

Bioquímica



UNIVERSIDADE FEDERAL
DE SANTA CATARINA

BIOLOGIA
licenciatura a distância

Bioquímica

Maria Risoleta Freire Marques



UNIVERSIDADE
ABERTA DO BRASIL

Ministério da
Educação

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PAÍS RICO E PAÍS SEM POBREZA

1ª edição e 2ª reimpressão.
Florianópolis, 2014.

Governo Federal

Presidenta da República Dilma Vana Rousseff
Ministro de Educação José Henrique Paim
Diretor de Educação a Distância/CAPES João Carlos Teatini

Universidade Federal de Santa Catarina

Reitora Roselane Neckel
Vice-Reitora Lúcia Helena Martins Pacheco
Núcleo UAB/UFSC Sônia Maria Silva Corrêa de Souza Cruz
Pró-Reitoria de Graduação Julian Borba
Pró-Reitoria de Pós-Graduação Joana Maria Pedro
Pró-Reitoria de Pesquisa Jamil Assereuy Filho
Pró-Reitoria de Extensão Edison da Rosa
Pró-Reitoria de Planejamento e Orçamento Antônio Cezar Bornia
Pró-Reitoria de Administração Antônio Carlos Montezuma Brito
Pró-Reitoria de Assuntos Estudantis Denise Cord
Secretaria de Aperfeiçoamento Institucional Airton Lisle Cerqueira Leite Seelaender
Secretaria de Cultura Zilma Gesser Nunes
Secretaria Especial de Gestão de Pessoas Elci Terezinha de Souza Junckes
Centro de Ciências da Educação Nestor Manoel Habkost
Centro de Ciências Biológicas Sonia Gonçalves Carobrez

Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas na Modalidade a Distância

Diretora Unidade de Ensino Sonia Gonçalves Carobrez
Coordenação de Curso Viviane Mara Woehl
Coordenação de Tutoria Leila da Graça Amaral
Coordenação Pedagógica LANTEC/CED
Coordenação de Ambiente Virtual Michel Kramer
Borges de Macedo

Comissão Editorial Viviane Mara Woehl, Alexandre Verzani Nogueira, Milton Muniz

Projeto Gráfico Material Impresso e Online

Coordenador Prof. Haenz Gutierrez Quintana
Equipe Henrique Eduardo Carneiro da Cunha, Juliana Chuan Lu, Laís Barbosa, Ricardo Goulart Tredezini Straioto

Equipe de Desenvolvimento de Materiais

Laboratório de Novas Tecnologias – LANTEC/CED
Coordenação Geral Marina Bazzo de Espíndola
Vice-Coordenação Carla Cristina Dutra Búrigo
Coordenação de Formação Carla Cristina Dutra Búrigo
Coordenação de Desenvolvimento de Materiais Impressos e Multimídias Marina Bazzo de Espíndola
Coordenação de Avaliação Zenilde Durlí

Supervisão de Design Gráfico Roberto Gava Colombo
Adaptação do Projeto Gráfico Laura Martins Rodrigues, Thiago Rocha Oliveira

Diagramação Cristiane Wartha, Robson Fernandes, Isadora Bernardo Cardoso

Ilustrações Laura Martins Rodrigues, Thiago Rocha Oliveira, Lissa Capeleto, Thiago Felipe Victorino, Robson Felipe P. dos Santos, Bruno Nucci, Karina Silveira, Ana Flávia Maestri, Lara Vanessa G. Soares, Lucas Filappi

Supervisão de Design Educacional Sila Marisa de Oliveira

Design Educacional Cristina Silva Sant'Anna

Revisão gramatical Gustavo Andrade Nunes Freire

Colaboração Carla Inês Tasca

Copyright © 2014 Universidade Federal de Santa Catarina. Biologia/EaD/UFSC
Nenhuma parte deste material poderá ser reproduzida, transmitida e gravada sem a prévia autorização, por escrito, da Universidade Federal de Santa Catarina.

M357b Marques, Maria Risoleta Freire
Bioquímica / Maria Risoleta Freire Marques. — 1. ed. revisada
— Florianópolis : BIOLOGIA/EAD/UFSC, 2014.
182 p.
ISBN 978-85-61485-07-8
1. Bioquímica. 2. Biomoléculas. 3. Metabolismo. I. Título.
CDU 577.1

Elaborado por Rodrigo de Sales, supervisionado pelo Setor Técnico da Biblioteca Universitária da Universidade Federal de Santa Catarina

Sumário

UNIDADE A - Introdução à Bioquímica	13
1 A Importância Biológica da Água	15
1.1 Introdução	17
1.2 Ponte de hidrogênio	18
1.3 Qual o significado de hidrofílico e hidrofóbico?	20
Resumo	22
Bibliografia	22
Bibliografia comentada.....	22
2 Os Átomos Presentes nas Biomoléculas	23
Resumo	27
Bibliografia	27
UNIDADE B - Biomoléculas.....	29
Biomoléculas: Aspectos gerais	31
3 Proteínas.....	33
3.1 Características gerais.....	35
3.2 Aminoácidos	38
3.3 Como os aminoácidos se ligam para formar as proteínas?.....	41
3.4 Níveis de organização estrutural em proteínas	44
3.4.1 <i>Estrutura primária</i>	44
3.4.2 <i>Estrutura secundária</i>	45
3.4.3 <i>Estrutura terciária</i>	48
3.4.4 <i>Estrutura quaternária</i>	49
3.5 Forças moleculares que atuam na manutenção da estrutura de proteínas	51
3.6 O que é desnaturação de proteínas?.....	53

3.7 A importância da estrutura primária	55
Resumo	56
Bibliografia.....	57
Bibliografia comentada.....	57
4 Lipídeos	59
4.1 Lipídeos: Propriedades gerais.....	61
4.2 Ácidos graxos.....	62
4.3 Principais classes de lipídeos.....	65
4.3.1 <i>Triacilgliceróis</i>	65
4.3.2 <i>Ceras</i>	68
4.3.3 <i>Fosfoacilgliceróis (ou Glicerofosfolipídeos)</i>	68
4.3.4 <i>Esfingolipídeos</i>	70
4.3.5 <i>Esteroides</i>	71
4.4 Lipídeos e prostaglandinas.....	72
4.5 Membranas biológicas	73
Resumo	78
Bibliografia	78
5 Carboidratos	79
5.1 Características estruturais dos carboidratos	81
5.2 Visão geral das funções biológicas dos carboidratos	82
5.3 Classificação dos carboidratos.....	83
5.3.1 <i>Monossacarídeos</i>	83
5.3.2 <i>Oligossacarídeos</i>	86
5.3.3 <i>Polissacarídeos</i>	91
5.3.4 <i>Amido</i>	92
5.3.5 <i>Glicogênio</i>	94
5.3.6 <i>Celulose</i>	94
5.3.7 <i>Quitina</i>	95
5.4 Derivados de carboidratos.....	96
5.5 Peptideoglicana	98
Resumo	99
Bibliografia.....	100
6 Ácidos Nucleicos – Estrutura e Função	101
6.1 O que são os ácidos nucleicos?.....	103
6.2 Unidades fundamentais dos ácidos nucleicos.....	104
6.3 Polimerização de nucleotídeos	109
6.4 Níveis estruturais dos ácidos nucleicos.....	110

6.4.1	<i>Estrutura primária</i>	110
6.4.2	<i>Estrutura secundária</i>	111
6.4.3	<i>Estrutura terciária</i>	118
6.5	Tipos de RNA	120
6.6	Outras funções dos nucleotídeos	121
6.7	Os ácidos nucleicos e o fluxo da informação genética	123
	Resumo	125
	Bibliografia comentada.....	126
7	Catálise	129
7.1	Breve histórico	132
7.2	Catálise enzimática.....	134
7.3	Nomenclatura e classificação das enzimas.....	138
7.4	Cinética enzimática	140
7.5	Enzimas alostéricas.....	144
7.6	Inibição da atividade enzimática	147
7.7	Regulação enzimática por modificação covalente	152
7.8	Enzimas na indústria	152
	Resumo	155
	Bibliografia.....	155
	Bibliografia comentada.....	156
8	Vias Metabólicas e Energia Celular	157
8.1	Metabolismo: vias catabólicas e vias anabólicas.....	160
8.1.1	<i>Catabolismo</i>	162
8.1.2	<i>Anabolismo</i>	165
8.1.3	<i>Via anfibólica</i>	166
8.2	O ATP transporta energia das reações catabólicas até as reações anabólicas.....	167
8.2.1	<i>Onde e quando o ATP é formado?</i>	168
8.2.2	<i>O NADPH transporta energia na forma de força redutora</i>	170
8.3	Energia a partir de carboidratos.....	171
8.4	Energia a partir de lipídeos.....	174
8.5	Energia a partir de proteínas.....	175
8.6	Alguns aspectos gerais sobre a integração das vias metabólicas e a obtenção de energia	177
	Resumo	180
	Bibliografia.....	182
	Bibliografia comentada.....	182

Apresentação

Bem-vindo à Bioquímica!

Provavelmente, a palavra bioquímica não lhe é de todo estranha.

Além disso, você, mesmo não tendo, possivelmente, se dado conta, tem contato frequente com a bioquímica no seu dia a dia.

Mesmo assim, não é muito fácil apresentar uma definição simples da bioquímica. Uma delas, a qual lhe pode soar bastante familiar, é que a bioquímica é a química da vida. Isso porque o estudo da bioquímica nos leva a investigar a base molecular da vida, procurando entender vários processos intracelulares e várias relações entre os organismos e o meio que os circunda.

Quais os átomos que formam as moléculas presentes nos organismos vivos? Quais as moléculas e os processos primordiais que foram fundamentais para a origem da vida? Quais as semelhanças e as diferenças moleculares entre as diversas formas de vida? Como os organismos armazenam e transferem a informação necessária para a sua reprodução? Como os alimentos são digeridos ou processados para fornecer a energia celular?

A pesquisa em bioquímica tem avançado em um ritmo bastante acelerado, particularmente a partir de meados do século XX. Consequentemente, os resultados decorrentes têm trazido muitos avanços no nosso conhecimento sobre as questões formuladas acima, bem como sobre outras que estão na fronteira do nosso conhecimento em biologia.

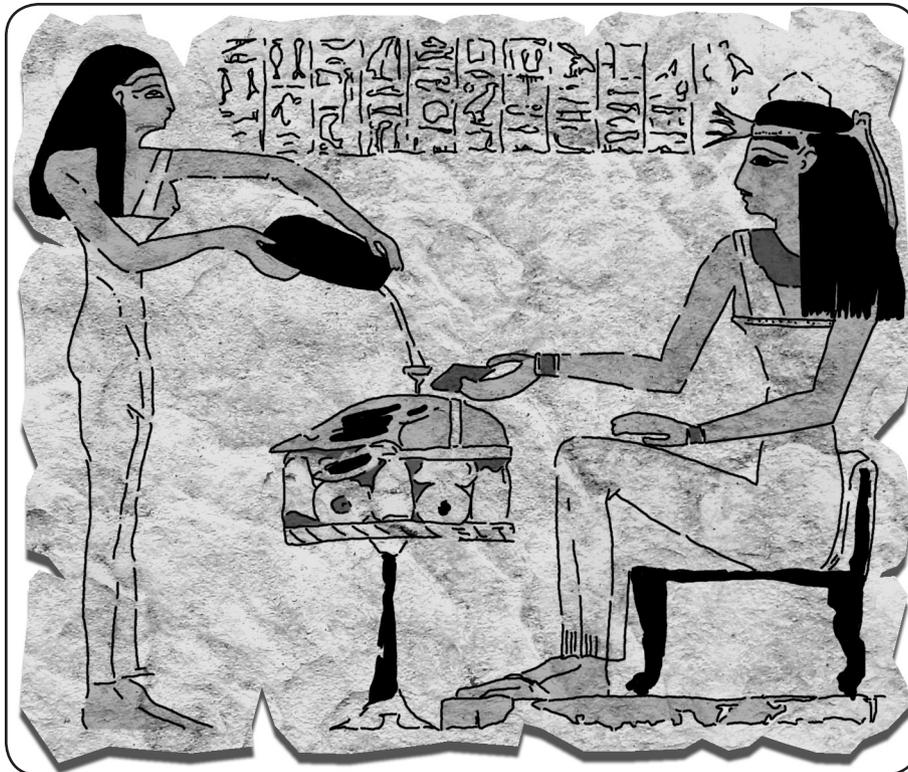
A bioquímica tem uma influência profunda na nossa saúde e nutrição, bem como nas nossas relações com o meio ambiente. Estudos bioquímicos permitiram entender a base molecular de várias doenças, como a diabetes, a anemia falciforme, a fenilcetonúria e a fibrose cística. Mais recentemente, outras doenças têm sido alvo de estudos bioquímicos intensos, tais como a AIDS, o câncer, a esquizofrenia e as doenças degenerativas, como a doença de Alzheimer, por exemplo.

A manipulação do DNA abriu novas perspectivas para o diagnóstico e o tratamento de muitas dessas doenças. O estudo da catálise biológica (realizada pelas enzimas) e do metabolismo fornece uma base importante e concreta para o desenho racional de novas drogas.

A biotecnologia é uma outra área multidisciplinar que tem se beneficiado cada vez mais dos avanços da bioquímica. Enzimas são utilizadas na indústria farmacêutica para sintetizar novas drogas, e o conhecimento de várias rotas do metabolismo de micro-organismos tem possibilitado a sua seleção para a produção de diferentes compostos, como o álcool combustível, além da aplicação na mineração e na biorremediação ambiental.

Mas não pense que a presença da bioquímica no nosso cotidiano é coisa recente. Pelo contrário!

As civilizações antigas, como o Egito e também a China, já faziam uso da bioquímica, mesmo não entendendo os princípios bioquímicos por trás da fabricação de pão ou de bebidas, como o vinho ou a cerveja.



A bioquímica já estava presente no antigo Egito. Pinturas registram a fabricação e o consumo de vinho e cerveja.

