresentarem um poder catalítico incomparavelmente alto, de apresentarem especificidade (ou preferência por seus substratos) e de poderem ter suas atividades catalíticas. Como nenhum catalisador químico é capaz de apresentar qualquer uma dessas quatro propriedades acima citadas, você reconheceu apropriadamente que as enzimas são os melhores catalisadores.

2. O sufixo ase (no plural) presente nos termos acima permitiu a você associá-los a enzimas. A leitura do tópico sobre a nomenclatura das enzimas destaca que esse sufixo é característico dessa classe de biomoléculas. Os nomes dessas enzimas também são sugestivos, e certamente conduziram você a uma correta identificação das atividades dessas suas enzimas. Os termos oxirredutases e transferases devem ter sugerido a você o tipo de reações que essas enzimas devem catalisar no ambiente celular. Pois vejamos, as oxirredutases catalisam reações de óxido-redução e as transferases catalisam reações de transferência de grupos químicos.

3. Se ao responder essa atividade você além do texto consultou a Figura 1 deve ter percebido que a única diferença entre uma reação catalisada e a reação não catalisada é o nível da energia de ativação.

A energia de ativação é a energia necessária para ativar um reagente, levando-o ao topo de uma colina energética, denominada estado de transição. A partir de dados da Figura 1 você pode concluir que as reações catalisadas apresentam uma energia de ativação mais baixa do que as reações não catalisadas. Assim, as enzimas aceleram a velocidade de uma reação química diminuindo a energia de ativação.

4. Se você imaginou uma situação experimental em que a concentração da enzima é mantida constante e criou diferentes situações em que a concentração do substrato é variada, imagino você concluindo que:

- Quando as concentrações do substrato são bastante baixas, a velocidade da reação é igualmente baixa.
- Incrementos consideráveis da concentração do substrato resultarão em aumentos pronunciados da velocidade enzimática.
- Com aumentos significativos das concentrações do substrato, a velocidade da reação sofrerá pouca alteração devido às enzimas demonstrarem o efeito de saturação por seus substratos.

5. Como já aprendemos na aula de proteínas globulares que variações no valor de pH tanto para o lado ácido quanto para o lado básico podem causar desnaturação protéica, espera-se nessa atividade que você tenha associado as enzimas a proteínas globulares. Você deve ter reconhecido também que as enzimas apresentam um valor de pH em que a sua atividade catalítica é máxima conhecido como pH ótimo. A atividade da enzima é afetada (é reduzida) quando ela está num meio cujo valor de pH varia em torno do pH ótimo. O pH ótimo de uma enzima não é necessariamente idêntico ao pH do meio em que normalmente ela se encontra; esse pode estar um pouco acima ou abaixo do valor do pH ótimo. Variações bruscas de pH, tanto para valores ácido como alcalino, podem causar a desnaturação da enzima, com conseqüente perda da sua atividade biológica.

6. Certamente você deve terá identificado que quando o substrato se liga ao sítio ativo das enzimas, eles provocam uma mudança nessa estrutura. Ao ter sua estrutura modificada, as enzimas promovem uma distorção também no substrato. Compreendendo que o modelo chave-fechadura representa uma relação estática da enzima com seu substrato, como uma chave que se encaixa perfeitamente na fenda de uma fechadura, certamente você terá juntado elementos para justificar o porquê de o modelo do ajuste induzido explicar



melhor a relação das enzimas com seus substratos. Assim, o modelo do ajuste induzido atesta que o sítio ativo não apresenta uma forma geométrica rígida, como é verificado no modelo chave fechadura, mas um arranjo espacial preciso e específico dos grupos R dos aminoácidos. Assim, quando o substrato interage com a cadeia polipeptídica da enzima ele provoca uma mudança conformacional na enzima. Uma vez distorcida, a enzima induz também uma mudança na estrutura do substrato.

### PRÓXIMA AULA

O que são inibidores enzimáticos? Como são classificados os inibidores enzimáticos? O que é regulação enzimática e quais são os tipos de regulação enzimática? Esses e outros questionamentos serão respondidos na próxima aula, então, até lá!

### REFERÊNCIAS

- BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Bioquímica**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2004.
- CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. **Bioquímica ilustrada**. 2 ed. Editora Artes Médicas, 1997.
- KOOLMAN, J.; RÖHM, Klaus-Heinrich. **Bioquímica**. 3 ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**. 2 ed. São Paulo, Sarvier, 1995.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**. 3 ed. São Paulo: Sarvier, 2002.
- STRYER, L. **Bioquímica**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1996.
- VOET, D.; VOET, J. G.; PRATT, C. W. **Fundamentos de Bioquímica**. . Porto Alegre: Editora Artmed, 2000.





## INIBIÇÃO E REGULAÇÃO ENZIMÁTICA

### META

Entender como os inibidores enzimáticos e a regulação enzimática interferem na velocidade das reações enzimáticas.

### OBJETIVOS

Ao final desta aula, o aluno deverá:

- definir inibição enzimática;
- classificar inibição enzimática;
- descrever a inibição irreversível;
- descrever a inibição reversível competitiva;
- descrever a inibição reversível incompetitiva;
- reconhecer a inibição reversível mista;
- descrever e classificar enzimas reguladoras;
- descrever as propriedades das enzimas alostéricas;
- descrever as propriedades das enzimas reguladas covalentes; e
- definir zimogênios e descrever a sua formação.

### PRÉ-REQUISITOS

Para acompanhar esta aula, é importante buscar subsídios nos conteúdos trabalhados na aula introdução ao estudo das enzimas.



Modelo do enzima *Purina nucleósido fosforilase* (PNP) gerado por computador (Fonte: <http://pt.wikipedia.org>).

### INTRODUÇÃO

Diversos fatores alteram a velocidade de uma reação enzimática, entre eles temos a concentração do substrato no estado de transição, variações no pH do meio em que a enzima se encontra e a elevação da temperatura. Enquanto aumentos da concentração do substrato no estado de transição elevam a velocidade da reação; as variações do pH do meio em que as enzimas se encontram e as elevações da temperatura provocam a desnaturação da enzima, diminuindo a velocidade da reação. A influência desses fatores foi vista na aula introdutória do assunto enzimas. Nessa aula vamos estudar dois outros fatores que interferem na velocidade enzimática: a inibição e a regulação enzimática. De fato, muitos processos enzimáticos podem ser interrompidos, inibidos ou ativados, durante certas fases no ciclo de vida da célula. Se assim não fosse, a célula poderia apresentar um crescimento descontrolado, como o que é observado nas células cancerosas. O estudo da inibição enzimática permitiu aos enzimologistas (bioquímicos estudiosos das enzimas) identificar a estrutura química dos aminoácidos que participam na formação dos sítios ativos dessas moléculas, elucidar as seqüências de diversas vias metabólicas, bem como no esclarecimento do mecanismo de ação de algumas drogas terapêuticas, como por exemplo, o ácido acetil salicílico (AAS, encontrado na aspirina). A regulação das vias metabólicas envolve mecanismos sofisticados e complexos como a regulação alostérica, modificações químicas covalentes da enzima, ativação de zimogênios e produção celular de isoenzimas.



Eduard Buchner descobriu que os extratos de levedo podiam fermentar o açúcar até álcool e provou que as enzimas envolvidas na fermentação continuavam funcionando mesmo quando removidas das células vivas (Fonte: <http://pt.wikipedia.org>).

## DEFINIÇÃO DE INIBIDOR ENZIMÁTICO

Qualquer molécula que se ligue à cadeia polipeptídica de uma enzima, diminuindo a velocidade da reação, é considerada um inibidor enzimático.

## TIPOS DE INIBIÇÃO ENZIMÁTICA

A inibição enzimática é classificada em irreversível e reversível. Essa classificação baseia-se na natureza química da ligação do inibidor à enzima. Assim, a inibição irreversível ocorre com a ligação do inibidor de forma covalente ao sítio ativo da enzima. Os inibidores reversíveis se ligam de forma não covalente à cadeia polipeptídica da enzima.

## INIBIÇÃO IRREVERSÍVEL

Na inibição irreversível o inibidor se liga através de ligação covalente ao sítio ativo da enzima, impedindo a ligação do substrato. A inibição da enzima acetilcolinesterase por organofosforados (como o diisopropilfluorofosfato) é um exemplo de inibição irreversível. Os organofosforados são utilizados como inseticidas na agricultura, para controlar as pragas que atacam as plantações.

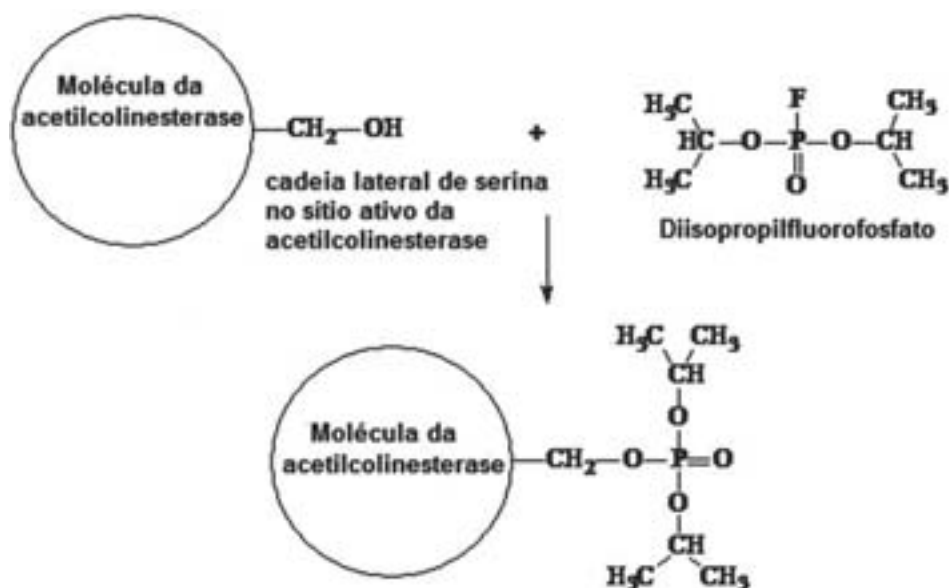


Figura 1: Inibição irreversível da enzima acetilcolinesterase pelo diisopropilfluorofosfato, um organofosforado.

## INIBIÇÃO REVERSÍVEL

Na inibição reversível o inibidor se liga ao sítio ativo ou então a outra parte da cadeia polipeptídica da enzima, impedindo que o substrato seja transformado em produto. A ligação do inibidor reversível à enzima ocorre através de uma ou mais interações químicas não covalentes como: pontes de hidrogênio, interação hidrofóbica, ligação iônica, van der Waals, dipolo-dipolo. A inibição reversível é de três tipos, a saber: Competitiva, incompetitiva e mista.

## INIBIÇÃO REVERSÍVEL

competitiva. A inibição competitiva ocorre devido à estrutura química do inibidor competitivo assemelha-se à estrutura do substrato. O inibidor competitivo se liga ao sítio ativo da enzima, impedindo a ligação do substrato. A inibição da desidrogenase succínica, uma enzima do ciclo de Krebs, (assunto que vamos estudar na aula 13) pelo malonato é um exemplo de inibição competitiva (Figuras 2a e 2b).

O succinato (Figura 2b), um ácido orgânico que apresenta dois grupos carboxilatos ( $\text{COO}^-$ ), se liga ao sítio ativo da desidrogenase succínica através de ligação iônica. Essa ligação iônica ocorre com a atração das cargas negativas dos carboxilatos ( $\text{COO}^-$ ) e a carga positiva dos íons amônio ( $^+\text{NH}_3$ ). O malonato e o oxaloacetato são inibidores competitivos dessa enzima. Tanto o malonato quanto oxaloacetato apresentam estruturas químicas semelhantes a do succinato (Figura 2b) podendo dessa forma, ligar-se ao sítio ativo também através de ligação iônica.

Este exemplo explica como o conhecimento desse inibidor permitiu mapear o sítio ativo da enzima desidrogenase succínica. Assim, se tanto o substrato como os inibidores dessa enzima apresentam carga negativa no pH 7,0 (conferida pelos grupos  $\text{COO}^-$ ), é indicativo de que o sítio ativo dessas enzimas deve conter aminoácidos com carga positiva (aminoácidos básicos). Dessa forma, os substratos e inibidores com carga negativa ( $\text{COO}^-$ ) interagem com os aminoácidos básicos do sítio ativo dessa enzima por formação de ligação iônica.

A inibição competitiva pode ser revertida aumentando-se a concentração do substrato. Isso é explicado pelo fato de que incrementos na concentração de substrato permitirão a eles competir com o inibidor pela ligação ao sítio ativo da enzima.

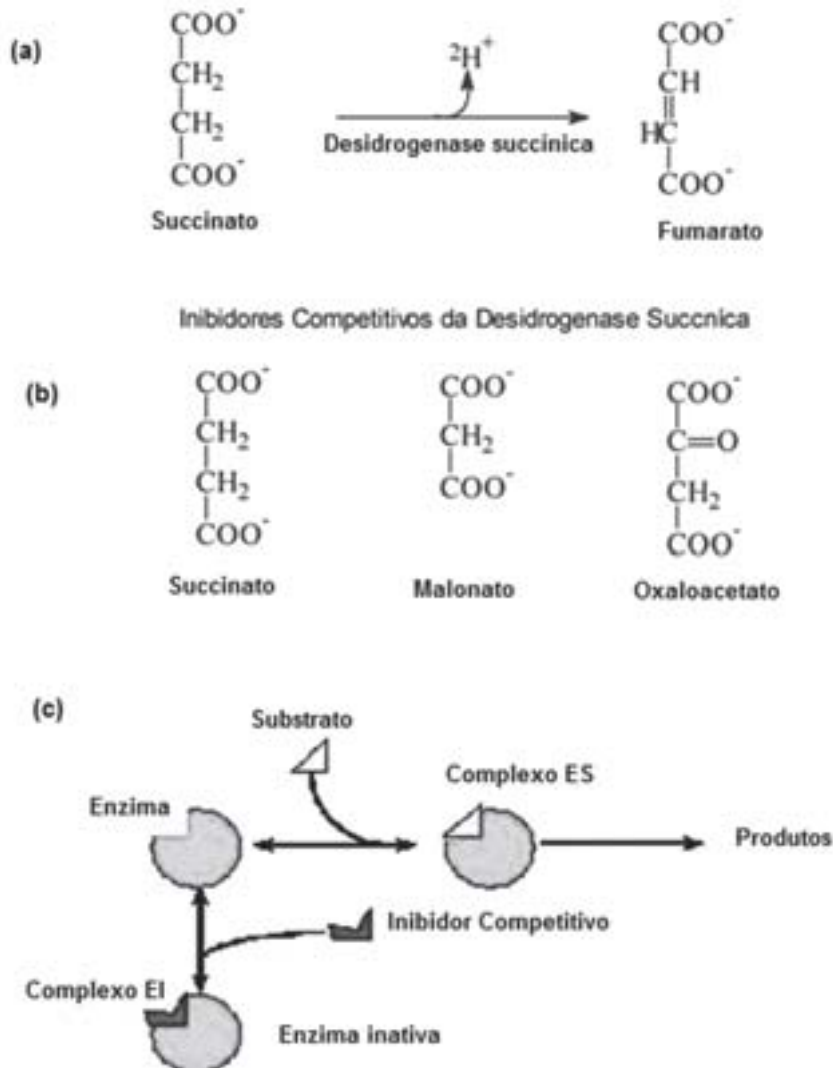


Figura 2 (a) Inibição reversível da enzima desidrogenase succínica pelo malonato. (b) Estruturas químicas do succinato, malonato e oxaloacetato. (c) Representação esquemática da inibição competitiva.

### INIBIÇÃO INCOMPETITIVA

A inibição incompetitiva se caracteriza pela ligação do inibidor apenas ao complexo enzima substrato (representado por ES) originando um complexo enzima-substrato-inibidor (ESI). O complexo ESI é inativo, o que significa dizer que o substrato nessa condição não vai ser transformado pela enzima, formando o produto da reação (Figura 3). O esquema abaixo demonstra como ocorre a reação enzimática em presença do inibidor incompetitivo.



A inibição incompetitiva não é revertida com aumentos na concentração do substrato.

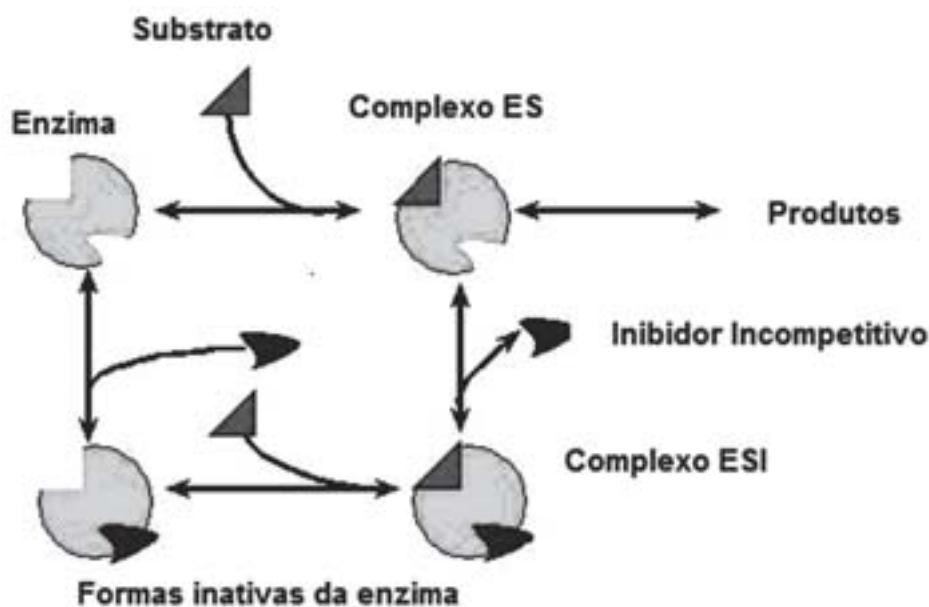


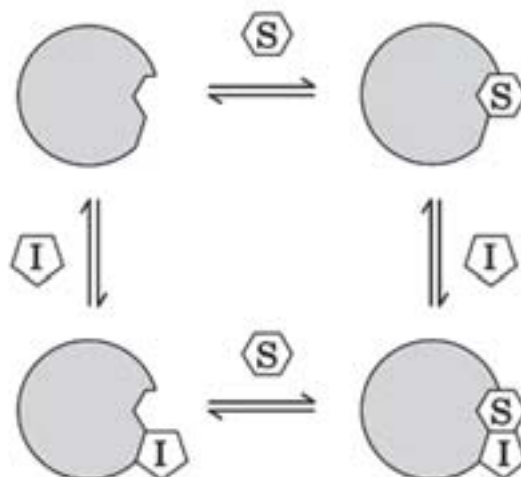
Figura 3. Inibição incompetitiva.

### INIBIÇÃO MISTA

Na inibição mista o inibidor se liga a uma região da enzima, diferente do sítio ativo, sem interferir na ligação do substrato ao sítio catalítico. Uma vez ligado o substrato ao sítio ativo da enzima, ele também não impede a ligação do inibidor. O inibidor pode se ligar tanto a enzima livre [E] quanto ao complexo enzima-substrato [ES], formando o complexo [ESI]. O complexo [ESI] é cataliticamente inativo, ou seja, o substrato não vai ser transformado no produto da reação (Figura 4). São exemplos de inibidores mistos os metais pesados como chumbo ( $Pb^{2+}$ ), prata ( $Ag^{2+}$ ), mercúrio ( $Hg^{2+}$ ), etc. Esses inibidores se ligam a sulfidrilas (SH), grupo funcional encontrado na cadeia lateral do aminoácido cisteína.

Figura 4. Representação esquemática da inibição mista. O Complexo ES representa a enzima ligada ao seu substrato; ESI a enzima ligada ao seu inibidor misto e ao seu substrato. Nesta inibição o inibidor se liga a uma região da enzima diferente do sítio catalítico, que é o local de ligação do

substrato. A inibição não competitiva pode ser revertida através da diálise da enzima.



## ENZIMAS REGULADORAS

A regulação das vias metabólicas envolve mecanismos sofisticados e complexos como:

Regulação não covalente ou controle alostérico. Essa regulação se caracteriza pela ligação não covalente do efetor ou modulador ao sítio regulador das enzimas alostéricas (sítio alostérico ou sítio modulador). O modulador pode ativar ou inibir a atividade enzimática.

Modificação covalente reversível. As propriedades catalíticas de muitas enzimas são alternadas pela ligação covalente e transitória de um grupo químico à cadeia polipeptídica ou ao sítio ativo da enzima. No metabolismo celular é bastante freqüente a regulação de enzimas reguladoras das vias metabólicas por transferência de grupos fosfatos do ATP para sítios ativos dessas enzimas.

Clivagem proteolítica. Nesse mecanismo de controle as enzimas se alternam entre dois estados a saber, inativo (proenzimas ou zimogênios) e enzimas cataliticamente ativas.

Produção de formas múltiplas de enzimas (isoenzimas). Esse tipo de regulação se dá por formas múltiplas de enzimas relacionadas denominadas isoenzimas ou isozimas. As isozimas são enzimas homólogas dentro de um mesmo organismo que catalisam a mesma reação, mas diferem levemente em suas estruturas e nos valores de seus parâmetros cinéticos como  $K_M$  e  $V_{max}$ .



## SISTEMA MULTIENTZIMÁTICO OU VIA METABÓLICA

Uma via metabólica se caracteriza como sendo uma seqüência de reações químicas em que um grupo de enzimas (sistema multienzimático) atua em conjunto para converter um determinado substrato em um ou mais produtos. Nessa via multienzimática, o produto da ação de uma enzima é substrato da próxima enzima, e assim sucessivamente. Os produtos das ações dessas enzimas do metabolismo são denominados intermediários metabólicos ou metabólitos (Figura 5).

A glicólise anaeróbica (metabolismo da glicose na ausência de oxigênio), que pode ocorrer em células dos músculos e das hemácias, é um exemplo de uma via metabólica. Nessa via metabólica o monossacarídeo glicose, um dos principais substratos dessa via, vai ser transformado em duas moléculas de ácido láctico, sob a ação conjunta de onze enzimas (Estudaremos esse metabolismo com mais detalhes na aula metabolismo aeróbico e anaeróbico dos carboidratos). Normalmente, a primeira enzima de uma via metabólica é uma enzima reguladora. Em regra, a enzima reguladora que catalisa a reação mais lenta de uma via metabólica é a enzima marca passo. As enzimas marca passos são enzimas reguladoras, sendo classificadas em dois tipos: enzimas alostéricas (ou reguladas de forma não covalente) e enzimas reguladas covalentemente.



Figura 5: Via metabólica. Neste esquema de uma via metabólica, E1 a E6 representam as seis enzimas que catalisam a transformação do substrato A no produto P. As letras B, C, D, E e F representam os intermediários metabólicos.

## REGULAÇÃO ALOSTÉRICA OU REGULAÇÃO NÃO-COVALENTE

As enzimas alostéricas são proteínas reguladoras que apresentam um sítio catalítico e um sítio alostérico ou regulador em suas cadeias polipeptídicas. Ao sítio alostérico se liga o efetor ou modulador, que é a molécula que regula a atividade dessas enzimas. A ligação do modulador alostérico ocorre por interação química não covalente, como pontes de hidrogênio, ligação iônica, dipolo-dipolo, interação de van der Waals e interação hidrofóbica. Os sítios ativos e alostéricos dessas enzimas são localizados em regiões distintas da cadeia polipeptídica. Pode ocorrer também de esses sítios se encontrarem em subunidades distintas da proteína. As enzimas alostéricas existem em duas formas: T (tensa), não ligada ao substrato, e a forma R (Relaxada) ligada ao substrato (Figura 6). As enzimas alostéricas demonstram especificidade tanto para o seu substrato quanto para o modulador. Os moduladores são ativadores ou inibidores da atividade catalítica (Figura 6).



(Fonte: Garret & Grisham, 1995).

Figura 6. Enzimas Alostéricas. O sítio Catalítico é representado por C e o sítio regulador, por R..

## ENZIMAS ALOSTÉRICAS HOMOTRÓPICA E HETEROTRÓPICA

De acordo com a regulação, as enzimas alostéricas classificam-se em homotrópica ou heterotrópica. Na regulação homotrópica o modulador é o próprio substrato da enzima. Quando o substrato atua como modulador homotrópico ele se liga ao sítio alostérico, regulando assim, a atividade da enzima. O regulador heterotrópico é qualquer substância diferente do substrato. Algumas enzimas alostéricas apresentam ambos os tipos de regulação homotrópica e heterotrópica.

## EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO SUBSTRATO NA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DAS ENZIMAS ALOSTÉRICAS

As enzimas alostéricas são enzimas complexas, possuindo duas ou mais cadeias polipeptídicas. Essas enzimas são proteínas oligoméricas. A curva de velocidade de reação em função do aumento da concentração de substrato para as enzimas do tipo Michaelis-Menten, é uma hipérbole retangular, (como aprendemos na aula de introdução ao estudo das enzimas), as enzimas alostéricas, por sua vez, descrevem uma curva do tipo sigmóide (Figura 7). Outro aspecto que merece ser destacado sobre as enzimas alostéricas é que a concentração de substrato que corresponde à metade da velocidade máxima é conhecido como  $K_{0,5}$ .

As enzimas alostéricas apresentam propriedades cooperativas, ou seja, comunicação entre as suas cadeias polipeptídicas, comunicação essa que se caracteriza por uma mudança conformacional da enzima quando a ela se ligam os seus moduladores. Isto pode ser constatado pelo efeito da concentração do substrato na velocidade da reação. Sob concentrações baixas de substrato, a velocidade da reação vai ser igualmente baixa, aumentos subsequentes podem elevar a velocidade da reação, multiplicando-a por um fator de 500 vezes a velocidade inicial. Isso ocorre por que as enzimas alostéricas apresentam propriedades cooperativas ou cooperatividade. A cooperatividade é a comunicação entre as cadeias polipeptídicas das enzimas alostéricas é de dois tipos: Cooperatividade positiva e cooperatividade negativa.

A ligação de um modulador ativador a um sítio regulador pode facilitar a ligação de moléculas de substratos aos outros sítios catalíticos. Essa é a cooperatividade positiva. No entanto, a ligação do modulador inibidor a um sítio regulador, diminuirá a ligação da enzima pelo substrato, verificando-se, portanto, a cooperatividade negativa.

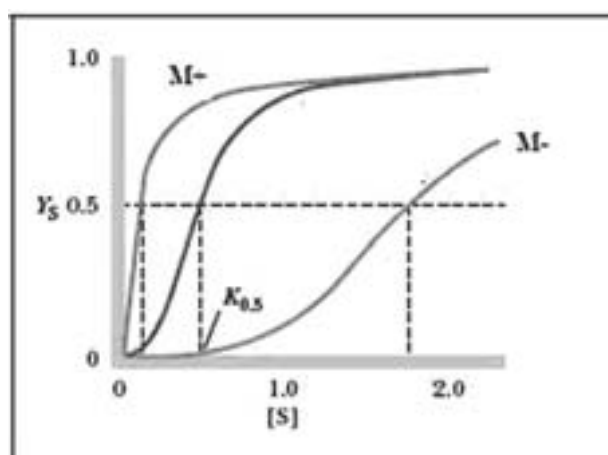


Figura 7. Curva de velocidade das enzimas alostéricas em função da variação da concentração do substrato e efeitos dos moduladores alostéricos heterotrópico positivo (M+) e negativo (M-) na sua curva de saturação.

Fonte: Garret & Grisham, 1995.

**PROPRIEDADES DAS ENZIMAS ALOSTÉRICAS**

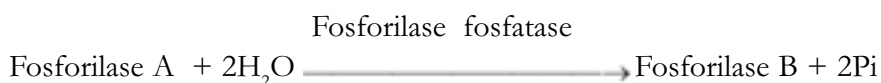
- São proteínas oligoméricas, apresentando duas ou mais cadeias polipeptídicas;
- São reguladas pela ligação não covalente do efetor ou modulador ao sítio regulador ou alostérico;
- Apresentam curva de saturação pelo substrato do tipo sigmóide;
- Apresentam propriedades cooperativas, ou seja, cooperação ou comunicação entre as suas cadeias polipeptídicas;
- Não seguem o comportamento cinético descrito por Michaelis-Menten, para as enzimas simples, ou seja, não apresentam curvas de velocidade em função do aumento do substrato do tipo hiperbólico;
- A concentração do substrato que corresponde à metade da velocidade máxima é denominada  $K_{0,5}$ .

**ENZIMAS REGULADAS COVALENTEMENTE**

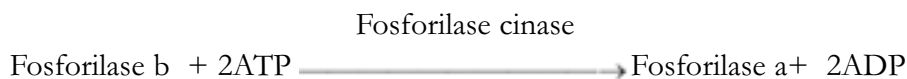
Na regulação covalente essas enzimas reguladoras são inter convertidas entre duas formas ativa e inativa. A ativação ou inativação dessas enzimas ocorre através da ligação covalente de um grupo químico a um átomo ou grupo de átomos dos sítios ativos dessas enzimas. A regulação da enzima fosforilase do glicogênio é um exemplo desse tipo de regulação. A fosforilase do glicogênio é uma enzima encontrada nos músculos e fígado, e catalisa a seguinte reação.

(Glicogênio) + Fosfato  $\rightarrow$  (Glicogênio encurtado de um resíduo de glicose) + glicose-1-fosfato

As fosforilases do glicogênio ocorrem em duas formas: fosforilase A e fosforilase B. A fosforilase A é a forma ativa, e a fosforilase B. é a forma relativamente inativa. A fosforilase A tem duas subunidades polipeptídicas, cada uma delas com um resíduo de serina, que é fosforilado no seu grupo hidroxila. Esses resíduos de serina fosfato são necessários para a atividade máxima da enzima. Os grupos fosfatos podem ser removidos por hidrólise, catalisada por uma terceira enzima, com atividade hidrolítica, a enzima fosforilase fosfatase. Nesta reação a fosforilase A é transformada em fosforilase B.



A fosforilase-B, por sua vez, pode ser convertida em fosforilase A ativa, por meio de uma quarta enzima chamada fosforilase cinase. A fosforilase cinase catalisa a transferência de grupo fosfato do ATP para o grupo hidroxila de resíduos específicos de serina na fosforilase B.



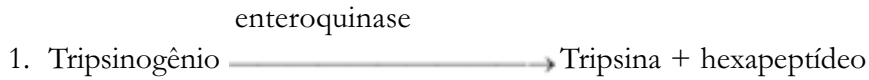
## ZIMOGÊNIOS

Um grande número de enzimas (como as enzimas proteolíticas) é sintetizado na forma de precursores inativos denominados zimogênios ou proenzimas. Os zimogênios são convertidos em suas formas ativas pela ação de enzimas proteolíticas em órgãos diferentes daqueles em que foram produzidos. As enzimas proteolíticas hidrolisam as ligações peptídicas específicas dos zimogênios, produzindo proteínas encurtadas de alguns aminoácidos (forma ativa) e peptídeos pequenos. Essas proteínas encurtadas, que são a forma ativa dos zimogênios, apresentam atividade hidrolítica.