Assim, apesar desses registros da utilização das leveduras há milhares de anos, o processo pelo qual o amido e outros açúcares são quebrados ou metabolizados a etanol permaneceu um mistério durante muito tempo. Foi somente

Os egípcios apreciavam pão e cerveja, de acordo com os registros pictóricos e escritos da época. Mas, referências ao modo pelo qual esses itens eram produzidos são vagas, mesmo tendo sido possível obter algumas pistas nas tumbas dos faraós, nas quais os mesmos eram colocados para a vida após a morte. Em 1996, uma arqueóloga inglesa relatou ter encontrado resíduos de cerveja e migalhas secas preservadas nesse ambiente e os examinou utilizando microscopia eletrônica. A partir dessas análises e da comparação com o mesmo tipo de material obtido pelos atuais métodos de processamento, ela sugeriu, por exemplo, que o pão no Egito antigo era produzido a partir não só de farinha, como às vezes também a partir de malte e levedura. (Samuel, D. **Investigation of Ancient Egyptian Baking and Brewing Methods by Correlative Microscopy.** *Science* 26 (273): 488, 1996)

na metade do século XIX, que Louis Pasteur mostrou que esse processo, denominado fermentação, não ocorria se as células de levedura fossem mortas pelo calor. Dessa maneira, acreditou-se que a fermentação era um processo que só poderia ser realizado pelas células vivas íntegras. Posteriormente, em 1897, os irmãos Eduard e Hans Büchner usaram extratos de levedura para realizar esse processo com sucesso, mostrando que a fermentação podia ocorrer independentemente de células intactas. Muitos consideram isto um marco importante que deu início à bioquímica moderna. Mas é difícil estabelecer o ponto ou evento que possa definir esse momento de forma exata. Outros historiadores da ciência destacam um estudo anterior a esse, quando, em 1828, Friedrich Wohler sintetizou *in vitro* (sem ou independente de uma célula) a ureia, uma molécula orgânica encontrada comumente na célula.

Independentemente dessa discussão, esperamos que você se sinta bastante motivado e curioso para entender e olhar a biologia do ponto de vista molecular. Esperamos, ainda, que ao longo do seu estudo você descubra o quanto a bioquímica faz parte da sua vida!

Nesta segunda edição, diversas informações e conceitos complementares foram incorporados ao longo dos capítulos, principalmente na forma de quadros destaque e novas figuras, além de mais bibliografia indicada. Os temas sobre metabolismo básico e a produção de energia celular foram reformulados e ampliados, tendo sido incluído material complementar sobre a regulação metabólica.

Esperamos que esta segunda edição lhes traga muita motivação para mergulhar no “mundo bioquímico” e, conseqüentemente, entender como as biomoléculas e as estratégias metabólicas conectam todos os seres vivos entre si, como resultado fascinante da evolução molecular.

Boa leitura e bom estudo!

Maria Risoleta Freire Marques

Unidade A

Introdução à Bioquímica

A Importância Biológica da Água

Neste capítulo, estudaremos a organização da H_2O e a formação das pontes de hidrogênio, bem como as suas propriedades importantes para os organismos vivos. Esses conteúdos requerem que você retome os conhecimentos de química, especialmente os relacionados à ionização da água e a escala de pH.

1.1 Introdução

A água foi fundamental para o início da vida. E, hoje, três quartos da superfície do nosso planeta são cobertos por água. Além de a água ser abundante na Terra, na maior parte dos organismos vivos, ela perfaz aproximadamente 70% da massa. Em alguns organismos aquáticos, como na água viva, 95% da massa corporal é composta por água. No corpo humano, excluído o tecido ósseo, a água compõe aproximadamente 85% da massa corporal (Tabela 1.1).

Tabela 1.1 - Percentual de água por peso em alguns órgãos do corpo humano^a

Tecido ou órgão	Percentual de água por pessoa
Músculo esquelético	79 ^b
Coração	83 ^b
Fígado	71
Rim	81
Pulmão	79
Cérebro	77

^aem um indivíduo adulto
^bconsiderando o tecido sem gordura

Além de sua abundância, a importância da água pode ser também destacada em função de que praticamente todas as interações e as reações que ocorrem nas células têm lugar em um ambiente

aquoso. Assim, a água é o solvente biológico fundamental para a vida, de modo que, onde ela é escassa, os organismos apresentam formas elaboradas para retê-la.

Apesar de a água ser aparentemente uma molécula bastante simples, na verdade, quando comparada com outros líquidos, como alguns solventes orgânicos, descobrimos que se trata de uma molécula com propriedades extraordinárias.

Um dos parâmetros utilizados para a comparação entre solventes comuns é o ponto de ebulição. Enquanto o ponto de ebulição do etanol é igual a 78°C; do metanol é 65°C; da acetona, 56°C; o da água é igual a 100°C. Essa e muitas outras propriedades especiais da água têm sua origem no fato de que as moléculas de água tendem a formar interações entre si. Tais interações intermoleculares são denominadas **pontes de hidrogênio**. As pontes de hidrogênio dão à água uma série de propriedades importantes, que permeiam a base da vida como nós conhecemos.

1.2 Ponte de hidrogênio

A ocorrência das pontes de hidrogênio é consequência do comportamento da água como um dipolo (Figura 1.1), ou seja, é consequência da diferença de eletronegatividade entre os átomos de hidrogênio e oxigênio presentes na molécula (Tabela 1.2).

Tabela 1.2 – Eletronegatividade de alguns elementos químicos

Elemento	Eletronegatividade*
F	4.0
O	3.5
Cl	3.0
N	3.0
Br	2.8
S	2.5
C	2.5
I	2.5

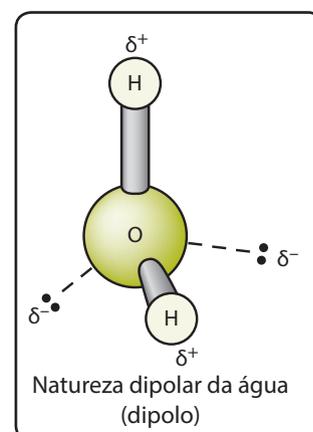


Figura 1.1 – Molécula de água.

Se	2.4
P	2.1
H	2.1
Cu	1.9
Fe	1.8
Co	1.8
Ni	1.8
Mo	1.8
Zn	1.6
Mn	1.5
Mg	1.2
Ca	1.0
Li	1.0
Na	0.9
K	0.8

*Quanto maior o número, maior a eletronegatividade (maior a afinidade por elétrons) do elemento químico.

As pontes de hidrogênio entre as moléculas de água são formadas porque o átomo de oxigênio na água tende a atrair mais os elétrons do que os átomos de hidrogênio. Conseqüentemente, os átomos de oxigênio tendem a ser levemente mais eletronegativos, enquanto os átomos de hidrogênio tendem a ser levemente positivos. Assim, dado que cargas opostas se atraem, os átomos de

hidrogênio de uma molécula de água tendem a ser atraídos pelos átomos de oxigênio de uma outra molécula de água, de modo a formar a chamada ponte de hidrogênio, uma ligação não covalente (Figura 1.2).

Apesar de uma única ponte de hidrogênio ser uma ligação fraca, o conjunto de milhares delas torna a água mais “coesiva” do que outros solventes ou mesmo moléculas aparentemente semelhantes, por exemplo, o H_2S , e é a base das propriedades e do comportamento da água (Figura 1.3).

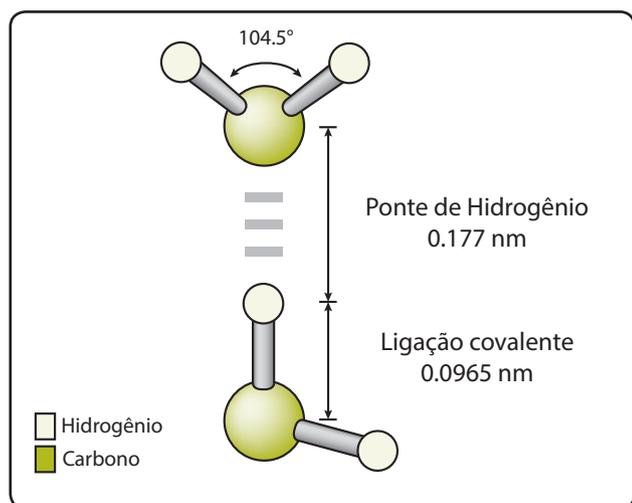


Figura 1.2 – Ponte de hidrogênio entre duas moléculas de água.

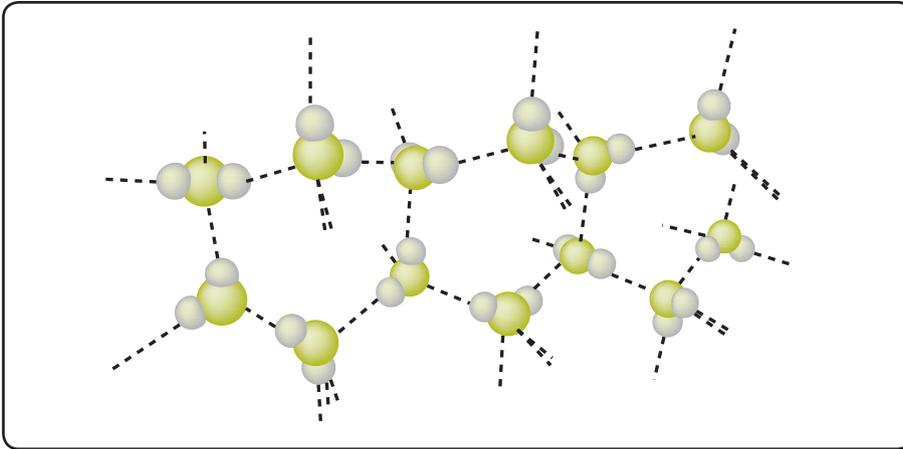


Figura 1.3 - Pontes de hidrogênio entre várias moléculas de água

1.3 Qual o significado de hidrofílico e hidrofóbico?

As pontes de hidrogênio são fracas e tendem, constantemente, a se desmancharem e se formarem novamente. Assim, a estrutura da água é complicada e, ao mesmo tempo, muito fluida. Quanto maior a temperatura, essa alternância ocorre com uma frequência maior. Uma consequência disso é que outras moléculas capazes de formar pontes de hidrogênio podem, por sua vez, interagir com a água, formando elas mesmas suas próprias pontes de hidrogênio com as moléculas de água. Isso é o que chamamos de dissolução na água, ou seja, existem moléculas que se dissolvem facilmente na água.

Por outro lado, observamos facilmente que muitas substâncias não se dissolvem na água. O exemplo clássico, que todos nós já observamos, é representado pelos óleos, moléculas que os bioquímicos chamam de **lipídeos**, assim como um vasto conjunto de moléculas orgânicas, tais como o benzeno e o tolueno, e os hidrocarbonetos, como o propano e o butano. Essas substâncias são incapazes de formar pontes de hidrogênio e, dessa forma, não se dispersam na água de forma espontânea.

Você já deve ter observado isso quando azeite de oliva é misturado com vinagre. Essa observação cotidiana simples é a base de uma classificação fundamental das moléculas, inclusive das biomoléculas importantes para os organismos vivos.

Assim, alguns compostos são chamados de hidrofílicos, ou polares, ou seja, são aqueles que têm afinidade pela água. Essa afinidade pode ser explicada pela sua capacidade de formar pontes de hidrogênio com a água. Alguns exemplos desses compostos de natureza polar são o etanol (álcool comum) e o cloreto de sódio (sal de cozinha), entre outros. Por outro lado, alguns compostos são chamados de hidrofóbicos ou apolares, ou seja, compostos que têm “medo” da água, por exemplo, o azeite e o benzeno.

Esse conceito geral é de fundamental importância quando falamos de biomoléculas. Principalmente porque devemos lembrar que essas biomoléculas no interior da célula estão em um meio aquoso. Na verdade, muitas vezes, no caso das biomoléculas, muitas delas podem apresentar uma região polar, ou hidrofílica, e outra apolar, ou hidrofóbica. Essas moléculas são denominadas **moléculas anfipáticas**. Isso faz com que as moléculas se orientem não só em relação à água, como também em relação umas às outras: as regiões hidrofílicas se atraem, enquanto o mesmo pode ser observado com as regiões hidrofóbicas (Figura 1.4).

Quando as moléculas se organizam em uma dada orientação, estruturas biológicas complexas e altamente organizadas podem ser formadas, como as membranas celulares. Além disso, esse fenômeno está na base do reconhecimento e da interação entre biomoléculas. Assim, podemos concluir que essas interações são fundamentais para os processos vitais.

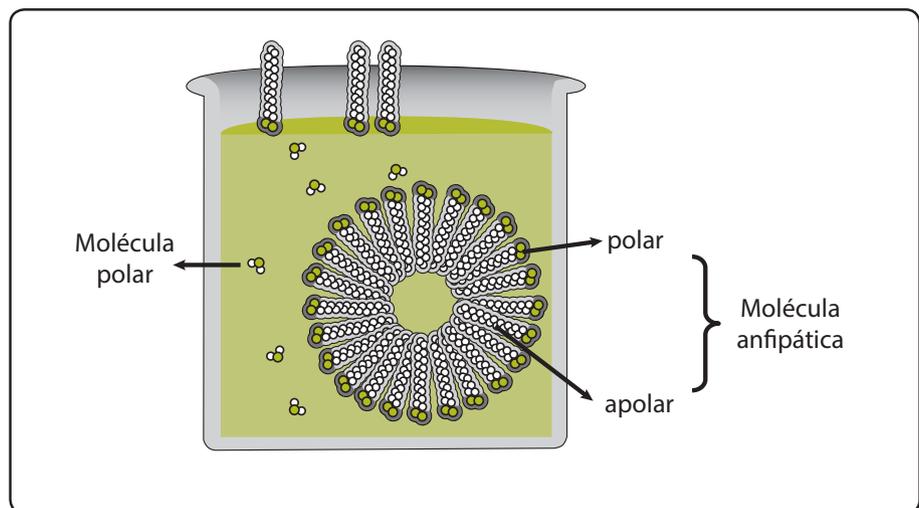


Figura 1.4 – Organização de moléculas anfipáticas em meio aquoso (polar).

Resumo

A água, uma molécula polar, tem, pelo menos, três papéis importantes na célula: é um solvente eficiente, participa de diversas reações e contribui para a estabilidade da temperatura. Como solvente, a água interage com biomoléculas iônicas e polares. Assim, as propriedades da água têm efeito direto no comportamento das biomoléculas.