Os zimogênios das enzimas digestivas quimotripsina e tripsina, sintetizados nas células pancreáticas, são, respectivamente, quimotripsinogênio e tripsinogênio. Um dos motivos pelo qual se explica a síntese de proteínas na forma inativa é a de que a síntese dessas enzimas como proenzimas evita que elas possam hidrolisar proteínas constitutivas desse órgão. Se essas enzimas fossem produzidas em suas formas ativas elas poderiam causar a destruição desse órgão. Um exemplo que ilustra bem isso é a pancreatite aguda. Na pancreatite aguda verifica-se a síntese das proenzimas de tripsina e quimotripsina nas células pancreáticas em suas formas ativas. A produção dessas proenzimas em suas formas ativas está associado com todos os sintomas letais observados nessa doença.

## ATIVAÇÃO DA TRIPSINA

A conversão do tripsinogênio pancreático em tripsina no intestino pode ocorrer de duas formas distintas, como demonstram as reações 1 e 2. Na reação 1, essa conversão é feita pela enzima intestinal enteroquinase (também conhecida por enteropeptidase). A própria tripsina intestinal pode converter o tripsinogênio em tripsina, como pode ser verificado na reação 2.



Tripsina



### ATIVAÇÃO DA QUIMOTRIPSINA

O quimotripsinogênio pancreático, que possui uma cadeia polipeptídica composta de 245 resíduos de aminoácidos, é convertido em quimotripsina no intestino por dois diferentes modos de ativação como pode ser visto nas reações 1 e 2 e na Figura 8. Na reação 1, a tripsina intestinal hidrolisa ao quimotripsinogênio, em duas cadeias polipeptídicas, que formam a proteína ativa p-quimotripsina. A reação de ativação, catalisada pela p-quimotripsina, hidrolisa a p-quimotripsina, formando três cadeias polipeptídicas, A, B e C, que compõem a  $\alpha$ -Quimotripsina (Figura 8).

Tripsina



p-Quimotripsina

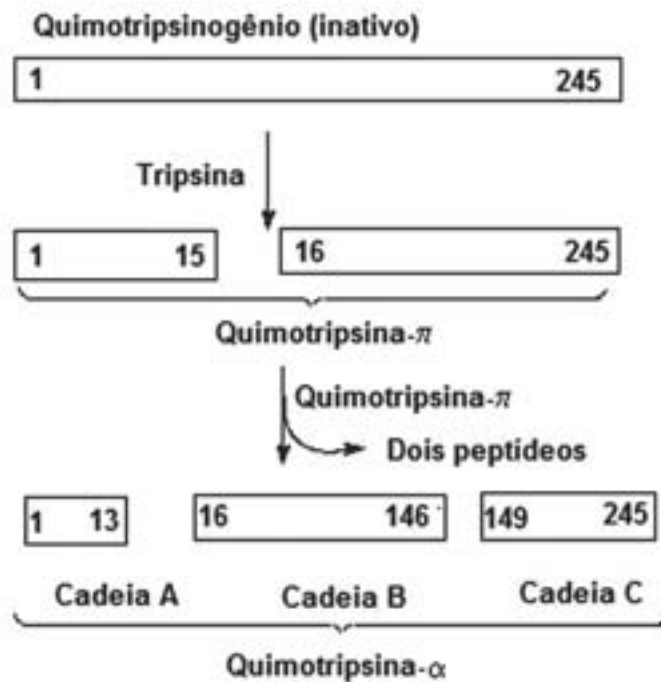


Figura 8. Ativação da quimotripsina.

Os zimogênios são enzimas inativas porque não possuem um sítio ativo. A hidrólise do zimogênio pelas enzimas hidrolíticas, resultam em que interações antes não permitidas entre os aminoácidos sejam descobertas. Isso proporciona mudanças conformacionais da cadeia polipeptídica, fazendo com que o sítio ativo da enzima constitua-se como uma estrutura tridimensional bem definida.

### ISOENZIMAS

Outro fenômeno de regulação metabólica e que depende da estrutura quaternária das proteínas enzimáticas é a produção na célula de isoenzimas. As isoenzimas ou isozimas são formas moleculares múltiplas de uma enzima, que realizam a mesma ação catalítica. A lactato-desidrogenase (LDH), um tetrâmero formado por duas espécies diferentes de cadeias polipeptídicas, denominadas M (músculo) e H (coração) é um exemplo de isoenzima. Essas subunidades são codificadas por genes diferentes (Tabela 1).

Tabela 1. Composição das subunidades da lactato-desidrogenase e suas principais localizações

Tipo	Composição	Localização
LDH- 1	HHHH	Miocárdio e eritrócitos
LDH- 2	HHHM	Miocárdio e eritrócitos
LDH- 3	HHMM	Cérebro e fígado
LDH- 4	HMMM	-
LDH- 5	MMMM	Músculo esquelético e fígado

A lactato desidrogenase catalisa a redução reversível do piruvato a lactato. Desse modo, no músculo esquelético a isoenzima LDH<sup>5</sup> apresenta  $V_{max}$  elevada para o piruvato e, portanto, converte rapidamente o piruvato a lactato. No caso da LDH<sup>1</sup>, encontrada no coração a  $V_{max}$  é relativamente baixa para o piruvato, não favorecendo a formação do lactato. O excesso de piruvato inibe a isoenzima LDH-1. O músculo cardíaco, um tecido essencialmente aeróbico, metaboliza a glicose a piruvato e, a seguir, a  $CO_2$  e  $H_2O$ , produzindo pouco lactato. Entretanto, em situações de déficit de oxigênio no ambiente celular, o piruvato pode ser convertido a lactato. Assim, as características cinéticas distintas das duas enzimas determinam o tipo de metabolismo em cada tecido. Foram estudadas isoenzimas de várias enzimas diferentes, sendo as mais importantes, do ponto de vista clínico, além da lactato desidrogenase, a creatina cinase e a fosfatase alcalina.



## CONCLUSÃO

Os inibidores enzimáticos são as substâncias que reduzem a velocidade da reação das enzimas. A inibição enzimática é classificada em irreversível e reversível, classificação essa baseada na natureza química da ligação do inibidor à enzima. O inibidor irreversível se liga de forma covalente e duradoura ao sítio ativo da enzima. O inibidor reversível, por sua vez, se liga de forma não covalente a cadeia polipeptídica da enzima. A inibição reversível é de três tipos: inibição competitiva, incompetitiva e mista. O inibidor competitivo por apresentar uma estrutura química semelhante a do substrato se liga ao sítio ativo dessa enzima. Na inibição incompetitiva o inibidor se liga apenas ao complexo [ESI]. Na inibição mista o inibidor tanto se liga a enzima livre, quanto a enzima ligada ao seu substrato. A regulação das vias metabólicas envolve mecanismos sofisticados e complexos como regulação alostérica, modificação covalente da enzima, ativação de zimogênios e produção celular de isoenzimas. As regulação não covalente ou controle alostérico se caracteriza pela ligação não covalente do efetor ou modulador ao sítio alostérico. O modulador alostérico pode ser homotrópico ou heterotrópico. Na regulação covalente as enzimas são alternadas pela ligação covalente e transitória de um grupo químico à cadeia polipeptídica ou ao sítio ativo da enzima. Os zimogênios ou proenzimas são enzimas cataliticamente inativas. Os zimogênios são ativados através da ação de proteínas hidrolíticas que clivam ligações específicas, descobrindo o sítio ativo dessas enzimas. As isoenzimas ou isozimas são formas moleculares múltiplas de uma enzima, que realizam a mesma ação catalítica.

## RESUMO

Qualquer substância que se liga à cadeia polipeptídica de uma enzima diminuindo a velocidade da reação é considerada um inibidor enzimático. A inibição enzimática classifica-se em irreversível e reversível. A inibição irreversível ocorre com a ligação do inibidor de forma covalente ao sítio ativo da enzima, enquanto a inibição reversível ocorre com a ligação não covalente do inibidor à cadeia polipeptídica da enzima. As ligações não covalentes envolvidas na ligação do inibidor reversível são: pontes de hidrogênio, interação hidrofóbica, ligação iônica, van der Waals, dipolo-dipolo. A inibição da enzima acetilcolinesterase pelo diisopropil-fluorofosfato é um exemplo de inibição irreversível. Os tipos de inibição reversível são: competitiva, incompetitiva e mista. O inibidor competitivo, por apresentar uma estrutura química semelhante a do substrato, se liga ao sítio ativo da enzima, impedindo a ligação do substrato. O inibidor

incompetitivo se liga apenas ao complexo enzima substrato (ES) originando um complexo enzima-substrato-inibidor (ESI) inativo. O inibidor misto se liga a uma região da enzima (que não o sítio ativo), sem interferir na ligação do substrato ao sítio catalítico. Na inibição mista o substrato uma vez ligado ao sítio ativo, também não impede a ligação do inibidor. A regulação das vias metabólicas envolve mecanismos sofisticados e complexos como a regulação alostérica, modificações químicas covalentes da enzima, ativação de zimogênios e a produção celular de isoenzimas. A regulação não covalente ou controle alostérico se caracteriza pela ligação não covalente do efetor ou modulador ao sítio regulador das enzimas alostéricas. As enzimas alostéricas são proteínas oligoméricas, apresentando duas ou mais cadeias polipeptídicas. Elas são reguladas pela ligação não covalente do efetor ou modulador ao sítio regulador. Apresentam curva de saturação pelo substrato do tipo sigmóide; curva essa que é explicada pelas propriedades cooperativas dessas enzimas. Enzimas reguladas por modificação covalente reversível são alternadas entre as formas ativas e inativas, pela ligação covalente e transitória de um grupo químico à cadeia polipeptídica ou ao sítio ativo da enzima. A ativação ou inativação dessas enzimas ocorre através da ligação covalente de um grupo químico a um átomo ou grupo de átomos dos sítios ativos dessas enzimas. A regulação por clivagem proteolítica ocorre nas proenzimas ou zimogênios. Nesse mecanismo de controle as enzimas se alternam entre dois estados a saber, inativo (proenzimas ou zimogênios) e enzimas cataliticamente ativas. A produção de formas múltiplas de enzimas, como as isoenzimas, é também um mecanismo de regulação celular, que se caracteriza pela presença de formas múltiplas de enzimas relacionadas denominadas isoenzimas ou isozimas.



### ATIVIDADES

1. O que são inibidores enzimáticos? Como eles contribuiram no estudo de enzimas?
2. O que é uma inibição irreversível? Exemplifique-a.
3. O que é uma inibição reversível? Como são classificados os inibidores reversíveis?
4. Diferencie regulação homotrópica de regulação heterotrópica das enzimas alostéricas.
5. Como ocorre a regulação de uma via metabólica?
6. Qual a importância dos zimogênios serem sintetizados em uma forma inativa?

**COMENTÁRIO SOBRE AS ATIVIDADES**

1. Observe que o termo é auto-explicativo, servindo para designar qualquer substância que uma vez ligado à enzima, diminui a velocidade da velocidade da reação. Você deve remontar à importância dos inibidores que, ajudando na identificação dos aminoácidos que entram na formação do sítio ativo das enzimas, no esclarecimento de seqüências metabólicas e na compreensão da ação de algumas drogas terapêuticas, em resumo, contribuíram de forma significativa na compreensão de muitos processos bioquímicos envolvendo a ação de enzimas.

2. Certamente você deve ter associado esse termo irreversível a uma ligação covalente firme e duradoura. Dessa forma, você pode afirmar que a inibição irreversível é a que ocorre com a ligação do inibidor de forma covalente e duradoura ao sítio ativo da enzima. Como exemplo de inibição irreversível você pode apontar a inibição da enzima acetilcolinesterase por um organofosforado (o diisopropilfluorofosfato).

3. Com a leitura do tópico da inibição reversível dessa aula você aprendeu que essa inibição se caracteriza pela ligação não covalente dos inibidores à cadeia polipeptídica da enzima. As ligações não covalentes envolvidas na interação do inibidor com o sítio ativo das enzimas são pontes de hidrogênio, ligação iônica, dipolo-dipolo, van der Waals e interação hidrofóbica. A inibição reversível classifica-se em: competitiva, incompetitiva e mista.

4. Certamente você não deve ter tido qualquer dificuldade em diferenciar a regulação homotrópica da regulação heterotrópica. Naturalmente você identificou que na regulação homotrópica o modulador ou efetor (a molécula que se liga ao sítio regulador) é o próprio substrato da enzima. Você deve ter reconhecido também que quando o substrato atua como modulador homotrópico ele se liga ao sítio alostérico e não ao sítio ativo da enzima. Com relação a regulação heterotrópica você aprendeu nessa aula que o regulador heterotrópico é qualquer substância diferente do substrato.

5. Aprendemos com a regulação de uma via metabólica (ou sistema multienzimático) que no que diz respeito à regulação desse processo, as enzimas reguladoras podem ser de dois tipos: Enzimas alostéricas (reguladas de forma não covalente) e as enzimas reguladas por

modificação não covalente. Na regulação alostérica, o efetor se liga através de ligação não covalente ao sítio modulador da enzima. Na regulação covalente as enzimas reguladoras são inter convertidas entre duas formas ativa e inativa. A ativação ou inativação dessas enzimas ocorre através da ligação covalente de um grupo químico a um átomo ou grupo de átomos dos sítios ativos dessas enzimas. Certamente você deve ter indicado o exemplo da regulação da enzima fosforilase do glicogênio como um exemplo desse tipo de regulação. A fosforilase do glicogênio é uma enzima encontrada nos músculos e fígado, e catalisa a seguinte reação.

6. Você aprendeu com a leitura da regulação de enzimas sintetizadas na forma inativa (os zimogênios) que essas enzimas sofrem a ação de enzimas proteolíticas para passar para sua forma ativa. Nessa ação os zimogênios liberam proteínas encurtadas de alguns aminoácidos (forma ativa) e peptídeos pequenos. Essas proteínas encurtadas (que são a forma ativa dos zimogênios) apresentam atividade hidrolítica. Certamente você reconheceu que se essas proteínas fossem ativadas no órgão em que são produzidos, ou que fossem já sintetizadas na forma ativa, resultaria na destruição desse órgão. Comentando o que ocorre na pancreatite aguda, certamente você identificou que nessa patologia verifica-se a síntese das proenzimas de tripsina e quimotripsina nas células pancreáticas em suas formas ativas. A produção dessas proenzimas em suas formas ativas está associada com todos os sintomas letais observados nessa doença



### PRÓXIMA AULA

Na próxima aula teremos a oportunidade de introduzir o estudo do metabolismo energético celular. Nessa aula estudaremos os tipos de metabolismo celular, procurando compreender o porquê do ATP ser a molécula energética da célula. Até lá!

### REFERÊNCIAS

BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Bioquímica**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2004.  
CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. **Bioquímica Ilustrada**. 2 ed. Editora Artes Médicas, 1997.

KOOLMAN, J.; RÖHM, Klaus-Heinrich. **Bioquímica**. 3 ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 1995.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**. 3 ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

STRYER, L. **Bioquímica**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1996.

VOET, D.; VOET, J. G.; PRATT, C. W. **Fundamentos de Bioquímica**. . Porto Alegre: Editora Artmed, 2000.



## INTRODUÇÃO AO METABOLISMO

### META

Introduzir o estudo do metabolismo.

### OBJETIVOS

Ao final desta aula, o aluno deverá:

definir metabolismo;

diferenciar metabolismo anabólico de metabolismo catabólico;

definir variação de energia livre;

relacionar à variação de energia livre as reações bioquímicas;

descrever reações de óxido redução do metabolismo oxidativo;

reconhecer a formação de ATP; e

relacionar o processo de óxido redução das coenzimas a formação de ATP.