Uma ponte de hidrogênio (ou ligação de hidrogênio) é um caso especial de interação dipolo-dipolo. Tanto no estado líquido, como no sólido, as moléculas de água são amplamente ligadas entre si por hidrogênio. As pontes de hidrogênio entre a água e solutos polares ocorrem em soluções aquosas. As pontes de hidrogênio também são importantes para estabilizar as estruturas tridimensionais de diversas biomoléculas, como os ácidos nucleicos.

Bibliografia

CAMPBELL, M. K.; FARRELL, S.O. **Bioquímica**: Bioquímica básica. 5. ed. São Paulo: Thomson Learning, 2007. v. 1.

THORTON, R. M. **The chemistry of life** [CD-ROM]. New York: Benjamin Cummings, 1999.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 5. ed. Porto Alegre: Sarvier/Artmed, 2011.

Bibliografia comentada

The chemistry of life

Esse CD-ROM oferece um material complementar bastante interessante sobre as propriedades da água e sua interação com as biomoléculas. O material inclui algumas animações e exercícios que facilitam a compreensão do tema e possibilitam a fixação de conceitos através de exercícios e questionários. Uma seção com as perguntas e dúvidas mais comuns sobre o assunto é particularmente interessante.

THORTON, R. M. **The chemistry of life** [CD-ROM]. New York: Benjamin Cummings, 1999.

Os Átomos Presentes nas Biomoléculas

Neste capítulo, estudaremos os átomos encontrados nas biomoléculas.

A vida na Terra é baseada no átomo de carbono. Devido à sua estrutura atômica única, o carbono pode se combinar com outros elementos, especialmente o hidrogênio, o oxigênio, o nitrogênio e o enxofre. Mas, também, pode se combinar com outro(s) átomo(s) de carbono. E essa segunda propriedade é a base da enorme gama de biomoléculas que são encontradas nos organismos vivos.

Uma grande parte da bioquímica envolve o estudo das biomoléculas: sua estrutura, suas propriedades e a relação destas com sua função biológica. Além disso, o estudo de como elas são formadas, como interagem umas com as outras e também com outras moléculas pequenas é um foco importante para o entendimento da lógica molecular da vida. O conceito de interação molecular é muito importante em bioquímica e permite entender as estruturas celulares e o reconhecimento entre moléculas, fundamentais para os processos vitais.

Existem cerca de cem elementos químicos presentes na crosta terrestre, mas apenas aproximadamente 31 (28%) deles ocorrem naturalmente em plantas e animais, ou seja, são essenciais à vida, e somente quatro deles, carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio, perfazem 95% da toda a matéria viva.

Certamente, a proporção desses elementos nos organismos não encontra paralelo na sua abundância na biosfera. O alumínio, por exemplo, é bastante numeroso, mas não tem relevância significativa na química da vida. Provavelmente, o fator mais importante é a habilidade do carbono de formar ligações com ele mesmo e com os átomos mencionados anteriormente (H, O, S e N). O carbono é o único com essa propriedade.

Quando analisamos a composição química dos organismos vivos, descobrimos que não somente eles são formados dos mesmos elementos, como ainda encontramos o fósforo e o enxofre, além de alguns elementos metálicos. Entre esses elementos metálicos, também denominados elementos-traço, podem ser destacados o ferro e o cobre, além do zinco, do magnésio, do manganês e do selênio etc. Outros elementos presentes nas células são o cálcio, o potássio, o sódio e o cloro.

De modo geral, os elementos encontrados nos organismos vivos podem ser divididos em três categorias:

1. Elementos essenciais para a vida: carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, fósforo e enxofre, que perfazem aproximadamente 92% do peso seco dos organismos;
2. Elementos necessários em quantidades-traço na maior parte dos organismos e, da mesma forma, essenciais para a vida, como cálcio, manganês, ferro e iodo;
3. Elementos-traço que estão presentes em alguns organismos e podem ser essenciais para a vida, como o molibdênio.

Além disso, descobrimos que os organismos vivos apresentam os mesmos tipos ou classes de biomoléculas.

Ao comparamos uma bactéria com uma célula vegetal e uma célula humana, descobrimos uma unidade comum, ou seja, todas são formadas por aproximadamente 70% de água e pelos mesmos tipos de biomoléculas.

É verdade que cada organismo possui um conjunto próprio de um dado tipo de biomolécula, mas o desenho molecular básico em todos os seres vivos é idêntico, ou seja, se nós entendermos a estrutura, as propriedades e de que maneira as biomoléculas (as proteínas, por exemplo) funcionam nas células, seremos capazes de entender os processos vitais em todos os organismos.

Resumo

A bioquímica é um campo multidisciplinar que investiga e estuda a natureza molecular de processos vitais. Há semelhanças bioquímicas fundamentais entre os organismos vivos, as quais fornecem subsídios para uma conexão comum com a origem da vida. Tanto a química orgânica como a bioquímica estudam moléculas que contêm carbono, bem como a relação entre elas. Além do carbono, as biomoléculas apresentam hidrogênio (H), oxigênio (O), além de nitrogênio (N), enxofre (S) e fósforo (P). Para ambas as disciplinas, o comportamento de grupos funcionais presentes nas moléculas é um ponto importante, mas a ênfase é distinta em cada uma delas, isso porque alguns grupos funcionais ou moléculas importantes para a química orgânica não têm a mesma relevância para a bioquímica e vice-versa.

Outros elementos são ainda importantes para os organismos vivos, sendo necessários em quantidades reduzidas (microelementos essenciais). Entre eles estão o ferro (Fe), o cobre (Cu), o zinco (Zn) e o vanádio (Vn), presentes na estrutura de biomoléculas, como as proteínas.

Bibliografia

CAMPBELL, M. K.; FARRELL, S.O. **Bioquímica**: Bioquímica básica. 5. ed. São Paulo: Thomson Learning, 2007. v. 1.

THORTON, R. M. **The chemistry of life** [CD-ROM]. New York: Benjamin Cummings, 1999.

Unidade B

Biomoléculas

Dalton
 Unidade de massa
 aproximadamente igual a um
 átomo de hidrogênio (igual
 a 1.0000 na escala de massa
 atômica). A denominação
 foi dada em honra a John
 Dalton (1766-1844), que
 desenvolveu a teoria atômica
 da matéria.

Biomoléculas: Aspectos gerais

Muitas das moléculas importantes presentes nas células são grandes, ou seja, macromoléculas. Mesmo as células mais simples contêm milhares de diferentes tipos de macromoléculas, cujas massas moleculares relativas variam de alguns milhares a alguns milhões de **daltons**.

Da mesma forma ocorre com vários materiais comuns utilizados no nosso cotidiano, como plásticos, as macromoléculas biológicas são polímeros, ou seja, moléculas grandes, complexas, formadas pela repetição de moléculas simples e pequenas, as quais são denominadas unidades fundamentais (também chamadas de blocos constitutivos). Assim, as macromoléculas podem ser vistas como polímeros biológicos.

As unidades fundamentais que se repetem milhares de vezes na formação das macromoléculas biológicas são ligadas entre si covalentemente, de uma forma sequencial ordenada. Essa ordem ou sequência é característica de um dado polímero e é fundamental para a sua função biológica.

As ligações covalentes entre as unidades fundamentais presentes nas macromoléculas são quase sempre formadas através de uma reação que leva à remoção de uma molécula de água. Esse tipo de reação é chamado de reação de condensação, que é acompanhada pela eliminação de uma molécula de água, ou seja, acompanhada de uma reação de desidratação. Dessa maneira, as unidades fundamentais agora ligadas covalentemente no polímero não estão mais

íntegras e, por isso, passam a ser denominadas de “resíduos”. O processo inverso, ou seja, a quebra da ligação covalente entre as unidades fundamentais de um polímero, pode ocorrer, sendo a reação, nesse caso, denominada hidrólise. Essa reação também é importante para os organismos vivos, pois é a base do processo da digestão.

As ligações entre as unidades fundamentais nas diferentes classes ou diferentes tipos de macromoléculas, apesar de serem igualmente formadas através de uma reação de condensação, são distintas, envolvendo diferentes grupos presentes nas unidades fundamentais em cada caso.

Outro aspecto que devemos salientar está relacionado ao fato de que, ao ser formado, um polímero (imagine um polímero linear), em função da estrutura das unidades fundamentais, apresenta “polaridade”. Isso significa que ao se examinar cada uma das extremidades do polímero resultante, observamos que elas são diferentes. Cada extremidade apresenta um grupo químico distinto.

Do ponto de vista biológico, isso pode ser entendido como a existência de uma “direção” ou um “sentido” no polímero. Veremos que essa direção determina, por exemplo, reconhecer o primeiro resíduo (o resíduo número um) da sequência do polímero. Esse reconhecimento é fundamental nos processos biológicos dentro da célula, como no fluxo de informação gênica.

Se, por um lado, a complexidade das macromoléculas é fundamental para a sua função biológica, por outro, ela dificulta o estudo da sua estrutura. Mas, recentemente, novas estratégias e metodologias da bioquímica moderna possibilitaram a determinação da estrutura de centenas dessas macromoléculas, fornecendo uma base sólida para o entendimento da sua função biológica, particularmente das proteínas.

Nesta unidade, nós vamos estudar os diversos tipos de macromoléculas encontrados nas células, sob a ótica dos princípios gerais apresentados anteriormente. Dessa forma, vamos buscar entender os princípios que regem a arquitetura das biomoléculas e a sua relação com as propriedades e funções biológicas.

Proteínas

Neste capítulo, estudaremos a estrutura e as principais propriedades de aminoácidos, relacionando os 20 aminoácidos primários como unidades fundamentais da formação de proteínas, bem como as suas propriedades e funções biológicas. Também estudaremos o nível de organização das proteínas, suas funções biológicas e a sua relação com a estrutura tridimensional das mesmas.

3.1 Características gerais

As proteínas são macromoléculas extremamente versáteis. Elas desempenham uma ampla gama de funções biológicas e apresentam uma grande variedade em termos de arquitetura molecular. Alguns exemplos de proteínas e de suas respectivas funções biológicas podem ser vistos na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Algumas proteínas e suas funções biológicas.

Transporte e Armazenamento	
Caseína	Proteína encontrada no leite; fonte de aminoácidos.
Ferritina	Proteína largamente distribuída e que armazena ferro.
Contração Muscular	
Actina	Componente do músculo esquelético.
Miosina	Componente do músculo esquelético.
Defesa	
Anticorpos	Produzidas pelo sistema imune de animais superiores, participam da destruição de invasores biológicos (patógenos).
Interferons	Produzidas pelos animais superiores, interferem na replicação viral.

Enzimas	
Tripsina	Enzima digestiva dos vertebrados que catalisa a hidrólise de proteínas.
RNA Polimerase	Enzima que catalisa a síntese de RNA dependente de DNA.
Estrutura	
Elastina	Proteína fibrosa presente no tecido conectivo: pulmões e em vasos sanguíneos (aorta).
Queratina	Proteína fibrosa mecanicamente resistente dos vertebrados (cabelo, unha, penas, cascos).

Muitas proteínas, como a hemoglobina (envolvida no transporte de gases) ou as imunoglobulinas (também denominadas anticorpos), são moléculas hidrofílicas, enquanto outras são moléculas insolúveis em água ou hidrofóbicas, além de extremamente resistentes, por exemplo, as queratinas. Essa diferença em termos de solubilidade em água é consequência de características distintas da arquitetura molecular dessas proteínas e reflete a função biológica associada a cada uma delas.

As proteínas com caráter hidrofílico apresentam uma estrutura mais compacta e globular, enquanto as hidrofóbicas tendem a apresentar uma estrutura fibrilar, na forma de um cordão. Assim, genericamente, podemos distinguir dois tipos de proteínas quanto a sua forma: globulares e fibrosas. As proteínas globulares exercem funções biológicas mais dinâmicas, tal como o transporte de gases, que é o caso da hemoglobina, por exemplo. Por outro lado, as proteínas fibrosas podem ser mais frequentemente associadas às funções de natureza estrutural, tal como a formação de tecidos, como no caso do colágeno, presente na derme, nos ossos e nos tendões de animais vertebrados.

Outra característica das proteínas também reflete sua diversidade estrutural: seu tamanho. As proteínas apresentam uma gama ampla de tamanhos, reflexo do número de unidades fundamentais presentes em cada uma delas (Tabela 3.2).

Tabela 3.2 – Dados sobre a composição de algumas proteínas.

	Massa molecular	Número de resíduos de aminoácidos	Número de cadeias polipeptídicas
Citocromo c (humano)	13.000	104	1
Ribonuclease A (pâncreas bovino)	13.700	124	1
Lisozima (clara do ovo)	13.930	129	1
Mioglobina (coração equíneo)	16.890	153	1
Quimotripsina (pâncreas bovino)	21.600	241	3
Quimotripsinogênio (bovino)	22.000	245	1
Hemoglobina (humana)	64.500	574	4
Soroalbumina (humana)	68.500	609	1
Hexoquinase (levedura)	102.000	972	2
RNA polimerase (<i>E.coli</i>)	450.000	4.158	5
Apolipoproteína B (humana)	513.000	4.536	1
Glutamina sintase (<i>E. coli</i>)	619.000	5.628	12

Algumas proteínas apresentam em sua estrutura uma parte de natureza distinta das unidades fundamentais que as constituem. Nesse caso, podemos encontrar associado ao polímero um íon metálico, por exemplo, selênio ou cobre, ou, ainda, uma molécula orgânica, relativamente pequena em relação ao tamanho da proteína, como um carboidrato.

Proteínas que apresentam essa característica são classificadas como **conjugadas**. Por sua vez, os tipos de proteínas conjugadas são definidos com base na natureza molecular do grupo presente

na sua estrutura polimérica. Assim, os exemplos anteriores definem dois tipos de proteínas conjugadas: as metaloproteínas e as glicoproteínas, respectivamente.

3.2 Aminoácidos

Apesar de observarmos algumas diferenças entre as proteínas, conforme já destacamos, como o seu tamanho ou a sua forma, podemos afirmar que essas biomoléculas têm uma característica fundamental em comum que as identifica. As proteínas são macromoléculas ou polímeros formados a partir de unidades mais simples, ou seja, unidades fundamentais.