### PRÉ-REQUISITOS

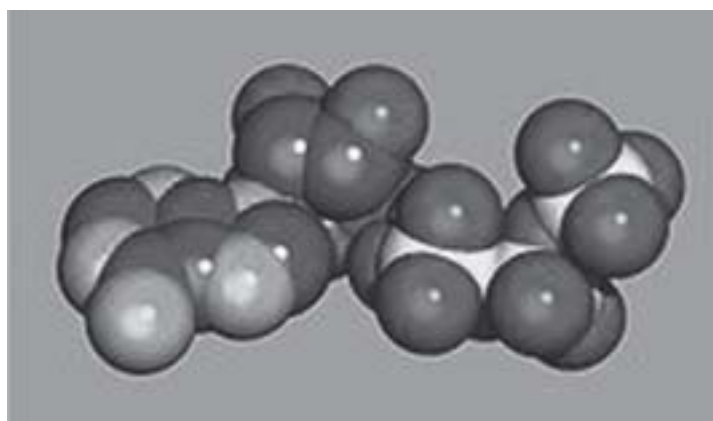
Para acompanhar esta aula possibilitando uma melhor compreensão dos conteúdos trabalhados, você deverá estudar ou rever a aula introdução ao estudo das enzimas, proteínas globulares, química dos carboidratos e química dos lipídios.



A história do estudo científico do metabolismo estende-se por quatro séculos, tendo evoluído da observação de organismos animais inteiros até ao estudo de reações metabólicas individuais na Bioquímica moderna. As primeiras experiências conduzidas de forma controlada foram publicadas por Santório Santório em 1614 no seu livro *Ars de statica medicina* (Fonte: <http://pt.wikipedia.org>).

### INTRODUÇÃO

O metabolismo celular é o conjunto de reações que ocorrem no ambiente celular com o objetivo de sintetizar as biomoléculas ou degradá-las para produzir energia. O metabolismo de síntese das biomoléculas é conhecido como anabólico (anabolismo) e o de degradação catabólico (catabolismo). O anabolismo ocorre quando a célula dispõe de energia ou substrato suficiente. O catabolismo, por sua vez, ocorre em situações em que o organismo necessita de energia como, por exemplo, entre as refeições e no jejum. O catabolismo produzirá energia na forma de ATP quando as biomoléculas forem degradadas. Como visto na aula de ácidos nucleicos o ATP é um nucleotídeo cuja função é participar das reações de transferência de energia da célula, daí o porquê ser conhecido como a moeda energética da célula. As reações do anabolismo e do catabolismo são opostas, mas que ocorrem de maneira articulada, permitindo a maximização da energia disponível. Assim, enquanto o catabolismo ocorre de maneira espontânea, reação exergônica, com produção de ATP o anabolismo é não espontâneo, ou endergônico, necessitando energia para ocorrer. As biomoléculas energéticas são os carboidratos, lipídios e proteínas que são obtidas em grandes quantidades durante a alimentação ou são mobilizadas das reservas orgânicas quando são ingeridas em quantidade insuficiente na alimentação ou quando o consumo energético aumenta grandemente (p.ex.: durante a realização de exercícios físicos). A forma final de absorção da energia contida nessas moléculas se dá na forma de ligações de alta energia do ATP o qual é sintetizado nas mitocôndrias por processos oxidativos que utilizam diretamente o  $O_2$ . Desta forma, é essencial a presença de mitocôndrias e de oxigênio celular para o aproveitamento energético completo das biomoléculas.



Modelo tridimensional da molécula de ATP (Fonte: <http://pt.wikipedia.org>).

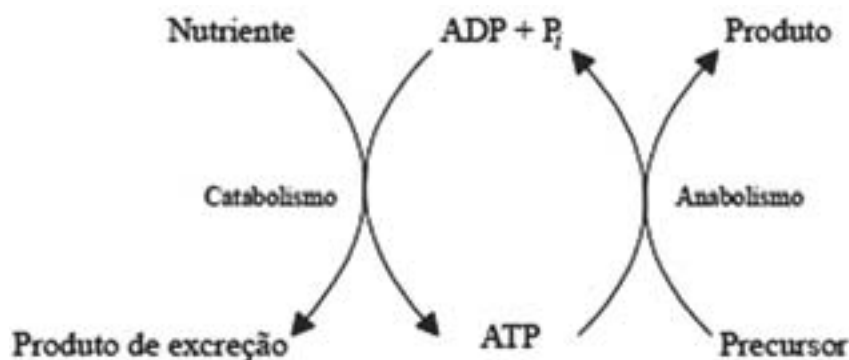


## O METABOLISMO CELULAR

O Metabolismo celular é o conjunto de reações químicas que acontecem nas células dos organismos vivos, para que estes transformem a energia, conservem sua identidade e se reproduzam. Todas as formas de vida (desde as algas unicelulares até os mamíferos) dependem da realização simultânea de centenas de reações metabólicas, reguladas com absoluta precisão. Existem dois grandes processos metabólicos: anabolismo ou biossíntese e catabolismo.

**Anabolismo.** São os processos biossintéticos a partir de moléculas precursoras simples e pequenas. As vias anabólicas são processos endergônicos e redutivos que necessitam de fornecimento de energia.

**Catabolismo.** São os processos de degradação das moléculas orgânicas nutrientes e dos constituintes celulares que são convertidos em produtos mais simples com a liberação de energia. As vias catabólicas são processos exergônicos e oxidativos.



(Fonte: Motta, 2005).

Figura 1. Relação do anabolismo e catabolismo com a produção de ATP.

O anabolismo, ou metabolismo construtivo, é o conjunto das reações de síntese necessárias para o crescimento de novas células e a manutenção de todos os tecidos. O catabolismo, ou metabolismo oxidativo é um processo contínuo, centrado na produção da energia necessária para a realização de todas as atividades físicas externas e internas. O catabolismo engloba também a manutenção da temperatura corporal. Esse processo catabólico implica na quebra de moléculas químicas complexas em substâncias mais simples, que constituem os produtos excretados pelo corpo. A excreção dos produtos do metabolismo é feita por diferentes órgãos como os rins, o intestino, os pulmões e a pele.

As principais fontes de energia metabólica são os carboidratos, lipídios (gorduras) e proteínas, produtos de alto conteúdo energético ingerido

pelos animais, para os quais constituem a única fonte energética e de compostos químicos para a construção de células. Estes compostos seguem rotas metabólicas diferentes, que têm como finalidade produzir compostos finais específicos e essenciais para a vida.

### **METABOLISMO CATABÓLICO AERÓBICO E ANAERÓBIO**

O metabolismo catabólico pode ser dividido também em relação à presença de oxigênio (metabolismo aeróbio) e na ausência de oxigênio (metabolismo anaeróbio).

O metabolismo aeróbio refere-se às reações catabólicas geradoras de energia nas quais o oxigênio funciona como um aceitador final de elétrons na cadeia respiratória e se combina com o hidrogênio para formar água. A presença de oxigênio no “final da linha” determina em grande parte a capacidade para a produção de ATP. No metabolismo anaeróbio não há formação de água a partir do oxigênio durante a oxidação de combustíveis metabólicos.

### **PRINCÍPIO GERAL DO METABOLISMO ENERGÉTICO**

Os organismos necessitam continuamente de energia para se manter vivos e desempenhar várias funções biológicas. De fato, qualquer organismo vivo constitui, no seu conjunto, um sistema estável de reações químicas e de processos físico-químicos mantidos afastados do equilíbrio; a manutenção deste estado contraria a tendência termodinâmica natural de atingir o equilíbrio e só pode ser conseguida à custa de energia, retirada do meio ambiente. Alguns organismos, chamados fototróficos (como as plantas), estão adaptados a obter a energia de que necessitam a partir da luz solar; outros, os quimiotróficos, obtêm energia oxidando compostos encontrados no meio ambiente. Dentre os quimiotróficos, certos microrganismos são capazes de oxidar compostos inorgânicos e são então chamados quimiolitotróficos. No entanto, a maioria dos microrganismos e animais são quimiorganotróficos, pois necessitam oxidar substâncias orgânicas.

As substâncias que podem ser metabolizadas pelos seres humanos, em particular, estão presentes nos seus alimentos, sob a forma de carboidratos, lipídios e proteínas. Há também reservas endógenas, ou seja, as moléculas estocadas nos organismos na forma de glicogênio e gorduras. Essas moléculas são metabolizadas para produção de energia nos intervalos das refeições.

## TERMODINÂMICA DAS REAÇÕES

A bioenergética, ou a termodinâmica bioquímica, é o ramo da Bioquímica que estuda a variação de energia que acompanha as reações que ocorrem na célula. A bioenergética fornece os princípios básicos que explicam porque algumas reações químicas podem ocorrer espontaneamente enquanto outras não.

Os sistemas biológicos utilizam a energia química para impulsionar os processos da vida. Para entender um pouco melhor sobre a energia química precisamos entender o que é a variação de energia livre ( $\Delta G$ ). A variação de energia livre é a porção da variação de energia livre do sistema, isto é diferença entre a energia do produto e reagentes, disponível para o trabalho. As reações podem ter a variação de energia livre igual a zero ( $\Delta G = 0$ ), negativa ( $\Delta G^-$ ) ou positiva ( $\Delta G^+$ ). Quando o  $\Delta G$  é negativo, a reação ocorre espontaneamente com perda de energia, isto é ela é exergônica. Ao contrário um  $\Delta G$  positivo a reação somente ocorre quando a energia livre for fornecida, isto é a reação é endergônica. Quando o  $\Delta G$  é igual a zero não ocorrerá nenhuma variação na energia livre e o sistema é dito em equilíbrio.

## A FORMAÇÃO DE COMPOSTOS RICOS EM ENERGIA

Os nutrientes ao serem metabolizados nas células podem liberar prótons ( $H^+$ ) e elétrons ( $e^-$ ) e seus átomos de carbonos são convertidos a  $CO_2$ . Os prótons e elétrons são recebidos por coenzimas na forma oxidada (Como  $NAD^+$  e  $FAD$ ), que passam assim a forma reduzida, que são formas carregadas com hidrogênio ( $NADH$ ,  $NADPH$  e  $FADH_2$ ).



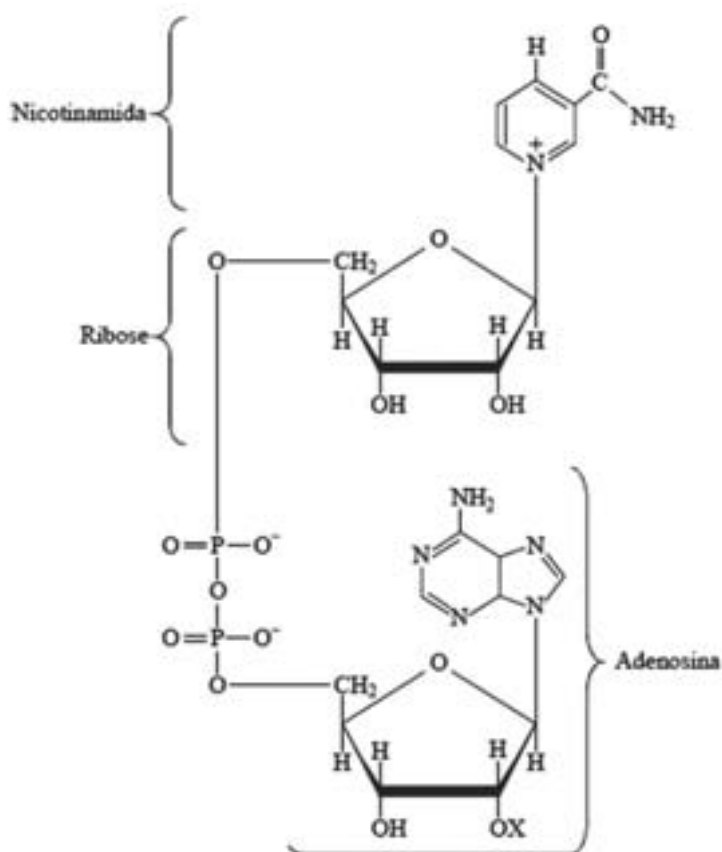
(Fonte: Motta, 2005).

Figura 2. Oxidorredução do NADP e a produção de ATP no metabolismo.

A reoxidação das coenzimas reduzidas (NADH e FADH<sub>2</sub>) a suas formas oxidadas (NAD<sup>+</sup> e FAD) ocorrem na última etapa do metabolismo aeróbico dos nutrientes, quando essas coenzimas reduzidas passam seus elétrons para oceptor final de elétrons, o oxigênio molecular. Esse processo ocorre nas membranas mitocôndria, que é então convertido em água, processo que será explorado no próximo capítulo. A energia derivada dessa oxidação é utilizada para sintetizar um composto rico em energia, a adenosina trifosfato (ATP), a partir de uma molécula de adenosina difosfato (ADP) e um fosfato inorgânico (P<sub>i</sub> = HPO<sub>4</sub><sup>-</sup>).

## FORMAÇÃO DE COENZIMAS REDUZIDAS

Figura 3 Estrutura do NAD<sup>+</sup> e NADP.



X = H Nicotinamida-adenina-dinucleotídeo (NAD<sup>+</sup>)  
 X = PO<sub>3</sub><sup>-</sup> Nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato (NADP<sup>+</sup>)

(Fonte: Motta, 2005).

Em termos energéticos, elétron equivale à energia para a célula. Logo, reações de oxidação – que liberam elétrons – são catabólicas, pois liberam energia, e reações de redução são anabólicas, pois utilizam elétrons/energia. Os principais transportadores de elétrons na célula são o NAD<sup>+</sup>, NADP e o FAD, e funcionam de maneira muito parecida.

### Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo – NAD<sup>+</sup>

Coenzima formada por um dinucleotídeo contendo adenina, capaz de aceitar um par de elétrons do átomo de hidrogênio no catabolismo, e liberar este par de elétrons para ser utilizado no anabolismo.

### A reação de oxirredução do NAD é apresentada abaixo

$\text{NAD}^+ + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{NADH} + \text{H}^+$   
 NAD<sup>+</sup> = Forma Oxidada, aceptora de elétrons

$\text{NADH} + \text{H}^+ = \text{Forma Reduzida, doadora de elétrons}$

**Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato – NADP:**

Muito semelhante ao NAD, possui um fosfato a mais na sua estrutura; atua de forma idêntica ao NAD.

Sua reação de oxirredução é:

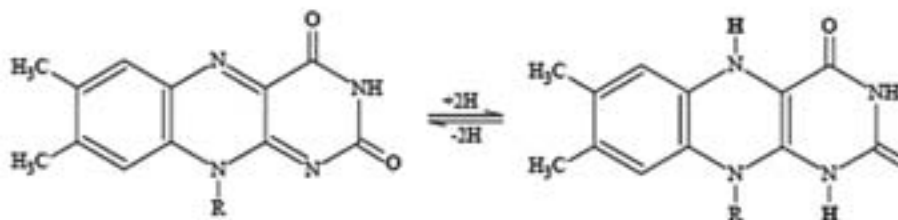
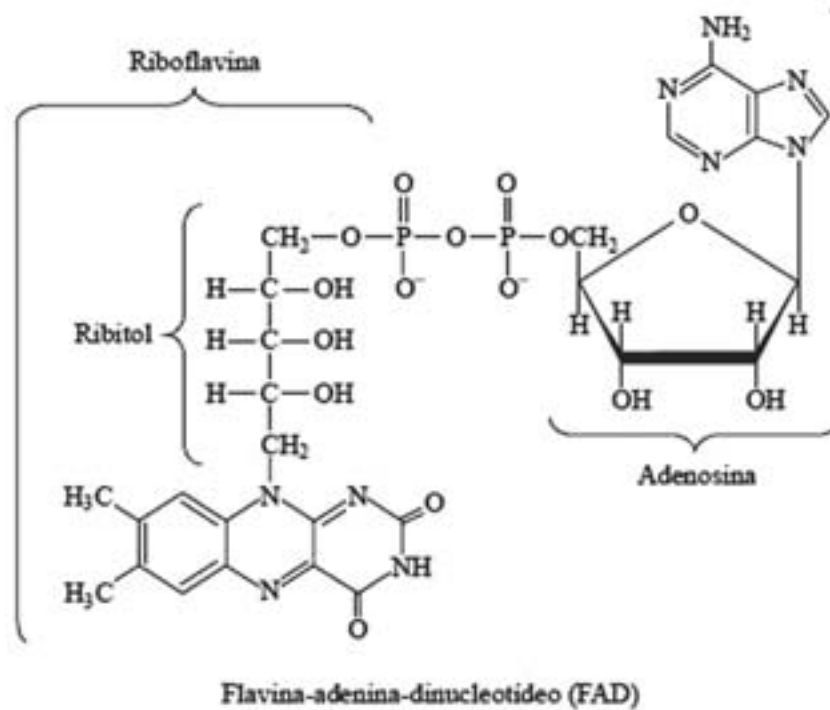


NADP = Forma Oxidada, aceptora de elétrons

NADPH<sub>2</sub> = Forma Reduzida, doadora de elétrons

**Flavina Adenina Dinucleotídeo – FAD**

Nucleotídeo de adenina como o NAD, atua de maneira idêntica, reduzindo-se no catabolismo e oxidando no anabolismo.



(Fonte: Motta, 2005).

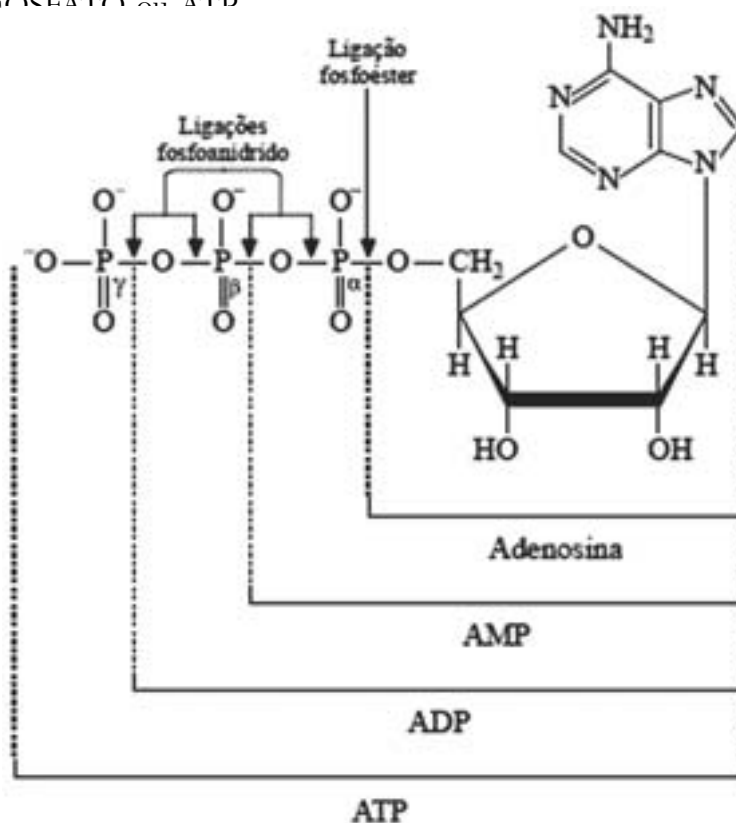
Figura 4. Estrutura do FAD.

A reação de oxirredução do FAD é apresentada abaixo:  

$$\text{FAD} + 2 \text{e}^- + 2 \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{FADH}_2$$

### FORMAÇÃO DO ATP

O principal composto fosfatado de alta energia presente na célula, e que é também o principal transportador de energia, é a ADENOSINA TRIFOSFATO ou ATP.



(Fonte: Motta, 2005).

Figura 5 Estrutura do ATP.

A formação do ATP é um processo endergônico, ou seja, com a formação de uma molécula que retirou calor do sistema reacional para poder ser sintetizada. É a energia química do ATP que será usada para promover os processos biológicos que consomem energia. Em resumo, para que a energia derivada da oxidação dos alimentos possa ser usada pelas células, ela deve estar sob a forma de ATP.

O aproveitamento da energia do ATP é feito associando a remoção do seu grupo fosfato terminal aos processos que requerem energia. Desta forma, a energia química armazenada no ATP pode ser utilizada em processos quí-

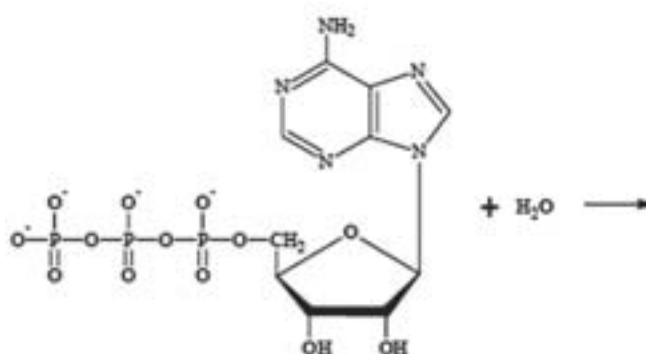
micos (biossíntese), mecânicos (contração muscular), elétricos (condução do estímulo nervoso), osmótico (transporte ativo através das membranas), luminosos (bioluminescência), etc.. A retirada do fosfato do ATP para se utilizar nas funções acima descritas não é por hidrólise, reação que ocorre utilizando uma molécula de água. Embora essa reação seja possível de acontecer espontaneamente acontece numa velocidade muito baixa. Essa reação de hidrólise pode ser catalisada por enzimas denominadas ATP ases que atuam junto a processos que requerem energia e tem suas atividades rigorosamente controladas. Se não acontecesse esse rigoroso controle qualquer célula se tornaria inviável, pois uma vez produzido o ATP a reação de hidrólise liberaria a energia como calor uma forma de energia que não pode ser utilizada pelas células.

O mecanismo de aproveitamento de energia do ATP é bem complexo e, comumente, envolve a transferência do grupo fosfato do ATP para moléculas aceptoras. Essa transferência possibilita efetuar transformações importantes nas células, como a síntese de compostos fosfatados que não podem ser produzidos diretamente, por reação com fosfato inorgânico.

Exemplo para entender como a energia do ATP é aproveitada.

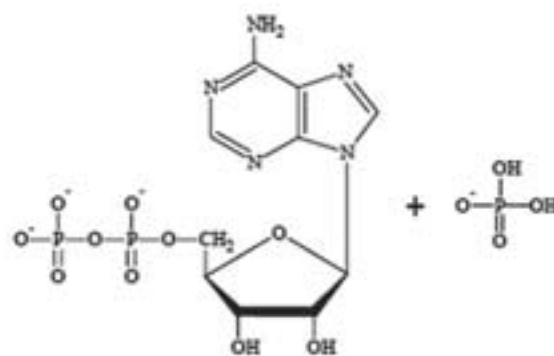


Figura 6. Quebra do ATP com produção de energia.



Trifosfato de adenosina (ATP)

Nos organismos vivos também são encontrados outros nucleotídeos trifosfatados, entre eles: guanosina trifosfato (GTP); citosina trifosfato (CTP); uridina trifosfato (UTP) e tiamina trifosfato (TTP). Esses nucleotídeos também podem atuar como transportadores de energia, de forma idêntica ao ATP, mas com muito menos frequência.



Difosfato de adenosina (ADP)

Fosfato inorgânico (P<sub>i</sub>)

(Fonte: Motta, 2005).



### CONCLUSÃO

Os processos vitais requerem que as moléculas consumidas como nutrientes sejam decompostas para se sua extrair a energia e também para que sejam fornecidos os blocos de construção para a criação de novas moléculas. O processo de extração de energia ocorre em uma série de pequenas etapas, nas quais os doadores de elétrons transferem energia aos aceptores de elétrons. Essas reações de oxidação redução são fundamentais para a extração de energia de moléculas como a glicose. O principal transportador de elétrons é a nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH, forma reduzida e  $\text{NAD}^+$ , forma oxidada). O NADH é oxidado a  $\text{NAD}^+$  quando perde dois elétrons, e o  $\text{NAD}^+$  é reduzido a NADH quando aceita dois elétrons. Os dois elétrons de cada NADH e os dois prótons unem-se a um átomo de oxigênio para formar  $\text{H}_2\text{O}$  na oxidação completa da glicose. A energia gerada nessa reação é conservada pela transformação de ADP, molécula de baixa energia, em ATP molécula de alta energia. O sistema ADP-ATP é semelhante a uma conta corrente muito movimentada, na qual depósitos e saques encontram-se em um estado estacionário. A energia do ATP nunca é esgotada, apenas transferida nas incontáveis reações químicas que requerem energia dentro da célula.



### RESUMO

As células possuem a capacidade espetacular de sobreviverem de maneira independente desde que lhes sejam fornecidos os substratos básicos para as reações químicas intracelulares. Dispondo de alguns compostos carbonados (aminoácidos, carboidratos, lipídios), vitaminas, água e minerais, a célula pode operar o processo de síntese da maioria dos elementos necessários para seu funcionamento, sendo que em organismos complexos, grupos celulares específicos agrupam-se formando os órgãos com as mais diversas funções fisiológicas. Um grupo de substratos possui uma função primordial para estas funções que é a de fornecer a energia necessária para que essas reações ocorram. São os compostos energéticos (carboidratos, lipídios e proteínas) que são degradados convertendo a energia química que une seus átomos em energia térmica. Entretanto, esta liberação térmica não acontece de forma indiscriminada, pois haveria a incineração do meio celular se cada molécula energética liberasse todo seu potencial térmico para o meio. Neste momento entra em ação moléculas especializadas em captar esta energia térmica liberada e liberá-la mais facilmente em etapas posteriores, fazendo com que as moléculas energéticas transfiram a energia armazenada em suas ligações químicas, para uma única molécula, que passa a funcionar como uma moeda energética, essa molécula é denominada ATP.



## ATIVIDADES

1. O que você entende por metabolismo?
2. Qual a diferença entre anabolismo e catabolismo?
3. O que é a variação de energia livre?
4. Relacione a variação de energia livre às reações bioquímicas?
5. Quais são as coenzimas usadas no metabolismo e explique o processo de óxido redução das mesmas?
6. Como o ATP é produzido?
7. Como a reoxidação das coenzimas é usada para a síntese de ATP?



## COMENTÁRIO SOBRE AS ATIVIDADES

1. Certamente ao responder essa pergunta você deve ter pensado nas reações químicas que acontecem nos organismos. O Metabolismo é o conjunto de reações químicas que acontecem dentro das células dos organismos vivos, para que estes transformem energia, conservem sua identidade e se reproduzam. Você deve também lembrar que o metabolismo é dividido em dois grandes processos: anabolismo ou biossíntese e catabolismo. Com essa definição você deve ter chagado a conclusão que todas as formas de vida, desde as algas unicelulares até os mamíferos, dependem da realização simultânea de centenas de reações metabólicas, reguladas com absoluta precisão, desde o nascimento e a maturação até a morte.

2. Como você deve ter mencionado na pergunta anterior o metabolismo se divide em dois grandes grupos: anabolismo e catabolismo. Você deve compreender que se chama anabolismo, ou metabolismo construtivo, o conjunto das reações de síntese necessárias para o crescimento de novas células e a manutenção de todos os tecidos, enquanto que o catabolismo, ou metabolismo oxidativo é um processo contínuo, centrado na produção da energia necessária para a realização de todas as atividades físicas externas e internas. Além disso, deve-se mencionar que o catabolismo engloba também a manutenção da temperatura corporal e implica a quebra das moléculas químicas complexas em substâncias mais simples, que constituem os produtos excretados pelo corpo, através dos rins, do intestino, dos pulmões e da pele.

3. Ao responder essa pergunta você deve inicialmente ter definido variação de energia livre, que é a porção da variação de energia

livre do sistema, isto é diferença entre a energia do produto e reagentes, disponível para o trabalho. É importante também mencionar que as reações podem ter a variação de energia livre igual a zero ( $\Delta G = 0$ ), negativa ( $\Delta G^-$ ) ou positiva ( $\Delta G^+$ ).

4. Certamente você já entendeu o que é a energia livre, então precisa agora relacioná-la ao metabolismo que é a aula em questão. Pensando no metabolismo você deve ter em mente que o mesmo é dividido em catabolismo e anabolismo. Assim a relação é a seguinte: quando o  $\Delta G$  é negativo, a reação ocorre espontaneamente com perda de energia, isto é ela é exergônica, e quando o  $\Delta G$  é positivo a reação somente ocorre quando a energia livre for fornecida, isto é a reação é endergônica. Conclua sua questão mencionando que quando o  $\Delta G$  é igual a zero não ocorrerá nenhuma variação na energia livre e o sistema é dito em equilíbrio.

5. Para responder essa questão você deve inicialmente observar as figuras 3 e 4. As coenzimas são: Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo –  $\text{NAD}^+$ , Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato –  $\text{NADP}$ , Flavina Adenina Dinucleotídeo –  $\text{FAD}$ . Essas três coenzimas atuam de maneira idêntica, reduzindo-se no catabolismo e oxidando no anabolismo. A reação de oxirredução é apresentada abaixo:

Coenzima oxidada +  $2 e^- + 2 \text{H}^+ \rightleftharpoons$  coenzima reduzida

6. Se você respondeu essa questão partindo do princípio que a formação do ATP é um processo endergônico essa foi uma boa estratégia, pois se deve entender que essa reação envolve a formação de uma molécula que retirou calor do sistema reacional para poder ser sintetizada. É importante ressaltar que embora o ATP possa ser produzido em diferentes vias metabólicas e durante a reoxidação das coenzimas a síntese desse composto rico em energia ocorre a partir de uma molécula de adenosina difosfato (ADP) e um fosfato inorgânico ( $\text{P}_i = \text{HPO}_4^-$ ). É a energia química do ATP que será usada para promover os processos biológicos que consomem energia. Em resumo, para que a energia derivada da oxidação dos alimentos possa ser usada pelas células, ela deve estar sob a forma de ATP.

7. Neste ponto da atividade você já deve ser capaz de associar a produção de ATP a reoxidação das coenzimas  $\text{NADH}$ ,  $\text{NADPH}$  e  $\text{FADH}_2$ . A reoxidação das coenzimas é obtida pela transferência dos prótons e elétrons ( $\text{H}^+ e^-$ ) para o oxigênio molecular, que é então convertido em água, processo que será explorado no próximo capítulo.

Para completar sua resposta é importante ressaltar que a energia derivada dessa oxidação é utilizada para sintetizar um composto rico em energia, a adenosina trifosfato (ATP), a partir de uma molécula de adenosina difosfato (ADP) e um fosfato inorgânico ( $P_i = HPO_4$ ).

### PRÓXIMA AULA

Na próxima aula teremos a oportunidade de estudar como a glicose é degradada nos organismos vivos visando à produção de energia na forma de ATP. Então, até lá!



### REFERÊNCIAS

- BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Bioquímica**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2004.
- CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. **Bioquímica Ilustrada**. 2 ed. Editora Artes Médicas, 1997.
- CAMPBELL, M. K.; FARRELL, S.O. **Bioquímica**. v. 3. Tradução da 5 ed. São Paulo: Thompson, 2008.
- MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica Básica**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2007.
- MOTTA, V. T. **Bioquímica**. 1 ed. Caxias do Sul: EDUCS, 2005.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**. 3 ed. São Paulo: Sarvier, 2002.



## METABOLISMO OXIDATIVO DA GLICOSE

### META

Introduzir o metabolismo da glicose em aerobiose e anaerobiose, relacionando a esses processos a produção de energia.

### OBJETIVOS

Ao final desta aula, o aluno deverá:

- identificar os três estágios do metabolismo oxidativo da glicose;
- reconhecer as reações da via glicolítica;
- diferenciar o destino do piruvato em aerobiose e anaerobiose;
- definir fermentação;
- identificar as reações do ciclo de Krebs;
- definir via anfibólica;
- reconhecer o papel do ciclo de Krebs em reações de síntese;
- rescrever os complexos multienzimáticos que formam a cadeia transportadora de elétrons;
- relacionar a cadeia transportadora de elétrons à síntese de ATP; e
- descrever o saldo energético da oxidação de uma molécula de glicose.