Então, afinal, do que são constituídas as proteínas?

Quando analisamos a composição dos milhares de tipos diferentes de proteínas presentes nos organismos vivos, observamos que elas são formadas a partir da seleção de um conjunto determinado de blocos constitutivos, os **aminoácidos**.

Cada aminoácido, conforme fica claro a partir de sua denominação, apresenta em sua estrutura um grupo amina e um grupo

Aminoácidos essenciais

Os aminoácidos têm também importância nutricional, uma vez que são a matéria-prima para a formação das proteínas celulares. No entanto, os organismos vivos não sintetizam todos os 20 aminoácidos padrão.

Alguns desses aminoácidos (em torno de dez) devem vir da dieta ou do *turnover* (reaproveitamento) dos aminoácidos presentes na célula, oriundos, por exemplo, da degradação de proteínas celulares. Esses aminoácidos são chamados de aminoácidos essenciais.

No conjunto, os aminoácidos essenciais podem variar de espécie para espécie, ou mesmo, com a fase de desenvolvimento. Uma boa alimentação deve incluir proteínas de boa qualidade, ou seja, que apresentem aminoácidos essenciais

em sua composição e em uma boa quantidade. Essas características definem o valor nutricional de uma proteína (VNP). As proteínas do leite, por exemplo, são ricas em triptofano. Por outro lado, os grãos de arroz e milho normalmente são pobres em lisina, enquanto as leguminosas, como o feijão, são pobres em aminoácidos sulfurados, como a metionina. Assim, os vegetarianos devem consumir cereais e feijão juntos em uma refeição. Desse modo, as proteínas complementares representam uma mistura que fornece todos os aminoácidos essenciais. No entanto, não basta que uma proteína tenha somente um bom conteúdo de aminoácidos essenciais. A proteína deve ter também uma boa digestibilidade. Essas duas características são desejáveis e definem o valor biológico de uma proteína (VBP).

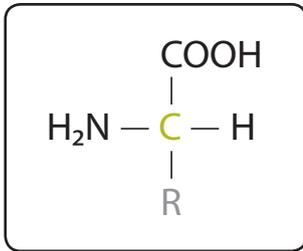


Figura 3.1 – Fórmula geral de um α -aminoácido.

carboxila (ácido carboxílico), ambos ligados a um mesmo carbono, o qual é denominado carbono alfa (carbono α). Assim, de modo mais preciso, podemos dizer que as proteínas são constituídas por **α -aminoácidos**. Observe a representação da fórmula geral de um α -aminoácido na Figura 3.1.

Observando a fórmula geral dos aminoácidos, podemos perceber que, se por um lado, há uma identidade molecular comum entre eles, devido à presença do grupo amina, grupo carboxila e um átomo de hidrogênio, todos ligados ao carbono α , por outro lado, cada aminoácido tem uma identidade estrutural particular devido à presença de um grupo denominado **grupo R** ou **cadeia lateral**. O grupo R não só diferencia estruturalmente os α -aminoácidos entre si, mas confere propriedades distintas a eles, como veremos logo a seguir.

Note que, de acordo com a fórmula geral, o carbono α é um **carbono assimétrico** ou **centro quiral**, o que implica na existência de duas formas espaciais ou tridimensionais para os aminoácidos, ou seja, duas formas de imagem especular não superpostas ou estereoisômeros. Os estereoisômeros da série *L* (do latim *laevus*, significando esquerda), de acordo com o padrão do composto gliceraldeído, são os que ocorrem nas proteínas. Embora os aminoácidos *D* (do latim *dexter*, significando direita) ocorram na natureza, eles são encontrados nas paredes de células bacterianas e em alguns antibióticos, mas não em proteínas.

Neste ponto, podemos trabalhar um pouco com a estrutura dos α -aminoácidos. Você pode tentar representar os seguintes α -aminoácidos (veja a Figura 3.2 para lembrar a numeração e a nomenclatura dos carbonos):

1. Um α -aminoácido cujo grupo R ou cadeia lateral é um átomo de hidrogênio (o aminoácido mais simples);
2. Um α -aminoácido cujo grupo R ou cadeia lateral é um grupo metil;
3. Um α -aminoácido cujo grupo R ou cadeia lateral apresenta uma hidroxila ligada ao carbono β ;
4. Um α -aminoácido cujo grupo R ou cadeia lateral apresenta um grupo carboxila, ligado ao carbono β ;

5. Um α -aminoácido cujo grupo R ou cadeia lateral apresenta um grupo amina, ligado ao carbono ϵ .

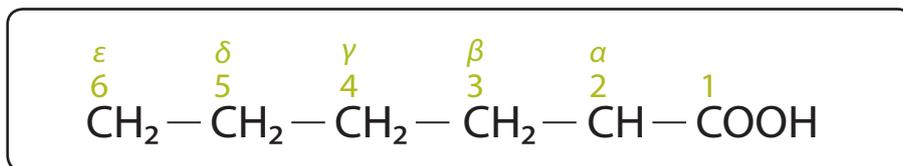


Figura 3.2 – Ácido carboxílico mostrando numeração e nomenclatura usuais e utilizando letras gregas.

Observe agora a Figura 3.4 e identifique os aminoácidos que você representou. Os exemplos que você representou mostram apenas parte da diversidade encontrada nos α -aminoácidos que formam as proteínas, pois outros grupos R apresentam enxofre ou, ainda, anéis aromáticos, por exemplo.

Na Figura 3.4 estão representados todos os α -aminoácidos comumente encontrados nas proteínas. Esses aminoácidos, em um total de 20, são também chamados de **aminoácidos primários** ou **aminoácidos padrão**.

Os 20 α -aminoácidos que constituem as proteínas podem ser classificados levando-se em conta a estrutura do grupo R. Com base nessa classificação estrutural, os aminoácidos primários podem ser classificados, por exemplo, em aminoácidos alifáticos, sulfurados ou aromáticos, como leucina, metionina ou fenilalanina, respectivamente (Figura 3.4).

Apesar dessa classificação ser útil, ela apresenta algumas limitações. Uma dessas limitações é que nessa classificação não é levado em consideração o comportamento dos aminoácidos em um meio aquoso, ou seja, em contato com a água, no pH intracelular. Essas características presentes no meio intracelular são relevantes para o entendimento do comportamento e das interações dos próprios aminoácidos, mas, principalmente, para a compreensão das proteínas formadas por eles.

Devemos salientar que a fórmula geral dos α -aminoácidos não é uma representação fiel de como eles se apresentam no interior da célula, considerando o pH neutro (pH 7,0). Na verdade, dado o comportamento do grupo carboxila e do grupo amina em função do pH, nos α -aminoácidos o grupo carboxila pode perder um próton, apre-

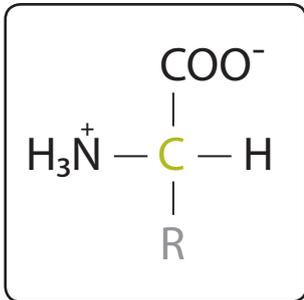


Figura 3.3 – Fórmula geral de um α -aminoácido ionizado ou *zwitterion*.

sentando-se ionizado ou carregado negativamente, enquanto o grupo amina apresenta-se protonado ou carregado positivamente em pH neutro ou perto dele. Assim, os α -aminoácidos existem como *zwitterions* no interior da célula, como mostrado na Figura 3.3.

Desse modo, a classificação dos aminoácidos utilizada em Bioquímica leva em consideração o comportamento do grupo R (a parte que diferencia os aminoácidos entre si) sob dois critérios principais: na presença de água e no pH 7,0. Dessa maneira, além da polaridade (o caráter hidrofóbico ou hidrofílico) do grupo R, a presença de um grupo ionizado ou protonado no pH 7,0 também é levada em consideração.

De acordo com esses critérios, os 20 α -aminoácidos mostrados na Figura 3.4 podem ser divididos em quatro grupos distintos: 1) aminoácidos apolares (ou hidrofóbicos); 2) aminoácidos polares neutros (ou hidrofílicos neutros); 3) aminoácidos polares carregados negativamente; e, 4) aminoácidos polares carregados positivamente. O agrupamento dos 20 α -aminoácidos primários, de acordo com essa classificação, pode ser visto na Figura 3.4.

3.3 Como os aminoácidos se ligam para formar as proteínas?

Um conjunto formado pelos 20 aminoácidos primários pode ser utilizado como matéria-prima pela célula para formar suas proteínas. Uma analogia simples poderia ser feita aqui com o objetivo de melhor compreendermos a formação de um polímero de aminoácidos, ou seja, uma proteína. Podemos imaginar que dispomos de 20 tipos diferentes de contas para confeccionarmos um colar, ou seja, contas de diferentes tamanhos, formas e texturas. Assim, o tipo do colar a ser produzido vai depender de quais contas forem escolhidas e da ordem em que elas forem colocadas. Esse é um princípio fundamental não só na formação de proteínas, como também de outros polímeros biológicos.

Na formação de uma proteína, os aminoácidos são unidos através de ligações covalentes. Essa ligação covalente é formada a

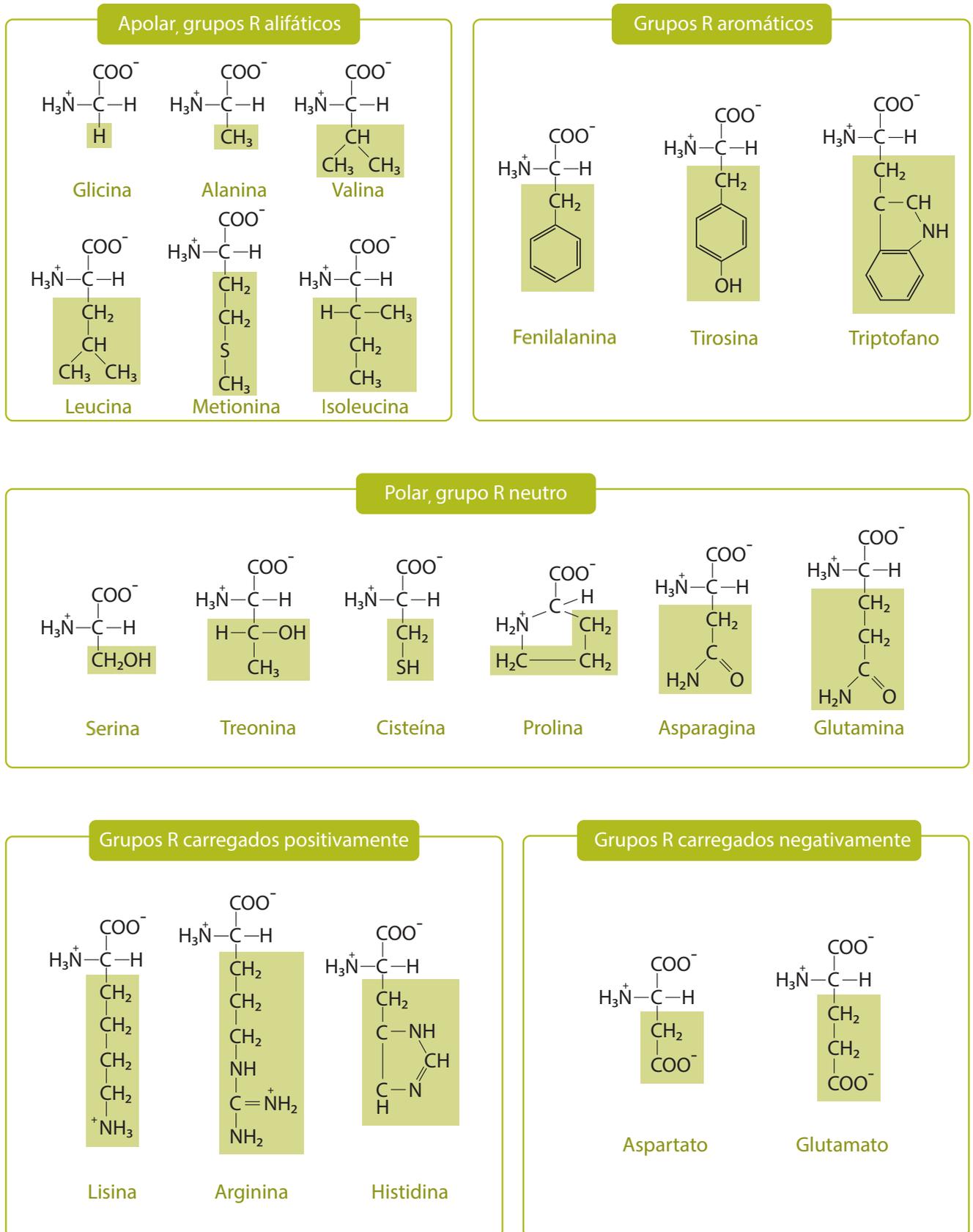


Figura 3.4 – Fórmula dos 20 α -aminoácidos padrão ou primários.

Aminoácidos e neurotransmissores

Dois aminoácidos primários, a tirosina (TYR) e o triptofano (TRP), são precursores de duas classes de neurotransmissores. Os produtos ativos formados a partir desses aminoácidos são derivados monoaminados, ou seja, são criados a partir da descarboxilação desses aminoácidos. Esses derivados são degradados ou desativados por enzimas, denominadas monoamina oxidases (MAOs).

O TRP é um precursor da serotonina, a qual tem um efeito sedativo, provocando uma sensação de bem-estar. Níveis muito baixos de serotonina estão associados com a depressão, enquanto níveis extremamente altos estão associados com o transtorno bipolar.

A TYR, derivada de um outro aminoácido, a fenilalanina (PHE), é convertida em epinefrina, mais conhecida pelo nome de adrenalina. A adrenalina também é conhecida como hormônio de fuga.

Seu efeito está associado com a liberação de glicose na corrente sanguínea, além de estimular a função cerebral.