### PRÉ-REQUISITOS

Para acompanhar esta aula você deverá estudar ou rever conceitos estudados nas aulas Enzimas 1 e 2 e a Química dos carboidratos e introdução ao Metabolismo.



(Fonte: blogs.onde.ir).

## INTRODUÇÃO

A glicose é o principal substrato oxidável para a maioria dos organismos. Sua utilização como fonte de energia pode ser considerada universal porque dos microrganismos até os seres humanos, quase todas as células são capazes de atender a suas demandas energéticas apenas a partir desse açúcar. A glicose é imprescindível para algumas células e tecidos, como hemácias e tecido nervoso, porque é o único substrato que esses tecidos conseguem oxidar para produzir energia. O metabolismo oxidativo da glicose ocorre em três estágios: via glicolítica, ciclo de Krebs e a cadeia transportadora de elétrons acoplada a fosforilação oxidativa. No primeiro estágio chamado via glicolítica ou glicólise a glicose é convertida em duas moléculas de piruvato. Essa última molécula tem dois destinos a depender da disponibilidade de oxigênio nas células. Em anaerobiose, ausência de oxigênio, o piruvato pode ser transformado em lactato ou etanol. Em aerobiose, presença de oxigênio, o piruvato é transformado em acetil-CoA que então segue para o segundo e terceiro estágio de degradação da glicose. No segundo estágio, chamado ciclo de Krebs, ciclo dos ácidos tricarboxílicos ou ciclo do ácido Cítrico a molécula de acetil-CoA é degradada produzindo dióxido de carbono e coenzimas reduzidas. No último estágio, terceiro, os elétrons provenientes da degradação da glicose nas duas etapas anteriores são transportados por uma série de moléculas até o oxigênio produzindo água e energia na forma de ATP.

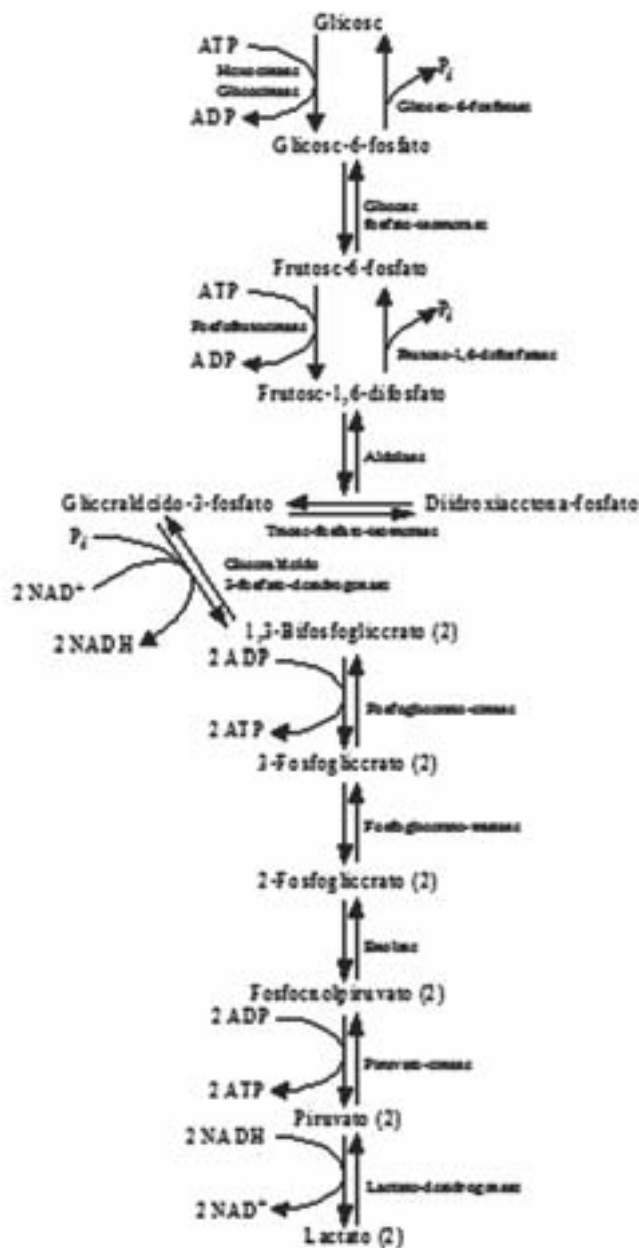


Hans Krebs (Fonte: <http://pt.wikipedia.org>).

## A GLICÓLISE

A Glicólise é uma via metabólica que produz de energia e intermediários metabólicos para ser utilizados em reações de biossíntese. A glicólise é uma via central quase universal do catabolismo da glicose. É a via através da qual, na maioria das células, ocorre o maior fluxo de carbono. Em certos tecidos e tipos celulares de mamíferos (eritrócitos, medula renal, cérebro e esperma, por exemplo), a glicose, através da glicólise, é a principal, ou mesmo a única, fonte de energia metabólica. Alguns tecidos vegetais que são modificados para o armazenamento de amido, como os tubérculos da batata e alguns vegetais adaptados para crescerem em áreas regularmente inundadas pela água (agrião, por exemplo) derivam a maior parte de sua energia da glicólise; muitos tipos de microrganismos anaeróbicos são inteiramente dependentes da glicólise.

A glicólise ocorre no citoplasma celular e nesse processo uma molécula de glicose (uma hexose) é degradada a duas moléculas de piruvato (ácido orgânico com três átomos de carbono) em uma série de 10 reações. Cada reação da glicólise é catalisada por uma enzima específica para tal reação. Os primeiros cinco passos enzimáticos formam a fase conhecida como Fase preparatória, nesta fase a glicose será fosforilada enzimaticamente pelo ATP, primeiro no carbono 6 e depois no carbono 1, obtendo-se assim a frutose 1,6-difosfato, a qual é quebrada ao meio, produzindo duas moléculas de gliceraldeído 3-fosfato (molécula com 3 átomos de carbono) produto da primeira fase da glicólise. Os cinco passos restantes (Segunda fase da glicólise) representam o pagamento do rendimento da glicólise, nela a energia liberada pela transformação de duas moléculas de gliceraldeído 3-fosfato em duas moléculas de piruvato é conservada através do acoplamento da fosforilação de quatro moléculas de ADP a ATP. Embora quatro moléculas de ATP sejam formadas na segunda fase da glicólise, o rendimento líquido final é de apenas duas moléculas de ATP por molécula de glicose degradada, uma vez que duas moléculas são gastas na fase preparatória.



(Fonte Motta, 2005).

Figura 1. Visão geral da via glicolítica.

## REAÇÕES DA FASE PREPARATÓRIA

Fosforilação da glicose: No primeiro passo da glicólise, a glicose é ativada para as reações subsequentes pela sua fosforilação no C-6 para liberar a glicose-6-fosfato; o doador de fosfato é o ATP e a enzima que catalisa essa reação é a hexoquinase.



Conversão da glicose 6-fosfato em frutose 6-fosfato. A enzima fosfohexose isomerase (fosfoglicose isomerase) catalisa a isomerização reversível de uma aldose, a glicose-6-fosfato, em uma cetose, a frutose-6-fosfato.

Fosforilação da frutose-6-fosfato em frutose-1,6-bifosfato. Na segunda das duas reações de ativação da glicólise, a fosfofrutoquinase-1 catalisa a transferência de um grupo fosfato do ATP para a frutose-6-fosfato para liberar a frutose-1,6-bifosfato.

Clivagem da frutose-1,6-bifosfato. A enzima frutose-1,6-bifosfato aldolase, em geral simplesmente chamada aldolase, catalisa a condensação reversível de grupos aldol. A frutose-1,6-bifosfato é quebrada para liberar duas trioses fosfato diferente, o gliceraldeído-3-fosfato, uma aldose, e a diidroxiacetona fosfato, uma Cetose.

A interconversão das trioses fosfato. Apenas uma das trioses fosfato formada pela aldolase – o gliceraldeído-3-fosfato – pode ser diretamente degradada nos passos subseqüentes da glicólise. Entretanto, o outro produto, a diidroxiacetona fosfato, é rápida e reversivelmente convertida em gliceraldeído-3-fosfato pela quinta enzima da seqüência glicolítica, a triose fosfato isomerase.

## REAÇÕES DA FASE DE PAGAMENTO

Oxidação do gliceraldeído-3-fosfato em 1,3-bifosfoglicerato. O primeiro passo da fase de pagamento da glicólise é a conversão do gliceraldeído-3-fosfato em 1,3-bifosfoglicerato, catalisado pelo gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase.

Transferência do fosfato do 1,3-bifosfoglicerato para o ADP. A enzima fosfogliceratoquinase transfere o grupo fosfato de alta energia do grupo carboxila do 1,3-bifosfoglicerato para o ADP, formando ATP e 3-fosfoglicerato.

Conversão do 3-fosfoglicerato em 2-fosfoglicerato. A enzima fosfoglicerato mutase catalisa a transferência reversível do grupo fosfato entre C-2 e C-3 do glicerato.

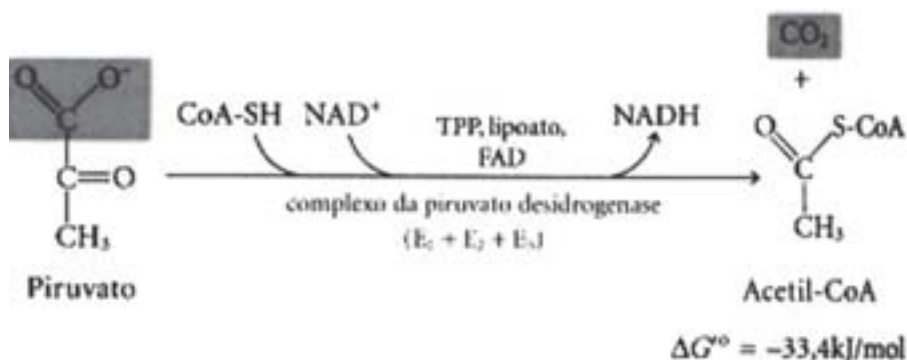
Desidratação do 2-fosfoglicerato para fosfoenolpiruvato. A segunda reação glicolítica que gera um composto com alto potencial de transferência de grupo fosfato é catalisada pela enolase. Esta enzima promove a remoção reversível de uma molécula de água do 2-fosfoglicerato para liberar fosfoenolpiruvato.

Transferência do grupo fosfato do fosfoenolpiruvato para o ADP. O último passo na glicólise é a transferência do grupo fosfato do fosfoenolpiruvato para o ADP, catalisada pela piruvato quinase.

Observação: Os números acima (1 a 10) correspondem à numeração das dez reações da via glicolítica.

## CONVERSÃO DO PIRUVATO A ACETIL-COA

Em condições aeróbias, o primeiro passo para a oxidação do piruvato é a sua conversão a acetil-CoA. Essa conversão ocorre no citoplasma e é uma descarboxilação oxidativa (perda de  $\text{CO}_2$  acompanhada de perda de elétrons) catalisada por um complexo enzimático denominado complexo piruvato desidrogenase. Esse complexo é formado por três enzimas diferentes – piruvato desidrogenase, diidrolipoil transacetilase e diidrolipoil desidrogenase – e por cinco coenzimas: tiamina pirofosfato (TPP), coenzima A (CoA), nicotinamida adenina dinucleotídeo ( $\text{NAD}^+$ ), flavina adenina dinucleotídeo (FAD) e ácido lipóico. O complexo final ativo é formado por várias unidades de cada enzima e das coenzimas.



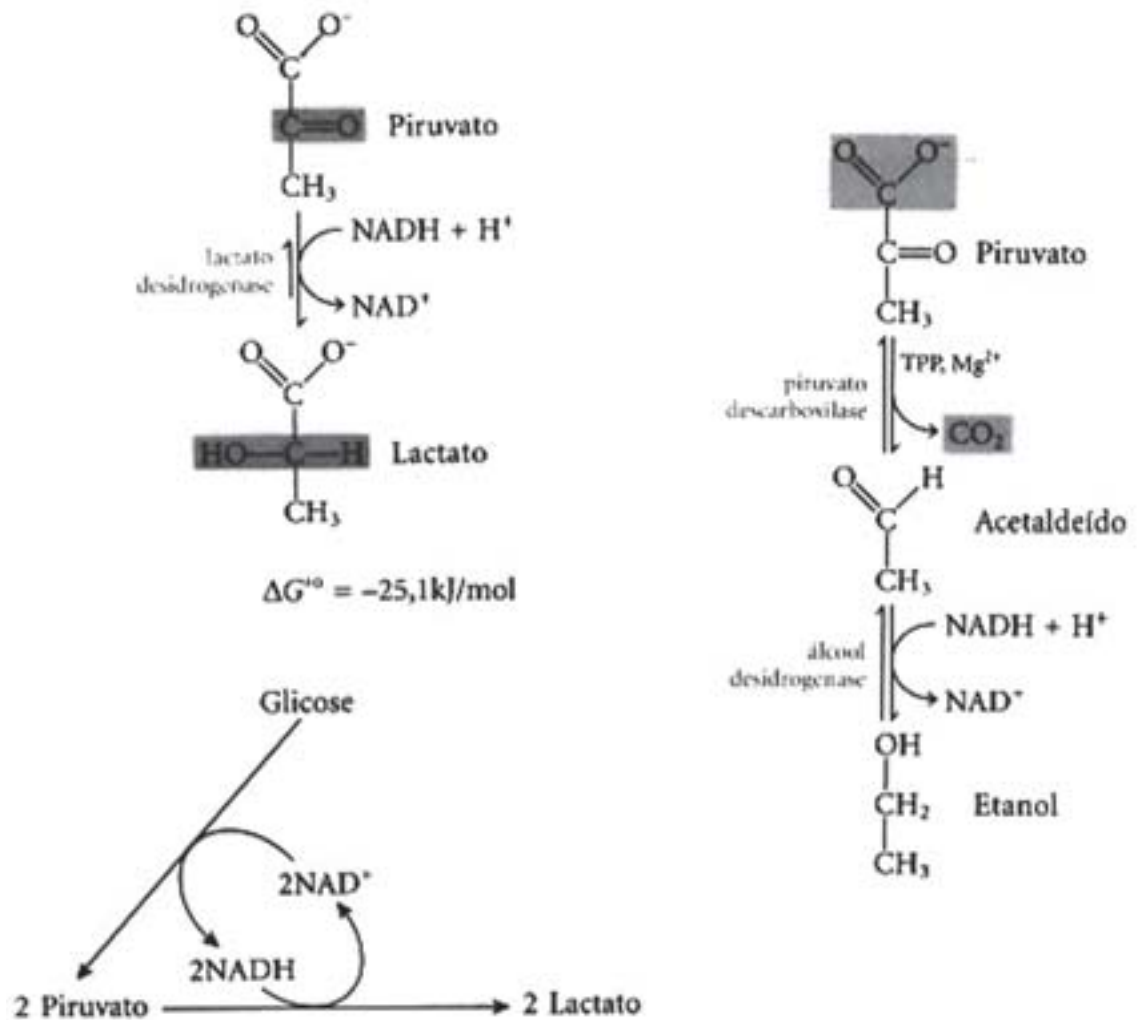
(Fonte: Nelson e Cox 2002).

Figura 13. Conversão do piruvato em acetil-CoA pelo complexo piruvato desidrogenase.

## A GLICÓLISE ANAERÓBIA: FERMENTAÇÕES

Em anaerobiose, o piruvato (ou outro composto derivado dele) produzido pela glicólise é transformado em lactato e ou etanol. O piruvato serve como aceptor de elétrons do NADH. Esse processo ocorre para que o NADH seja reoxidado produzindo  $\text{NAD}^+$  que então retorna para a via glicolítica assegurando prosseguimento da mesma. O piruvato é, portanto o composto a partir do qual as oxidações aeróbias e anaeróbias da glicólise divergem.