Aminoácidos incomuns

Os aminoácidos chamados incomuns são, na verdade, aminoácidos modificados, pois são derivados dos aminoácidos comuns (ou padrão) e são produzidos por modificação destes, depois da proteína ter sido sintetizada pela célula. Esse processo de modificação de aminoácidos na proteína se chama modificação pós-tradução. Os aminoácidos modificados ocorrem somente em algumas proteínas. Um exemplo é a hidroxilisina (HLYS), diferente do aminoácido parental lisina (LYS) (a partir do qual foi originada), por possuir um grupo hidroxila em sua cadeia lateral. A HLYS é encontrada somente em algumas proteínas do tecido conjuntivo, como o colágeno, e é importante para a manutenção da estrutura dessa proteína.

partir de uma reação de condensação que ocorre entre o grupo α -carboxila de um aminoácido e o grupo α -amina de outro aminoácido. Uma molécula de água é eliminada nessa reação e **resíduos de aminoácidos** permanecem ligados covalentemente. A ligação formada dessa maneira é denominada de **ligação peptídica** (também chamada de **amida**) (Figura 3.5).

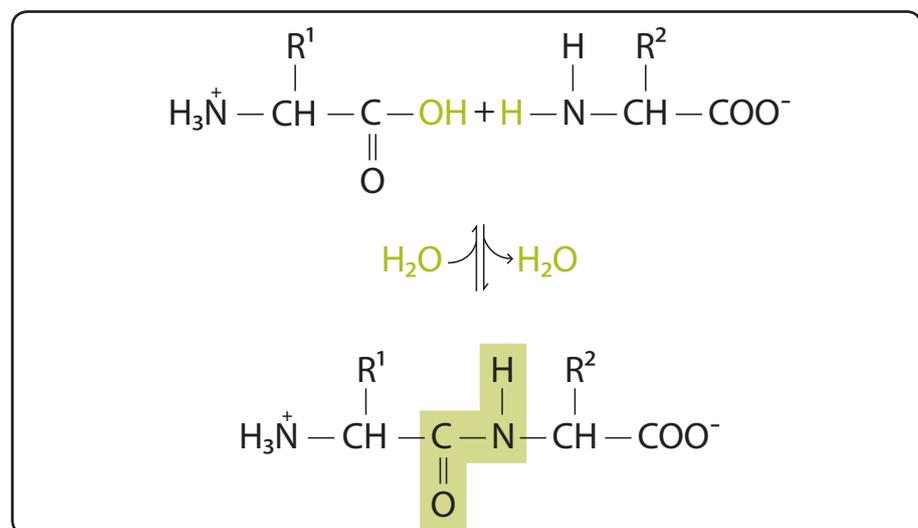


Figura 3.5 – Formação de uma ligação peptídica entre dois aminoácidos, com liberação de uma molécula de água (condensação).

Assim, os **peptídeos** são formados pela ligação de um pequeno número de aminoácidos que pode variar de um mínimo de dois, formando um dipeptídeo, a algumas dúzias. Muitos peptídeos apresentam atividade biológica, podendo, por exemplo, atuar como hormônios.

Em uma proteína, muitos aminoácidos, normalmente acima de cem, são ligados por ligações peptídicas, dando origem a um polímero, ou seja, a uma **cadeia polipeptídica**.

3.4 Níveis de organização estrutural em proteínas

3.4.1 Estrutura primária

A ordem dos resíduos de aminoácidos na cadeia polipeptídica é fundamental para o seu arranjo no espaço e, conseqüentemente, para a sua função biológica. Esse é o nível mais simples a ser considerado na organização estrutural de uma proteína, mas, nem por isso, o menos importante. A **ordem** ou a **seqüência dos resíduos de aminoácidos** na cadeia polipeptídica é denominada de **estrutura primária**.

Muito esforço foi despendido no desenvolvimento de estratégias que permitissem a determinação da estrutura primária ou o sequenciamento de polipeptídeos. Hoje, um número considerável de seqüências é conhecido (aproximadamente mais de 100.000). A **primeira seqüência** de aminoácidos a ser determinada foi para uma pequena proteína, a insulina. Atualmente, o sequenciamento de polipeptídeos tornou-se comparativamente muito mais fácil e é normalmente efetuado de forma automatizada em sequenciadores automáticos, reque-
rendo apenas pequenas quantidades da proteína purificada.

As seqüências de aminoácidos de milhares de proteínas compõem hoje bancos de dados internacionais bastante extensos, como o *Protein Data Bank* (PDB), os quais podem ser facilmente acessados e consultados.

Apesar disso, podemos dizer que prever a estrutura tridimensional ou a forma de uma proteína a partir da estrutura primária

Esta seqüência foi obtida por Frederick Sanger, que recebeu o Prêmio Nobel de Química, em 1958, por esse trabalho.

ainda é uma tarefa bastante difícil. Com base no conhecimento de partes da estrutura primária, podem-se fazer tentativas ou previsões, mas a taxa de sucesso nesses casos é no máximo igual a ou em torno de 60%. Isso é consequência do fato de que muitas das “leis” que regem o dobramento de uma proteína ou a sua estrutura tridimensional, de modo que ela apresente atividade biológica, ainda não são totalmente conhecidas.

Outro método de sequenciamento está baseado no fato de que a sequência de aminoácidos de uma proteína reflete a sequência de bases do DNA do gene que a codifica, como veremos posteriormente. Dessa forma, utilizando métodos disponíveis para o sequenciamento de DNA, é possível deduzir a sequência de aminoácidos em uma dada cadeia polipeptídica.

3.4.2 Estrutura secundária

A cadeia polipeptídica linear, como a descrevemos até agora, sofre um “empacotamento” no espaço aquoso intracelular, o qual apresenta vários níveis de complexidade.

A partir do início dos anos 50 do século XX, Linus Pauling e seus colaboradores, trabalhando principalmente com modelos moleculares e também com um conjunto de princípios químicos, analisaram as formas possíveis ou conformações possíveis que uma cadeia polipeptídica poderia adotar no espaço. Uma das regras era ditada pela própria ligação peptídica, a qual se apresentava planar em função da ligação amida, o que restringia a rotação livre do esqueleto polipeptídico. Essa restrição mostrou que somente poucas conformações seriam compatíveis com essa limitação, bem como outras regras químicas, e, ao mesmo tempo, possibilitariam a formação de uma estrutura molecular estável.

Uma delas é a α -**hélice**, a qual ocorre em função da formação de uma espiral ou estrutura helicoidal, voltada para a direita, com um padrão determinado (3,6 resíduos de aminoácidos por volta da hélice). Esse “tubo” é formado pelo esqueleto das ligações peptídicas, e os radicais laterais dos resíduos de aminoácidos se projetam para fora dele (Figura 3.6).

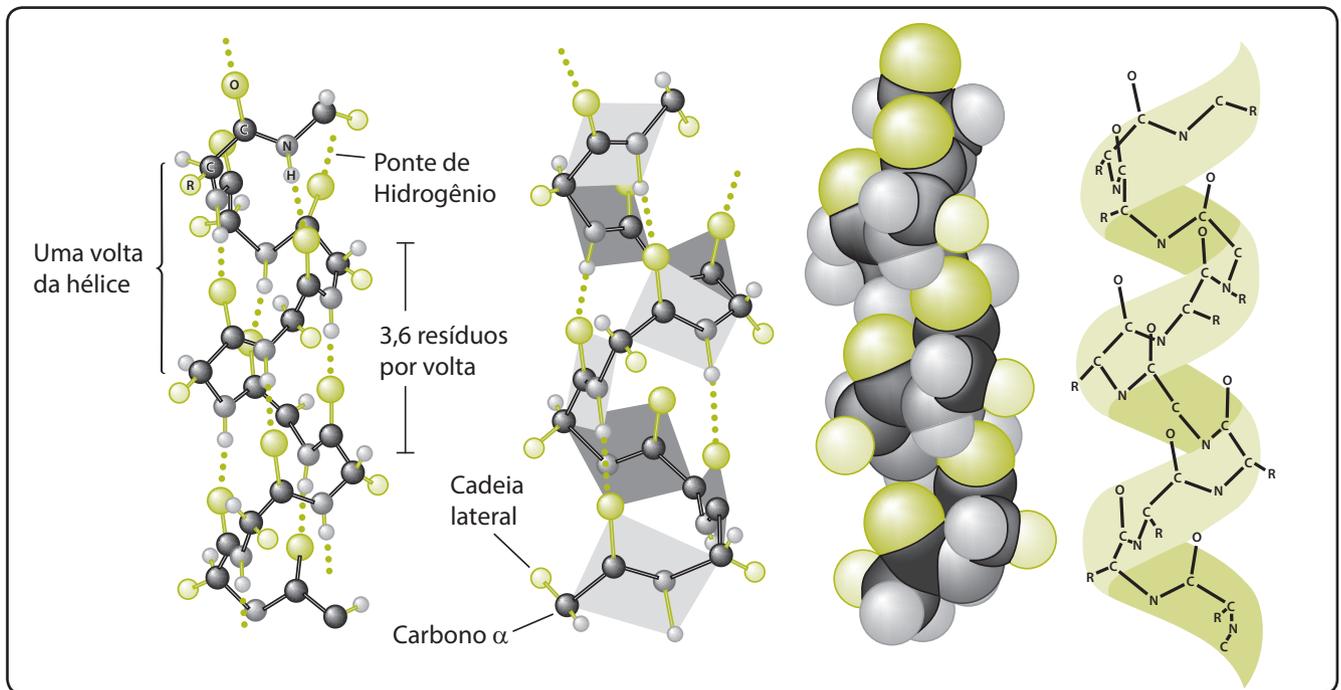


Figura 3.6 – Diferentes representações da estrutura secundária em α -hélice de uma proteína.

As proteínas com esse arranjo são chamadas de **proteínas fibrosas**. Essas proteínas são insolúveis e rígidas, desempenhando função estrutural. Um exemplo clássico é a queratina, a proteína do cabelo, das penas e dos cascos dos animais.

As proteínas podem apresentar quantidades variáveis de α -hélice, desde uma percentagem baixa até 100%, pois alguns fatores podem desestabilizar esse arranjo, como a presença de resíduos de aminoácidos com forte repulsão eletrostática, causada pela proximidade de grupos laterais carregados com a mesma carga elétrica.

Um outro tipo de arranjo de estrutura secundária encontrado em proteínas é denominado de **estrutura em β** ou **folha pregueada** (Figura 3.7).

Nesse caso, o esqueleto polipeptídico apresenta-se mais estendido, formando um “zigue-zague” relativamente frouxo e maleável. Um exemplo clássico de uma proteína em que esse arranjo predomina totalmente é a **fibroína**, a proteína da seda. Essa proteína não só é mais maleável como mais flexível, quando comparada com a queratina.

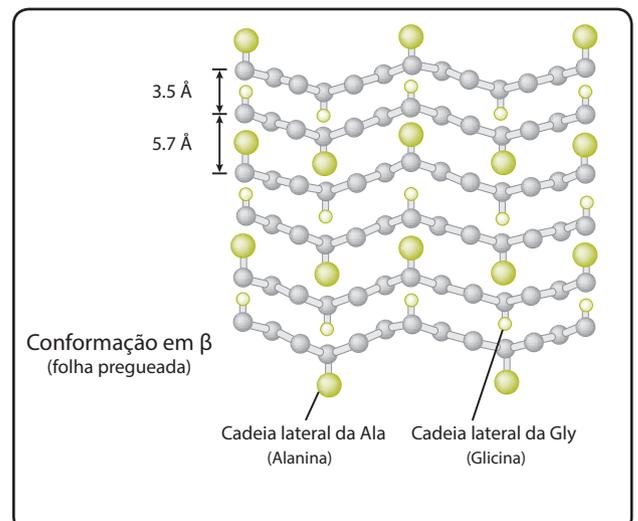
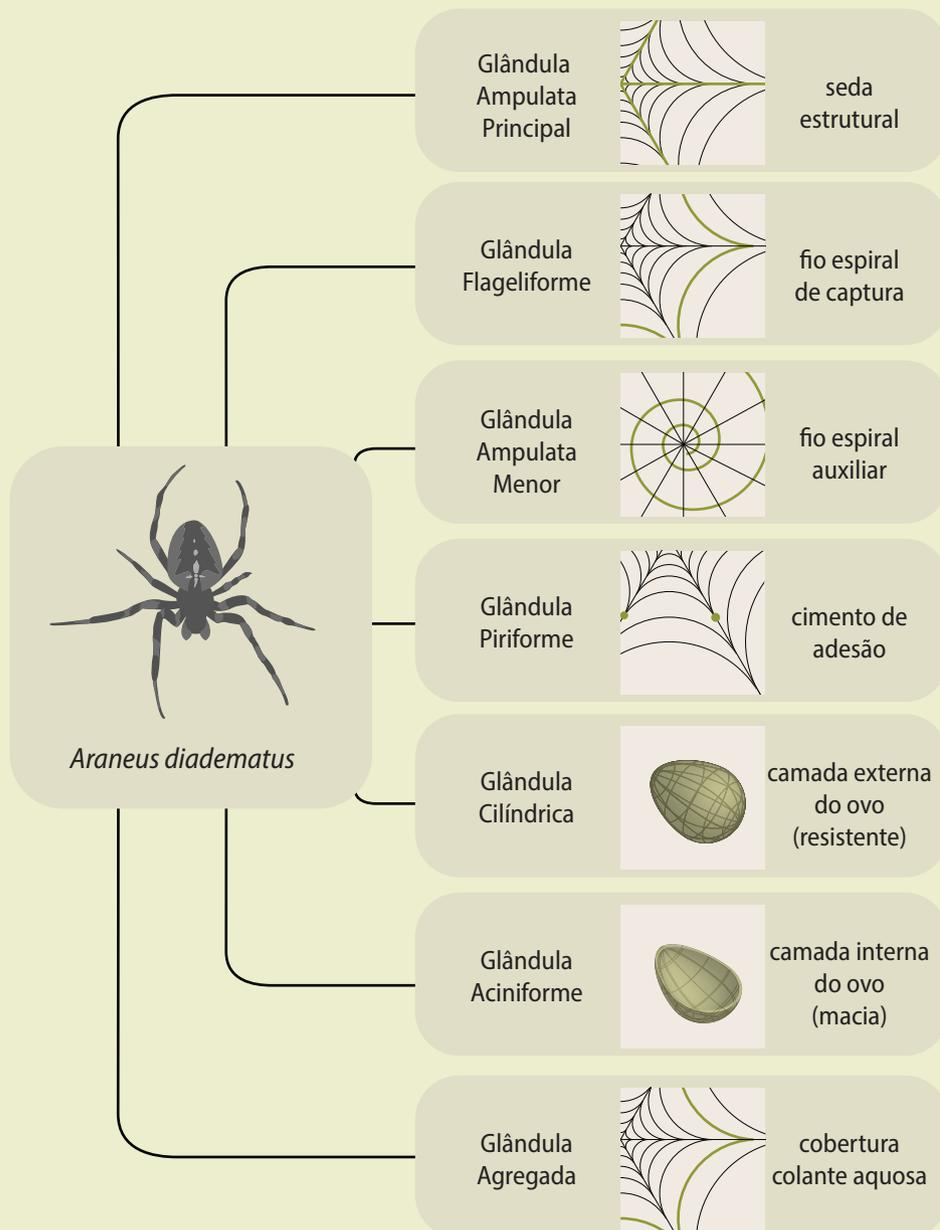


Figura 3.7 – Estrutura secundária do tipo β ou folha pregueada.

Friboína da teia

A seda das aranhas é uma proteína, a fibroína, a qual apresenta em sua composição principalmente resíduos de glicina e alanina. Outros resíduos, como serina e tirosina, também estão presentes. A maioria das aranhas produz mais de um tipo de seda e os vários tipos são secretados por tipos diferentes de glândulas produtoras de sedas ou glândulas sericígenas. A seda desempenha

um importante papel na vida das aranhas e é utilizada para a construção da teia, para capturar presas, para o envolvimento dos ovos, entre outras funções. A seda produzida pelas aranhas é similar à seda produzida por algumas lagartas para formar o casulo, como, por exemplo, no na espécie de mariposa *Bombyx mori*; inseto este chamado popularmente de bicho da seda.



3.4.3 Estrutura terciária

As estruturas secundárias em α -hélice e folhas pregueadas β são combinadas de diversas maneiras, conforme a cadeia polipeptídica de uma dada proteína começa a dobrar-se sobre si mesma, formando uma estrutura mais compacta. Esse enovelamento que leva à formação de uma estrutura globular é chamado de **estrutura terciária** (Figura 3.8).

O enovelamento da cadeia polipeptídica, de modo geral, permite que resíduos de aminoácidos apolares possam evitar o contato com a água que cerca a proteína, permanecendo preferencialmente posicionados na parte mais interna da estrutura globular. Assim, esse arranjo globular possibilita que a proteína exiba um caráter mais polar ou solúvel, compatível com funções biológicas mais dinâmicas, por exemplo, transporte de gases.

Uma estratégia para se determinar a estrutura tridimensional de uma proteína envolve a análise por cristalografia de raio X. Atualmente, além da cristalografia de raio X, outra metodologia, a ressonância magnética nuclear (RMN), pode ser empregada para moléculas consideradas pequenas (PM até 20.000 daltons). A cristalografia de raio X ainda hoje demanda um grande esforço, apesar do uso de programas computacionais cada vez mais eficientes em lidar com a elaboração de imagens e a complexidade dos cálculos matemáticos necessários. Entretanto, seu emprego depende da obtenção de cristais da proteína de interesse, o que não é possível para algumas proteínas.

Devemos lembrar que a informação para a montagem de uma cadeia polipeptídica, na sua sequência correta, é mantida de geração em geração. A hemoglobina humana apresenta sempre a mesma estrutura primária, a qual apresenta diferenças em relação, por exemplo, à hemoglobina de cavalo. A informação para a montagem correta da ordem dos resíduos de aminoácidos está armazenada no gene que codifica essa proteína, presente no DNA encontrado no núcleo de cada célula do corpo humano. Caso a

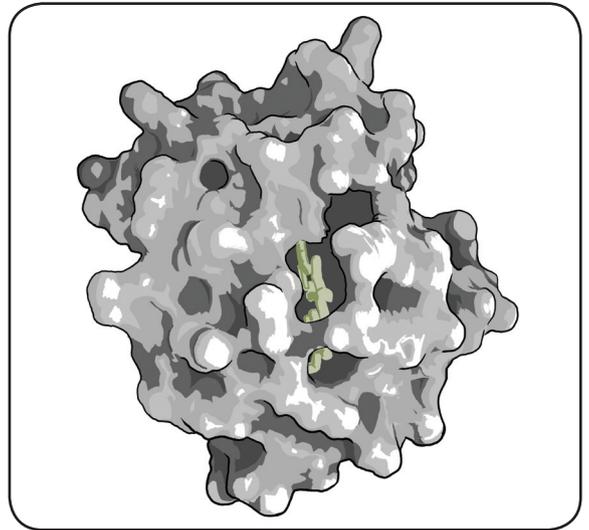


Figura 3.8 – Representação da estrutura terciária de uma proteína.

informação seja corrompida ou alterada, uma proteína defeituosa passa a ser produzida, a qual não pode realizar a sua função biológica de forma correta. Pode haver um ou mais resíduos de aminoácidos errados na sequência e dizemos que uma mutação ocorreu. Esse é o caso da hemoglobina presente nos indivíduos que apresentam anemia falciforme, na qual um único resíduo de aminoácido em uma cadeia de 146 resíduos (na cadeia β , uma das duas cadeias que compõem a proteína) foi alterado.

3.4.4 Estrutura quaternária

Algumas proteínas, como a hemoglobina ou os anticorpos, apresentam um nível estrutural superior aos descritos até aqui. Esse nível de organização estrutural mais complexo envolve a participação de pelo menos duas cadeias polipeptídicas na formação da proteína. Esse nível estrutural é denominado de **estrutura quaternária**.

As proteínas formadas por duas ou mais cadeias polipeptídicas são denominadas de proteínas oligoméricas, e cada cadeia polipeptídica que forma a sua estrutura molecular, por sua vez, é denominada de uma subunidade ou um oligômero (Figura 3.9). As subunidades podem ser idênticas ou diferentes entre si.

Um exemplo clássico e bem estudado de uma proteína com estrutura quaternária é o da hemoglobina, citado acima. Essa proteína oligomérica é um tetrâmero, ou seja, é formada por quatro cadeias, sendo duas cadeias α e duas cadeias β . As duas cadeias α são idênticas entre si, assim como as cadeias β , sendo a estrutura completa da hemoglobina representada como $\alpha_2\beta_2$.

Essa hemoglobina é denominada de hemoglobina A (Hb A). Na Hb A, as cadeias α são formadas por um total de 141 resíduos de aminoácidos, enquanto as cadeias β apresentam 146 resíduos. A hemoglobina é uma proteína conjugada, conforme pode ser visto nas Figuras 3.9 e 3.10.

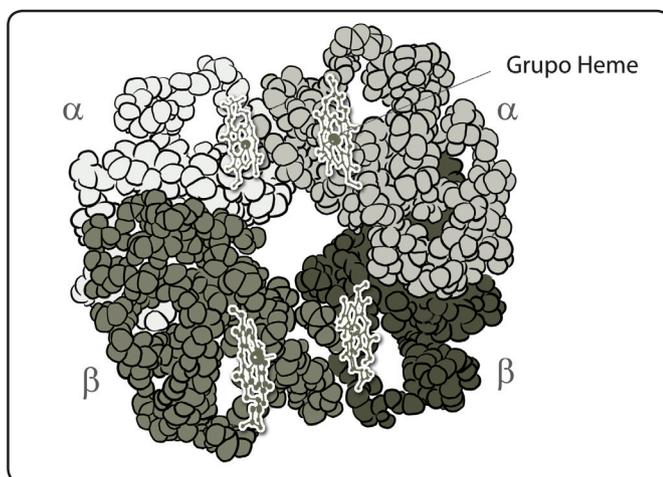
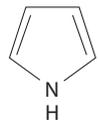
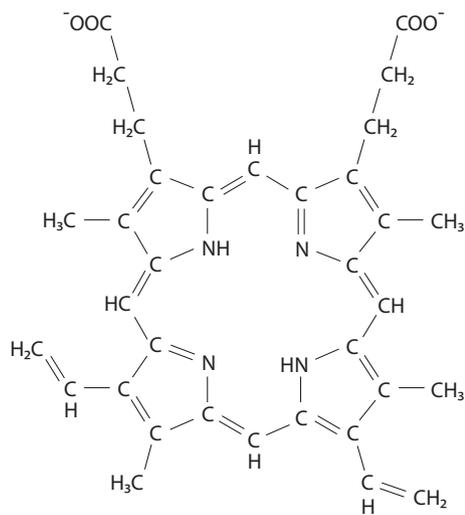


Figura 3.9 – Esquema de uma estrutura quaternária de uma proteína (hemoglobina), mostrando quatro subunidades (2 α e 2 β).



Pirrol



Protoporfirina IX

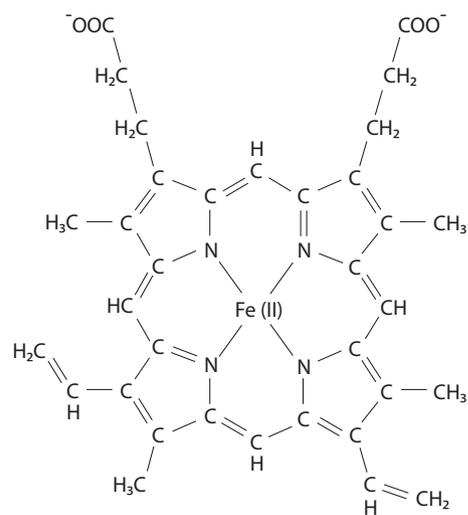
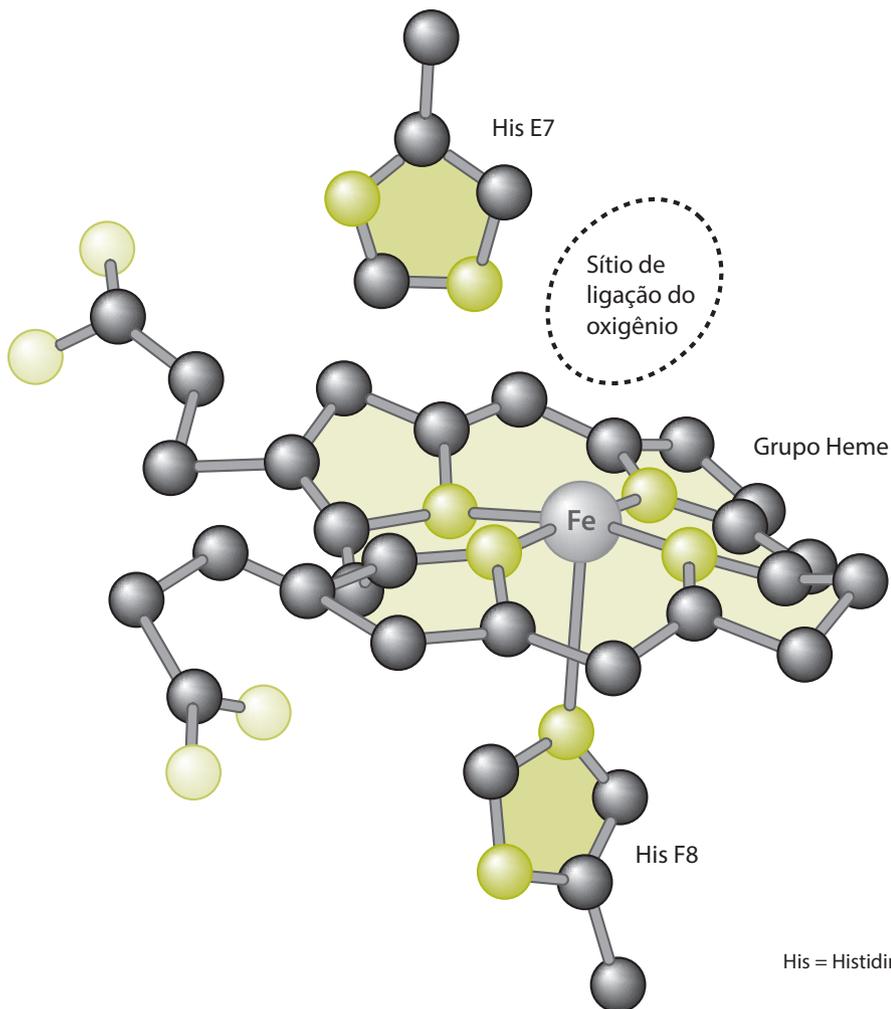
Heme
(Fe-Protoporfirina IX)

Figura 3.10 – Grupo Heme presente na Hemoglobina. Em destaque, os dois resíduos de histidina (E7 e F8) da cadeia polipeptídica importantes para a ligação com o oxigênio.

3.5 Forças moleculares que atuam na manutenção da estrutura de proteínas

Assim como as ligações peptídicas mantêm a estrutura primária, como vimos anteriormente, a estrutura secundária das proteínas é mantida por pontes de hidrogênio (Figura 3.6). Apesar de uma ponte de hidrogênio ser, individualmente, uma ligação não covalente fraca, muitas delas, formando um conjunto de centenas ou milhares, acabam sendo responsáveis por um efeito considerável na manutenção da estrutura molecular onde estão presentes. No caso da queratina, um outro tipo de ligação também é responsável pela manutenção da α -hélice. Essa ligação é uma ligação covalente formada entre as cadeias laterais de duas cisteínas, sendo denominada **ponte dissulfeto** (Figura 3.11).

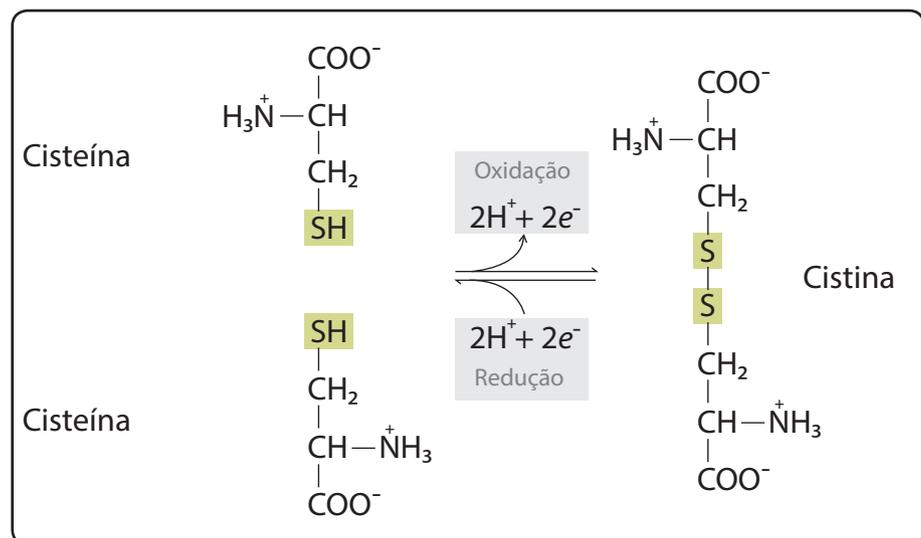


Figura 3.11 – Formação de uma ponte dissulfeto entre dois resíduos de cisteína.