Transformação do piruvato em lactato e etanol durante a fermentação.



(Fonte: Nelson e Cox 2002).

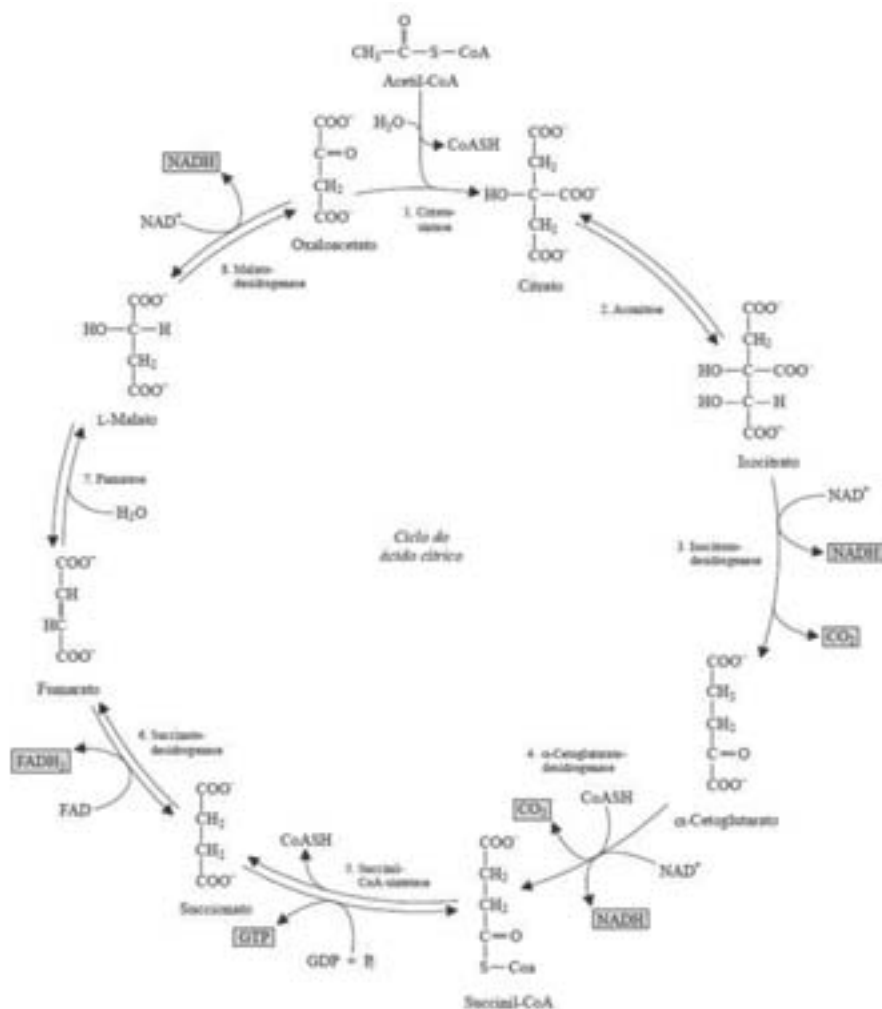
O rendimento energético final do metabolismo anaeróbio da glicose é:

- 1a. FASE: - 2 ATPs
- 2a. FASE: +4 ATPs (= saldo bruto: 2 por cada lactato e ou etanol formado)
- SALDO: + 2 ATPs (saldo líquido)

## O CICLO DE KREBS

O Ciclo de Krebs (assim denominado em homenagem ao bioquímico alemão Hans Krebs que estabeleceu, em 1937, as seqüências de reações a partir de estudos preliminares), também chamado Ciclo do Ácido Tricarboxílico ou Ciclo do Ácido Cítrico, é a mais importante via metabólica celular. Ocorre sob a regência de enzimas mitocondriais (presentes na mitocôndria), em condições de aerobiose, após a descarboxilação oxidativa do piruvato (produzido a glicólise) a acetil-CoA. Como o próprio nome explica o Ciclo de Krebs é uma via cíclica que se inicia com a união de uma molécula de acetil-CoA com oxaloacetato e ao final de oito reações o oxaloacetato é regenerado.

Esta fase aeróbica do catabolismo é chamada de respiração celular.



(Fonte: Motta, 2005).

Figura 4. O Ciclo de Krebs.

**REAÇÕES DO CICLO DE KREBS**

1. **INÍCIO:** condensação da acetil-CoA com o oxalacetato, gerando citrato: esta reação é catalisada pela enzima citrato-sintase e gera um composto de seis carbonos, uma vez que o oxalacetato possui 4C e a acetil-CoA possui 2C que correspondem aos dois últimos carbonos da glicose que ainda estão unidos depois da oxidação do piruvato.
2. **Isomerização do citrato em isocitrato:** esta reação é catalisada pela enzima aconitase. Há a formação de cis-aconitato como um intermediário ligado à enzima.
3. **Oxidação do citrato a  $\alpha$ -cetoglutarato:** catalisada pela enzima isocitratodesidrogenase, utiliza o NADH como transportador de 2 hidrogênios liberados na reação, havendo o desprendimento de uma molécula de CO<sub>2</sub>, a primeira da acetil-CoA.
4. **Descarboxilação oxidativa do  $\alpha$ -cetoglutarato a succinil-CoA:** é catalisada pelo complexo enzimático  $\alpha$ -cetoglutarato-desidrogenase e utiliza o NADH como transportador de 2 hidrogênios liberados na reação, havendo o desprendimento de mais uma molécula de CO<sub>2</sub> que corresponde ao último carbono remanescente da acetil-CoA, com as reações seguintes reorganizando o estado energético dos compostos com a finalidade de regenerar o oxalacetato, molécula iniciadora do ciclo, permitindo o prosseguimento do metabolismo da acetil-CoA
5. **Desacilação do succinil-CoA até succinato:** a enzima succinil-CoA sintase catalisa esta reação de alto poder energético, gerando um GTP (guanossina-tri-fosfato) que é convertido em ATP (o único produzido no nível dos substrato do Ciclo de Krebs).
6. **Oxidação do succinato a fumarato:** catalisada pela enzima succinato-desidrogenase, utiliza o FADH<sub>2</sub> como transportador de 2 hidrogênios liberados na reação.
7. **Hidratação do fumarato a malato:** catalisada pela enzima fumarase (ou fumaratohidratase) corresponde a uma desidratação com posterior hidratação, gerando um isômero.
8. **TÉRMINO:** desidrogenação do malato com a regeneração do oxalacetato: catalisada pela enzima malato-desidrogenase, utiliza o NADH com o transportador de 2 hidrogênios liberados na reação. Na verdade, o Ciclo de Krebs não termina, verdadeiramente, com esta reação, pois outra molécula de acetil-CoA condensa-se com o oxalacetato, reiniciando um novo ciclo.

**EQUAÇÃO GERAL DO CICLO DE KREBS**

Embora produza apenas 1 ATP (na reação 5 em que o GTP formado é convertido em ATP), o Ciclo de Krebs contribui para a formação de

grande parte do ATP produzido pela célula, pois a energia da oxidação do Acetil-CoA é conservada sob forma das coenzimas reduzidas, NADH e FADH<sub>2</sub>, produzidas no Ciclo de Kerbs e que posteriormente são usadas para síntese de ATP como será discutido no item 7 desse capítulo.

### **FUNÇÃO ANABÓLICA DO CICLO DE KREBS**

O Ciclo de Krebs é uma via metabólica denominada anfibólica. Uma via anfibólica é aquela que possui função no catabolismo e anabolismo. Os compostos intermediários (aqueles formados nas reações) do Ciclo de Krebs podem ser utilizados como precursores de outras moléculas nas vias biossintéticas. Como exemplos podemos citar o oxaloacetato e o á-cetoglutarato que formam o aspartato e glutamato, respectivamente e o succinil-CoA que irá formar o grupo heme encontrado em algumas proteínas.

### **A CADEIA RESPIRATÓRIA OU CADEIA TRANSPORTADORA DE ELÉTRONS (CTE)**

A cadeia respiratória é formada por complexos multienzimáticos e seus grupos prostéticos na membrana interna mitocondrial. A cadeia Temos quatro principais complexos multienzimáticos na cadeia: NADH desidrogenase, succinato-ubiquinona, citocromo C redutase e citocromo oxidase.

A importância da Cadeia Respiratória é a reoxidação das coenzimas reduzidas produzidas nas vias metabólicas, entre elas a Via glicolítica e o Ciclo de Krebs. Durante esse processo, haverá a formação da ATP. O acceptor final dos átomos de hidrogênio (presentes nas coenzimas reduzidas) na cadeia respiratória é sempre o oxigênio o que resulta na formação de água metabólica para cada transporte de dois pares de hidrogênio.

### **OS COMPLEXOS DA CADEIA RESPIRATÓRIA**

Complexo I - NADH-desidrogenase - Quando o NAD<sup>+</sup> se reduz, formando NADH, nas reações de desidrogenação nas quais participa como co-fator enzimático dentro da matriz mitocondrial, há a passagem imediata dos elétrons, que retirou do substrato, para o complexo protéico denominado Complexo da NADH-desidrogenase ou Complexo I, que é composto por mais de 25 flavoproteínas fixas na matriz mitocondrial que comunicam a matriz com o espaço intermembrana. Este complexo possui um NAD<sup>+</sup> e sete sítios contendo ferro e enxofre que funcionam como

receptores de elétrons, reduzindo-se e oxidando-se quando há o fluxo de elétrons. O receptor final de elétrons, deste complexo, é a ubiquinona que converte-se em ubiquinol quando recebe os elétrons (se reduz). Quando os elétrons atravessam o complexo I e são transferidos até a ubiquinona, há a um fluxo de um próton que atravessa a matriz em direção ao espaço intermembrana.

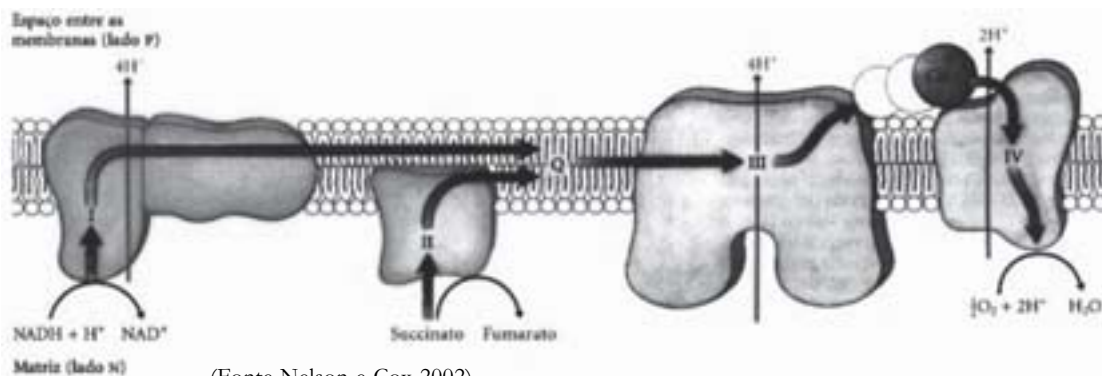
O complexo II ou Complexo Succinato-ubiquinona - O complexo II ou Complexo Succinato-ubiquinona, é uma única enzima fixa na crista mitocondrial mas que não comunica a matriz com o espaço intermembrana. Esta enzima é a succinato-desidrogenase que participada sexta reação do Ciclo de Krebs. Este complexo é formado um FAD<sup>+</sup> ligado a centros Ferro-enxofre. Ela transfere os elétrons provenientes do FADH<sub>2</sub> para a o complexo III, mas de maneira diferente como os elétrons do NADH são transportados para o complexo III. Em virtude de não ser uma proteína transmembrana, não gera o fluxo de prótons que o complexo I gera, fornecendo um sítio de fluxo de prótons a menos que os elétrons transportados pelo NADH.

Complexo III – Complexo Citocromo c redutase - Os elétrons do ubiquinol são transportados para o complexo III, denominado, também de Complexo dos Citocromos bc<sub>1</sub> ou Ubiquinona–citocromo c oxidorreductase. A ubiquinona desloca-se do complexo I em direção ao complexo III, correspondendo a um transportador móvel. Este complexo contém vários tipos de citocromos ligados a uma proteína ferro-enxofre e cerca de outras seis proteínas. Todo este complexo III está fixado na crista mitocondrial e é transmembrana, conectando a matriz e o espaço intermembrana (com exceção do citocromo c que conecta-se apenas com o espaço intermembrana). O receptor final de elétrons deste complexo é o citocromo c que se reduz e transfere os elétrons para o complexo IV, denominado de Citocromo oxidase. Nesta transferência, gera-se um fluxo de um próton da matriz para o espaço transmembrana (o segundo fluxo de prótons).

Complexo IV - Complexo Citocromo c oxidase - O citocromo c, do complexo III, é um transportador móvel que leva os elétrons para o complexo IV. O complexo IV contém os citocromos a e a<sub>3</sub> que possuem um grupo heme (com um átomo de ferro) e estão ligados a uma proteína transmembrana que conecta a matriz com o espaço intermembrana e possui dois átomos de cobre que possibilita o transporte de elétrons para o receptor final, o oxigênio (O<sub>2</sub>). Quando os elétrons atravessam este complexo IV, gera-se um terceiro fluxo próton da matriz para o espaço intermembrana, com os elétrons sendo transferidos para o oxigênio, que se reduz formando água. Os dois prótons necessários para formar a água são retirados da matriz mitocondrial, ficando a água na mitocôndria podendo atravessar para o citoplasma. Observe que um único par de elétrons transportado sequencialmente pelos complexos I, III e IV, geram o fluxo de



três prótons para o espaço intermembrana, com a formação de uma molécula de água.



(Fonte Nelson e Cox 2002).

Inserir Figura 5 do arquivo “Figuras do capítulo 13”.

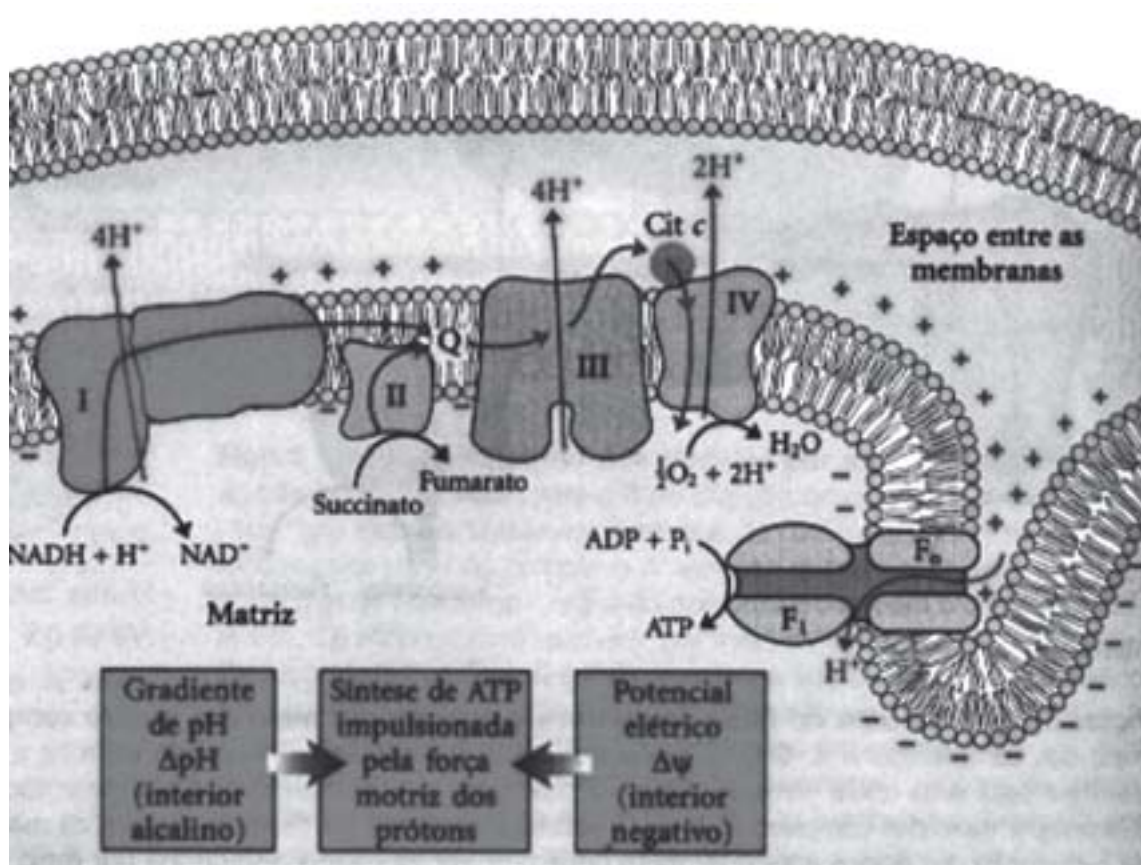
Figura 5. Representação esquemática dos complexos I,II, III e IV e a relação dos prótons lançados para fora da mitocôndria e os pares de elétrons transportados.