Por outro lado, na manutenção da estrutura terciária, ou seja, da estrutura enovelada da cadeia polipeptídica, diversos tipos de forças moleculares podem atuar. Aqui, devemos lembrar que as cadeias laterais ou grupos R dos resíduos de aminoácidos presentes nas proteínas são distintas em termos de estrutura e propriedade, como em relação ao caráter hidrofóbico ou hidrofílico, por exemplo.

Com o enovelamento da cadeia polipeptídica, resíduos distantes na estrutura primária podem ficar bastante próximos na estrutura terciária. Assim, há várias formas dos grupos R interagirem

dada essa proximidade espacial no ambiente aquoso e em pH neutro (condições do meio intracelular). Resíduos com cadeias laterais hidrofóbicas (contendo um grupo $-CH_3$, por exemplo) podem interagir entre si, evitando o contato com a água circundante. Esse tipo de interação é denominado interação hidrofóbica. Por outro lado, resíduos carregados positivamente (contendo um grupo $-NH_3^+$, por exemplo) podem ser atraídos por resíduos cujas cadeias laterais estejam carregadas negativamente ($-COO^-$), em uma interação iônica ou eletrostática. Nas regiões hidrofílicas, pontes de hidrogênio podem ser formadas entre $-OH$, $-NH_2$ etc.

Além dessas interações não covalentes, ligações covalentes do tipo ponte dissulfeto podem ocorrer em algumas proteínas: pontes dissulfeto intracadeia ou pontes dissulfeto intercadeia (nesse último caso, presentes em proteínas com estrutura quaternária). A figura 3.12 mostra parte de uma cadeia polipeptídica, na qual forças responsáveis pela manutenção da sua estrutura molecular podem ser visualizadas.

Agora você pode entender como as subunidades da hemoglobina, por exemplo, podem permanecer firmemente juntas, apenas através de interações fracas (não covalentes) intercadeias. As superfícies opostas “se encaixam” de modo muito preciso e estável.

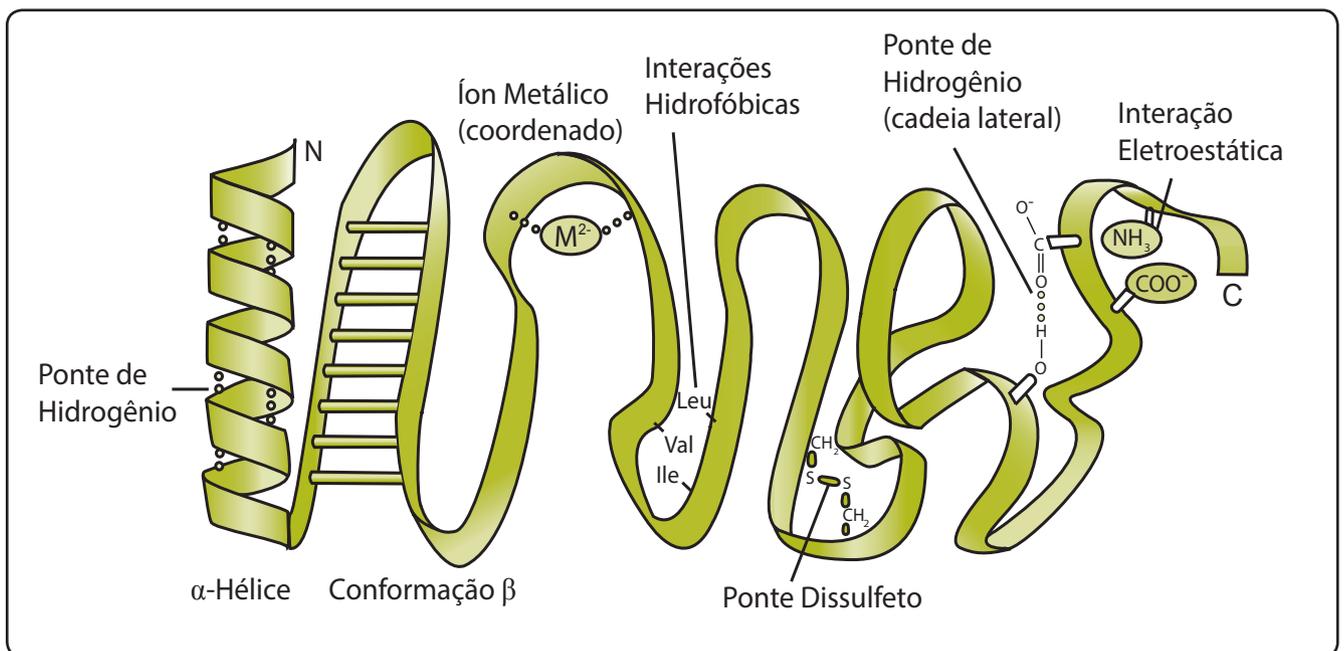


Figura 3.12 – Diferentes forças de interação, responsáveis pela manutenção da estrutura molecular (secundária e terciária) em proteínas.

Na verdade, nas condições biológicas normais (temperatura estável e pH próximo do neutro), a separação das subunidades da hemoglobina não ocorre facilmente.

Desnaturação de proteínas do “ponto de vista” da queratina

Quando o cabelo é molhado, notamos facilmente que os fios ficam mais longos, ou seja, “esticam”. Isso porque a estrutura helicoidal da queratina (α -queratina), nesse caso, apresenta-se menos espiralada, mais frouxa, tendo as pontes de hidrogênio sido desmanchadas. A estrutura molecular do cabelo esticado é semelhante à estrutura estendida de um polipeptídeo com estrutura em β (ou estrutura em folha pregueada). As pontes dissulfeto, no entanto, permanecem intactas e contribuem para a restauração do arranjo helicoidal original quando os fios secam. Para a obtenção de ondas ou permanente, os fios úmidos devem ser enrolados e inicialmente tratados com uma solução de amônia que faz com que os fios inchem. Em seguida, um agente redutor é adicionado para quebrar as pontes dissulfeto. Essa combinação causa a extensão da α -hélice, desmanchando as pontes de hidrogênio e as pontes dissulfeto. Após a retirada do agente redutor por enxágue, um agente oxidante é adicionado para possibilitar a formação de pontes dissulfeto entre novos pares de resíduos de cisteína.

3.6 O que é desnaturação de proteínas?

Justamente por sua estrutura tridimensional depender das interações entre as cadeias laterais dos resíduos de aminoácidos que as constituem, as proteínas globulares são bastante suscetíveis a mudanças no meio onde se encontram. Essas mudanças interferem com as interações entre as cadeias laterais, o que leva à desestabilização da estrutura globular. Essa desestabilização “desmancha” o enovelamento da cadeia polipeptídica, conforme esquematizado na Figura 3.13.

O desenovelamento da cadeia polipeptídica é denominado **desnaturação**. A desnaturação é acompanhada pela diminuição da solubilidade da proteína, em virtude da exposição dos resíduos hidrofóbicos. Em alguns casos, essa diminuição da solubilidade pode ser bastante drástica, acarretando na precipitação da proteína.

Uma coisa importante a ser destacada é que a desnaturação afeta não somente a solubilidade, mas também a atividade biológica

de uma dada proteína. A proteína desnaturada pode perder completamente a sua atividade biológica.

Podemos não nos dar conta, mas um exemplo de desnaturação que nos é bastante familiar e que observamos frequentemente no nosso cotidiano é o que ocorre ao prepararmos um ovo cozido ou frito. A mudança que ocorre com a albumina da clara do ovo durante o cozimento ou a fritura é consequência da desnaturação. Nesse exemplo, o processo de desnaturação é irreversível. No entanto, em alguns casos, a desnaturação tem um caráter reversível e a proteína pode voltar a apresentar a sua conformação nativa, ou seja, a sua estrutura globular original e, conseqüentemente, a sua atividade biológica.

Com base no exemplo da principal proteína da clara do ovo, a ovoalbumina, você já pode identificar um **agente desnaturante**: a temperatura. O aumento da temperatura causa a desnaturação das proteínas, sendo que a termolabilidade varia entre elas. Raras proteínas apresentam-se como sendo termoresistentes, como é o caso das proteínas isoladas de bactérias extremófilas, mais especificamente, das bactérias termacidófilas, as quais são adaptadas a altas temperaturas e condições ácidas para se desenvolverem; as condições típicas são de 80°C a 90°C e pH 2. Tais exigências podem ser resultado de adaptações a condições adversas encontradas na Terra primitiva. Uma vez que esses micro-organismos estão adaptados a esse tipo de hábitat, suas proteínas devem ser estáveis e biologicamente ativas nessas condições.

Além da temperatura, entre os outros agentes desnaturantes podemos citar as alterações de pH, a presença de detergentes e de metais-traço, como o Hg e o Pb.

As pontes dissulfeto (ligações covalentes) não são afetadas pelos agentes desnaturantes citados até agora. Para a desnaturação completa de uma proteína que apresente pontes dissulfeto, ela deve ser tratada por um agente desnaturante denominado agente redutor, como o β -mercaptoetanol, que reduz as ligações S-S.

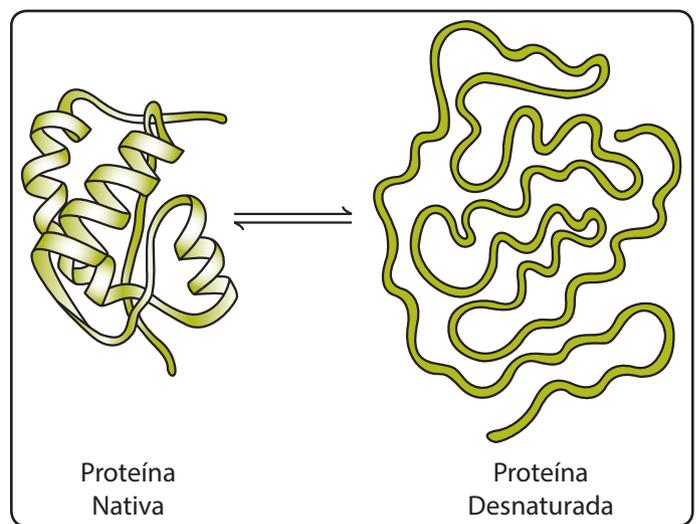


Figura 3.13 – Desnaturação da estrutura globular de uma proteína.

3.7 A importância da estrutura primária

A sequência de aminoácidos (estrutura primária) de uma proteína determina sua estrutura tridimensional, a qual, por sua vez, determina suas propriedades, sendo, assim, fundamental para sua função biológica. Nas enzimas, por exemplo, a complexa estrutura tridimensional serve para colocar os aminoácidos essenciais, diretamente envolvidos na catalisação da reação, perto uns dos outros. Em todas as proteínas, a correta estrutura tridimensional é necessária para a correta funcionalidade.

Um dos mais surpreendentes exemplos da importância da estrutura primária é encontrada na hemoglobina associada à **anemia falciforme**. Nessa doença, de origem genética, as células vermelhas do sangue são incapazes de fixar o oxigênio de forma eficiente. As células vermelhas também assumem a forma de uma foice, que dá o nome à doença.

As células em foice tendem a fixar-se em pequenos vasos sanguíneos, cortando a circulação e causando danos aos órgãos. A mudança em um único aminoácido na sequência da estrutura primária causa todas essas drásticas consequências.

A diferença entre as hemoglobinas da anemia falciforme (hemoglobina S) e as hemoglobinas normais (hemoglobinas A) torna-se aparente quando as duas proteínas são clivadas em pequenos peptídeos pela enzima tripsina e os peptídeos são separados pela técnica de *fingerprint*. A tripsina cliva a hemoglobina nos resíduos de lisina e arginina. Quando a digestão da hemoglobina S é submetida à mesma técnica *fingerprint*, os resultados diferem da hemoglobina A em apenas um peptídeo. As quatro cadeias de aminoácidos da hemoglobina consistem em dois pares de cadeias idênticas, chamadas α e β , respectivamente. A fim de determinar se o peptídeo anormal é da cadeia α ou β , é necessária a separação das duas cadeias. Isso pode ser feito através de cromatografia de troca-iônica. Após a separação, a técnica de *fingerprint* pode ser feita novamente. No padrão obtido a partir das cadeias separadas, o peptídeo anormal é encontrado na cadeia β .

O peptídeo anormal obtido, formado por oito resíduos, apresenta uma substituição de aminoácido. Esse peptídeo é encontrado na região N-terminal da cadeia β . A sequência mostra que, na hemoglobina S, uma valina ocorre na posição 6 da cadeia β , em lugar de um ácido glutâmico, que é encontrado nessa posição na hemoglobina A (Figura 3.14).

Hemoglobina A	Val	His	Leu	Thr	Pro	Glu	Glu	Lys
Hemoglobina S	Val	His	Leu	Thr	Pro	Val	Glu	Lys
Cadeia β	1	2	3	4	5	6	7	8

Figura 3.14 – A alteração de apenas um aminoácido na cadeia β da hemoglobina causa a anemia falciforme.

A cadeia lateral muito polar do ácido glutâmico, contendo um grupo carboxila ionizável, foi substituída por um grupo não-polar, o grupo isopropil da valina. Na estrutura tridimensional da hemoglobina, esse resíduo da posição 6 fica no exterior da molécula. Uma molécula de hemoglobina S pode se envolver em interações hidrofóbicas com outras moléculas de hemoglobina por causa da presença do resíduo não-polar. Essa interação não ocorre entre moléculas de hemoglobina A, a qual possui o resíduo polar na mesma posição. Como resultado, moléculas de hemoglobinas S juntam-se e essa agregação, distorcendo a forma normal das células vermelhas do sangue (Figura 3.15), causando os sintomas da doença na forma de episódios cíclicos.