## A SÍNTESE DE ATP POR FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA

O fluxo de prótons gerado pela passagem dos elétrons pelos complexos I, III e IV (conhecidos, por isso, como bomba de prótons), fornece energia suficiente para a síntese de três ATPs, o que corresponde a uma relação de uma molécula de ATP para cada próton bombeado ou 3 moléculas de ATP para cada par de elétrons que passe pelos três complexos. Diferente do descrito acima fluxo de prótons gerado pela passagem dos elétrons pelos complexos II, III e IV, fornece energia suficiente para a síntese de dois ATPs. As células possuem uma eficiente forma de transformar a energia do NADH e  $\text{FADH}_2$  em ATP que é a formação desse gradiente de prótons que tem dois componentes: elétrico e químico. Cria-se uma diferença de concentração muito grande de prótons entre o espaço e a matriz, a energia armazenada nesse gradiente vai ser utilizada para síntese de ATP através de uma proteína especial presente nessa membrana interna que é a próton ATPase. O que ela faz? Composta por duas porções, a primeira porção é transmembranar chamada de FO (zero) e a segunda globular de F1. FO compõe um canal de prótons e F1 é uma região catalítica que promove a conversão de ADP em ATP. A passagem de prótons pelo canal de próton ATPase é que fornece energia para a formação e liberação de ATP dentro da matriz. A síntese de ATP acima descrita é dependente do fluxo de prótons e elétrons que ocorre durante a reoxidação do NADH e  $\text{FADH}_2$  na cadeia transportadora de elétrons, dessa maneira é chamada síntese de ATP por fosforilação oxidativa. Grande



parte dessa energia produzida na mitocôndria deve ser enviada para o citoplasma, para ser usada em funções que requerem energia tais como locomoção e biossíntese de macromoléculas.



(Fonte Nelson e Cox 2002).

Figura 6. Formação de ATP pela ATP sintase acoplada a cadeia transportadora de elétrons.

## SALDO ENERGÉTICO DA OXIDAÇÃO COMPLETA DA GLICOSE

A completa oxidação da glicose em condições aeróbicas gera 38 ATPs (tabela 1), uma quantidade bem maior do que aquela gerada em anaerobiose onde o piruvato é transformado em lactato ou etanol e a produção de energia é somente 2 ATPs.

Tabela 1 – Produção de energia durante a oxidação da glicose

Reação oxidação da glicose	Etapa oxidação	Energia produzida ou gasta	Saldo energético reação
Glicose $\Rightarrow$ glicose-6-fosfato	Via Glicolítica	-1 ATP	-1 ATP
Frutose-6-fosfato $\Rightarrow$ frutose-1,6-bifosfato	Via Glicolítica	-1 ATP	-1 ATP
2 Gliceraldeído-3-fosfato $\Rightarrow$ 2 1,3-bifosfoglicerato	Via Glicolítica	2 NADH	6 ATP
2 1,3-Bifosfoglicerato $\Rightarrow$ 2 3-fosfoglicerato	Via Glicolítica	2 ATP	2 ATP
2 Fosfoenolpiruvato $\Rightarrow$ 2 piruvato	Via Glicolítica	2 ATP	2 ATP
2 Piruvato $\Rightarrow$ 2 acetil-CoA	Produção acetil-CoA	2 NADH	6 ATP
2 Isocitrato $\Rightarrow$ 2 $\alpha$ -cetogluturato	Ciclo de Krebs	2 NADH	6 ATP
2 $\alpha$ -cetogluturato $\Rightarrow$ 2 succinil-CoA	Ciclo de Krebs	2 NADH	6 ATP
2 Succinil-CoA $\Rightarrow$ 2 succinato	Ciclo de Krebs	2 ATP	2 ATP
2 Succinato $\Rightarrow$ 2 fumarato	Ciclo de Krebs	2 FADH <sub>2</sub>	4 ATP
2 Malato $\Rightarrow$ 2 oxaloacetato	Ciclo de Krebs	2 NADH	6 ATP
<b>TOTAL</b>			<b>38 ATP*</b>

\* Este número é calculado considerando 3 ATP por NADH e 2 ATP por FADH<sub>2</sub>. Um valor negativo indica consumo.

## REGULAÇÃO DA OXIDAÇÃO DA GLICOSE

O fluxo de glicose através da via glicolítica é regulado para manter constante a concentração de ATP. Para este fim, os necessários ajustes na velocidade da glicólise são conseguidos pela regulação de duas enzimas desta via: a fosfofrutoquinase-1 e a piruvato quinase. Estas duas enzimas são reguladas alostericamente, segundo a segundo, pelas flutuações na concentração de certos metabólitos-chave que refletem o equilíbrio celular entre a produção e o consumo de ATP. Algumas enzimas do Ciclo de Krebs também são reguladas com o mesmo objetivo da regulação da via glicolítica que é manter constante a concentração de ATP. No ciclo, três enzimas são alostéricas: citrato sintase, isocitrato desidrogenase e  $\alpha$ -cetogluturato desidrogenase. Essas enzimas também possuem o ATP como regulador alostérico.

## CONCLUSÃO

Neste capítulo foi discutida a completa oxidação da glicose. Esse carboidrato é a fonte universal de energia para os organismos vivos e é degradada por oxidação os em três etapas. A via glicolítica é a primeira etapa e ocorre através de dez reações catalisadas por 10 enzimas diferentes que produzem duas moléculas de piruvato para cada molécula de gli-

cose oxidada. O piruvato possui dois destinos diferentes em anaerobiose e aerobiose. Em aerobiose o piruvato é transformado em acetil-CoA e totalmente oxidado produzindo  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$  e 38 moléculas de ATP. Em anaerobiose o piruvato é transformado em lactato ou etanol e a produção de ATP são somente duas moléculas por molécula de glicose. Assim a produção de energia em aerobiose é muito maior do que em anaerobiose. As vias de degradação oxidativa da glicose possuem enzimas reguladas alostéricamente. Algumas enzimas da via glicolítica e ciclo de Krebs são reguladas por ATP para manter a produção dessa molécula em quantidades ideais para o metabolismo do organismo.

### RESUMO

A glicólise é uma via metabólica universal para o catabolismo da glicose que produz após uma longa série de reações duas moléculas de piruvato, ATP e NADH. O processo é catalisado por 10 enzimas. Na fase preparatória da glicólise o ATP é investido para converter glicose no intermediário frutose-1,6-bifosfato, então a ligação carbono-carbono entre C-3 e C-4 é quebrada para formar duas moléculas de triose fosfato. Na fase de “pagamento” da glicólise, cada uma das duas moléculas de gliceraldeído-3-fosfato formada da glicose sofre oxidação em C-1; a energia desta reação de oxidação é conservada na redução do NADH e formação de uma ligação acil-fosfato no 1,3-bifosfoglicerato. Este composto tem um alto potencial de transferência de grupo fosfato e, em uma fosforilação ao nível do substrato pela fosfogliceratoquinase, o seu grupo fosfato é transferido para o ADP, formando ATP e 3-fosfoglicerato. O rearranjo dos átomos no 3-fosfoglicerato com a perda de  $\text{H}_2\text{O}$  dá origem ao fosfoenolpiruvato, outro composto com alto potencial de transferência do grupo fosfato. O fosfoenolpiruvato doa um grupo fosfato para o ADP para formar ATP na segunda fosforilação ao nível do substrato; o outro produto desta reação é o piruvato, o produto final da fase de pagamento da glicólise. O piruvato tem dois destinos diferentes a depender da disponibilidade ou não de oxigênio nos organismos. Em aerobiose é transformado em acetil-CoA e em anaerobiose em lactato e ou etanol. Esse último processo é chamado fermentação. Em aerobiose o piruvato é transformado em acetil-CoA por um complexo multienzimático denominado piruvato desidrogenase. Na segunda etapa da oxidação da glicose o acetil-CoA será totalmente oxidado a  $\text{CO}_2$ , com concomitante produção de NADH e  $\text{FADH}_2$ , no Ciclo de Krebs. Essa via metabólica é cíclica já que se inicia com a condensação de oxaloacetato com acetil-CoA e no fim das oito reações catalisadas por oito diferentes enzimas o oxaloacetato é regenerado. Paralelamente a oxidação do acetil-CoA em  $\text{CO}_2$  o ciclo de Krebs



produz moléculas (intermediários das reações) que são utilizados como precursores para biossíntese. Na terceira etapa de oxidação da glicose os 4 pares de hidrogênios (e seus elétrons) liberados no ciclo de Krebs (nas coenzimas NAD e FAD) são imediatamente transportados para a cadeia respiratória que é um processo gerador de ATPs onde o  $O_2$  serve de aceptor final dos hidrogênios (e elétrons) gerando uma molécula de  $H_2O$  por cada par de elétrons que são transportados pelo NADH e  $FADH_2$ , gerados não só do ciclo de Krebs, mas de qualquer outra reação metabólica celular. A síntese de ATP resultante do transporte de elétrons, ocorre em virtude da energia livre liberada durante o fluxo de prótons que ocorre entre os complexos transportadores de elétrons e prótons que comunicam a matriz mitocondrial e o espaço intermembrana.



### ATIVIDADES

1. Cite os três estágios de degradação aeróbica da glicose.
2. Qual é a via geral na glicólise?
3. Como o piruvato é metabolizado anaerobicamente?
4. Como o piruvato é transformado em acetil-CoA?
5. Qual é a via geral do ciclo de Krebs?
6. Qual é a função do ciclo de Krebs na biossíntese (anabolismo)?
7. Qual a estrutura da cadeia respiratória ou cadeia transportadora de elétrons?
8. Qual a função do transporte de elétrons no metabolismo?

### COMENTÁRIO SOBRE AS ATIVIDADES

1. Para responder essa questão você deve primeiro discutir que a degradação da glicose é um processo catabólico oxidativo que pode ocorrer em presença do oxigênio ou não. Na degradação aeróbia são três passos (ou três estágios) para que ocorra a completa degradação/oxidação da glicose. Após esse entendimento você deve citar que esses estágios são três vias metabólicas: via glicolítica, ciclo de Krebs e a cadeia transportadora de elétrons.

2. Certamente para responder essa questão você voltou à figura 1 deste capítulo. Nessa figura você observou que na glicólise uma molécula de glicose gera, após uma longa série de reações, duas moléculas de piruvato. Essas reações são 10 e são divididas em duas fases, preparatória e de pagamento. Durante esse percurso, há um ganho de duas moléculas de ATP e de NADH.

3. Se você respondeu essa questão partindo da constatação de que existem vários destinos metabólicos são possíveis para o piruvato, certamente respondeu que no metabolismo anaeróbico há dois destinos possíveis para essa molécula. Em organismos capazes de realizar a fermentação alcoólica, o piruvato produz etanol. Em outros organismos o piruvato é transformado em lactato.

4. Inicialmente você deve considerar que o piruvato é a molécula formada a partir da degradação da glicose. Considerando esse fato responda que o piruvato produzido pela glicólise é transformado por descarboxilação oxidativa em acetil-CoA por um complexo denominado piruvato desidrogenase que é formado por várias cópias de três enzimas – piruvato desidrogenase, dihidrolipoil transacetilase e dihidrolipoil desidrogenase – e por cinco coenzimas: tiamina pirofosfato (TPP), coenzima A (CoA), nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD<sup>+</sup>), flavina adenina dinucleotídeo (FAD) e ácido lipóico.

5. Se você antes de responder essa questão voltou a figura 4 desse capítulo, certamente você iniciou sua resposta com a constatação de que o acetil-CoA entra no ciclo de Krebs reagindo com o oxaloacetato para produzir citrato. No entanto, também é necessário apontar que as reações do ciclo de Krebs incluem duas descarboxilações oxidativas que transformam o citrato, composto de seis carbonos, em succinato, composto de quatro carbonos. O ciclo completa-se com a regeneração do oxaloacetato a partir do succinato em um processo de múltiplas etapas que inclui duas reações de oxidação.

6. Se você respondeu essa questão assumindo que o ciclo de Krebs é uma via anfibólica, isto é que participa tanto do catabolismo quanto do anabolismo, certamente você conclui que o papel anabólico do ciclo de Krebs é fornecer matéria prima para a biossíntese de várias biomoléculas importantes. Como exemplos de moléculas intermediárias que são usadas nas vias de biossíntese você pode ter citado: oxaloacetato e o  $\alpha$ -cetoglutarato que formam o aspartato e glutamato, respectivamente e o succinil-CoA que irá formar o grupo heme encontrado em algumas proteínas.

7. Para responder essa questão deve-se entender que a resposta correta envolve entendimento da estrutura da cadeia transportadora de elétrons. Considerando que se deve responder sobre a estrutura descreva os complexos multienzimáticos e seus grupos prostéticos

na membrana interna mitocondrial. A cadeia transportadora de elétrons é formada por quatro principais multienzimáticos: NADH desidrogenase, succinato-ubiquinona, citocromo C redutase e citocromo oxidase. Os grupos Prostéticos envolvem grupos heme e íons metálicos tais como cobre.

8. Para responder essa resposta você deve imaginar o metabolismo degradativo (oxidativo) na sua totalidade. Embora o transporte de elétrons ocorra somente no estágio final do metabolismo aeróbio quando os elétrons são transferidos do NADH e  $FADH_2$  ao oxigênio (acceptor final de elétrons) em uma série de reações de oxido redução conhecida como cadeia transportadora de elétrons, é importante lembrar que essas coenzimas foram produzidas nos dois estágios iniciais da degradação da glicose. Aponte também em sua resposta que essa série de eventos depende da presença de oxigênio. Essa etapa do metabolismo permite a reoxidação dos transportadores de elétrons reduzidos produzidos na glicólise, no ciclo de Krebs e em outras vias catabólicas não discutidas nesse capítulo, e é a principal fonte de ATPs produzidos no catabolismo.



### PRÓXIMA AULA

Com essa breve discussão do metabolismo de glicose se encerra o curso de bioquímica.

### REFERÊNCIAS

- BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Bioquímica**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2004.
- CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. **Bioquímica Ilustrada**. 2 ed. Editora Artes Médicas, 1997.
- CAMPBELL, M.K.; FARRELL, S. O. **Bioquímica**. v. 3. Tradução da 5 Edição, São Paulo, Thompson, 2008.
- MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. **Bioquímica Básica**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2007.
- MOTTA, V. T. **Bioquímica**. 1 ed. Caxias do Sul: EDUCS, 2005.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**. 3 ed. São Paulo: Sarvier, 2002.