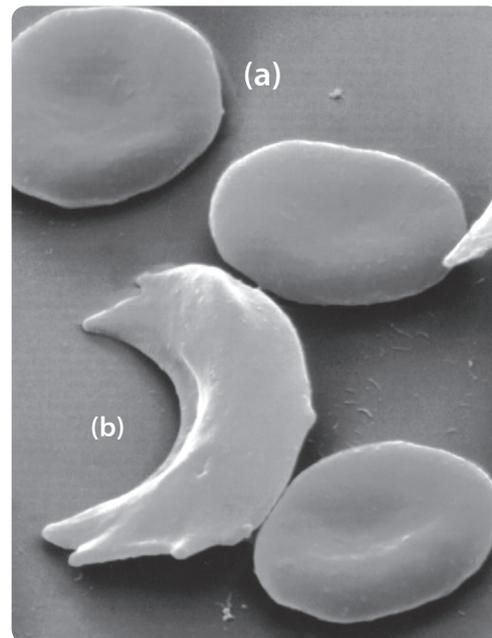


Figura 3.15 – (a) Hemácia normal (contendo a hemoglobina A). (b) Hemácia falciforme (contendo hemoglobina S).

Resumo

As proteínas representam um grupo de biomoléculas extremamente versátil, considerando a gama das funções biológicas que desempenham. Proteínas são biopolímeros de tamanho variado, formados a partir de um conjunto de 20 α -L-aminoácidos, denominados, genericamente, de aminoácidos primários ou aminoácidos padrão.

Esses aminoácidos apresentam uma estrutura geral comum, composta de um carbono, ao qual estão ligados um átomo de hidrogênio, um grupo carboxílico, um grupo amino e uma cadeia lateral ou grupo R. O grupo R é diferente para cada um dos aminoácidos primários. No ambiente aquoso intracelular, pH 7,0, os aminoácidos existem como íons dipolares, denominados *zwitterions*. O comportamento da cadeia lateral, em termos de polaridade e ionização no meio intracelular, define a classificação dos aminoácidos.

A ligação entre os aminoácidos é denominada de ligação peptídica e é a base para a formação de peptídeos e proteínas.

A arquitetura das proteínas pode ser definida com base em diferentes níveis de organização estrutural: primária, secundária, terciária e quaternária.

As proteínas globulares podem ser desestabilizadas por diferentes fatores, o que causa o seu desenovelamento. Esse processo é denominado de desnaturação e tem consequências importantes para a atividade biológica de uma proteína.

Bibliografia

BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Bioquímica**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2004.

CAMPBELL, M. K.; FARRELL, S.O. **Bioquímica: Bioquímica básica**. 5. ed. São Paulo: Thomson Learning, 2007. v. 1.

NELSON, D. L.; COX, M. M. L. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Savier, 2005.

Bibliografia comentada

Os três livros são referências fundamentais para o estudo de bioquímica, enfocando tanto as biomoléculas como o metabolismo. São livros fartamente ilustrados, que oferecem figuras e exercícios

com respostas que poderão ser utilizados como um complemento importante para fixar os conceitos discutidos.

O livro de Campbell & Farrell traz um capítulo específico sobre técnicas de purificação de proteínas com uma abordagem concisa, mas apresentando de forma clara e bem fundamentada um panorama das várias estratégias utilizadas na caracterização dessas biomoléculas.

Para saber (e ver) mais sobre estrutura de proteínas consulte os *sites*:

- <http://bcs.whfreeman.com/lehninger6e/#824263__852682__>. Veja a arquitetura das proteínas e suas estruturas.
- Para saber mais sobre hemoglobinopatias, acesse: <www.hemoglobinopatias.com.br>.

Revise os conceitos sobre aminoácidos no *site*: <<http://www.johnkyrk.com/aminoacid.html>>

Realize a atividade proposta em: <<http://www.wiley.com/legacy/college/boyer/0470003790/animations/animations.htm>>. Selecione em *Interactive Animations*, a atividade *Amino Acids Game*.

Revise o efeito da temperatura sobre a estrutura das proteínas (use como referência a animação *How temperature changes a protein structure?* no *site* <www.sbbq.org.br>. Acesse *Ensino de Bioquímica e Biologia Molecular/ Multimedia Resources* no *site*.

Ou acesse diretamente o mesmo *link* através do *site* do Departamento de Bioquímica, CCB, UFSC <www.bqa.ufsc.br>.

Consulte <<http://www.wiley.com/legacy/collegeboyer/0470003790/animations/animations.htm>>, e na lista de animações interativas, visualize a intitulada *Protein folding*.

Lipídeos

Neste capítulo, estudaremos a estrutura das principais classes de lipídeos, bem como suas propriedades e funções biológicas. Além disso, através dos conteúdos, procuraremos entender a importância e a organização dos lipídeos constituintes das membranas celulares.

4.1 Lipídeos: Propriedades gerais

Ao contrário de outras classes de biomoléculas, como as proteínas, os **lipídeos** não são caracterizados por apresentarem um grupo funcional comum. Na verdade, o que caracteriza os lipídeos como uma classe de biomoléculas é uma propriedade comum que define o seu comportamento. Essa propriedade comum é a baixa solubilidade dos lipídeos em água, ou seja, o seu grau de hidrofobicidade.

Os lipídeos são moléculas hidrofóbicas ou apolares, mas apresentam solubilidade em solventes orgânicos, por exemplo, o clorofórmio e o benzeno. Em nosso cotidiano, frequentemente nos deparamos com o comportamento apolar dos lipídeos, como quando misturamos azeite e vinagre para temperar uma salada.

Ao contrário das demais classes de biomoléculas, o conceito de polímeros não se aplica aos lipídeos, pois eles não são constituídos por repetições de unidades fundamentais comuns. No entanto, ao observarmos vários representantes dessa classe de biomoléculas, veremos que a maioria dos lipídeos apresenta um ou mais **ácidos graxos** em sua estrutura.

As funções biológicas dos lipídeos são diversas, sendo importantes como moléculas de reserva, como constituintes das membranas celulares, como vitaminas lipossolúveis, além de apresentar atividade biológica e exercerem o papel de hormônios.

Os lipídeos podem ocorrer, ainda, combinados, seja covalentemente ou através de ligações fracas, com outras biomoléculas de

natureza distinta. Dessa forma, constituem os **glicolipídeos**, os quais contêm tanto carboidratos como lipídeos em sua estrutura, e as **lipoproteínas**, que são constituídas de lipídeos e proteínas. Em tais biomoléculas híbridas, as propriedades químicas de seus componentes estão combinadas de modo a preencher funções biológicas especializadas.

4.2 Ácidos graxos

Os ácidos graxos estão presentes na maioria das classes de lipídeos e contribuem para o comportamento apolar dessas biomoléculas.

Como pode ser observado na Figura 4.1, os ácidos graxos são constituídos por uma cadeia de hidrocarboneto (frequentemente alifática), a qual apresenta um grupo carboxila terminal (-COOH). Consequentemente, os ácidos graxos apresentam ao mesmo tempo um caráter apolar (devido à natureza da cadeia de hidrocarboneto) e uma “cabeça” polar, ionizada no pH 7,0 (devido à ionização do grupo carboxila, daí a denominação “ácido”). Dessa forma, ácidos graxos livres são considerados como **moléculas anfipáticas**, ou seja, moléculas que apresentam tanto caráter polar como apolar.

Os ácidos graxos se distinguem entre si por duas características. A primeira está relacionada ao número de carbonos na cadeia (comprimento da cadeia), sendo as cadeias de número par de carbonos mais importantes do ponto de vista biológico, como os ácidos graxos constituídos de 16 e 18 carbonos, por exemplo. A

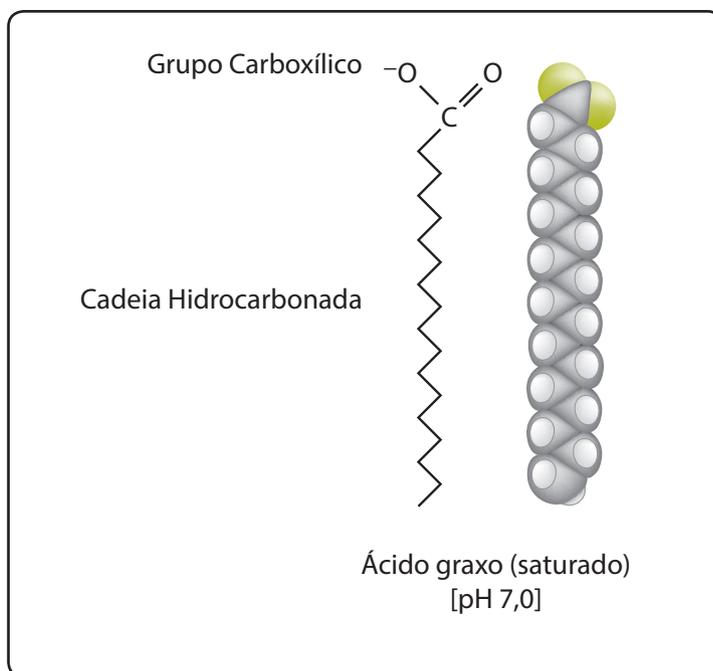


Figura 4.1 – Ácido graxo saturado.

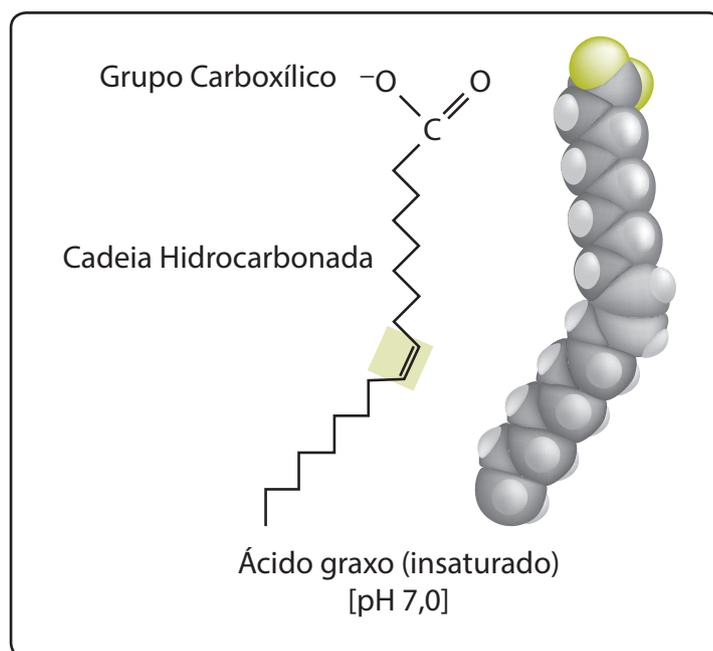


Figura 4.2 – Ácido graxo insaturado.

segunda característica envolve a ocorrência ou não de uma ou mais ligações duplas entre os carbonos da cadeia alifática (Figura 4.2).

Os ácidos graxos que apresentam somente ligações simples são denominados de **ácidos graxos saturados**, enquanto aqueles que apresentam uma ou mais ligações duplas são denominados de **ácidos graxos insaturados**. Na Tabela 4.1, são mostrados alguns ácidos graxos de ocorrência natural.

Tabela 4.1 – Exemplos de ácidos graxos saturados de ocorrência natural.

Nº. de Carbonos	Nome Comum	Nome Sistemático	Estrutura
Saturados			
4	Ácido butírico	Ácido butanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$
6	Ácido caproico	Ácido hexanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$
8	Ácido caprílico	Ácido octanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$
10	Ácido cáprico	Ácido decanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$
12	Ácido láurico	Ácido dodecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$
14	Ácido mirístico	Ácido tetradecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$
16	Ácido palmítico	Ácido hexadecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
18	Ácido esteárico	Ácido octadecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
20	Ácido araquídico	Ácido eicosanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$
22	Ácido beênico	Ácido docosanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$
24	Ácido lignocérico	Ácido tetracosanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$

Insaturados		
16 (16:1*)	Ácido palmitoleico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
18 (18:1*)	Ácido oleico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
18 (18:2*)	Ácido linoleico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$
18 (18:3*)	Ácido linolênico	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$
20 (20:4*)	Ácido araquidônico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$

Em parênteses, o primeiro número refere-se ao número de carbonos na cadeia; e o segundo (*), ao número de duplas ligações.

Em alguns ácidos graxos, podem ocorrer mais de uma ligação dupla e, nesse caso, eles são denominados de **ácidos graxos polinsaturados** (muitas vezes chamados de PUFAs, do inglês, *Polyunsaturated Fatty Acids*).

Tabela 4.2 – Exemplos de ácidos graxos poli-insaturados de ocorrência natural.

Essenciais	ácidos graxos poli-insaturados que não podem ser completamente sintetizados
Classes: Ômega-6 (ω -6) Ômega-3 (ω -3) $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-.....-CH}_2\text{-COOH}$	
Sistema Δ	2 1
Sistema ω	1 2

O comprimento e o grau de insaturação de um ácido graxo têm consequências importantes no seu ponto de fusão, determinando, assim, ele se apresenta no estado sólido ou líquido em temperatura ambiente. Dado o seu caráter apolar, quando em uma solução aquosa, os ácidos graxos tendem a se aproximar e a se organizar de modo ordenado, formando interações hidrofóbicas entre si e “expulsando” as moléculas de água (na verdade, poucas moléculas de água se reorganizam para formar ligações ou pontes de hidrogênio entre si). Quando esse “pacote” de ácidos graxos é constituído por

ácidos graxos saturados, existe maior rigidez devido ao alinhamento extremamente ordenado de suas cadeias alifáticas (Figura 4.3). Ao contrário, pelo fato das duplas ligações presentes nos ácidos graxos insaturados causarem uma dobra na cadeia, esse alinhamento acaba sendo menos rígido, ou seja, menos ordenado (Figura 4.4). Esses arranjos, somados às diferenças no ponto de fusão, são muito importantes biologicamente, como veremos mais adiante.

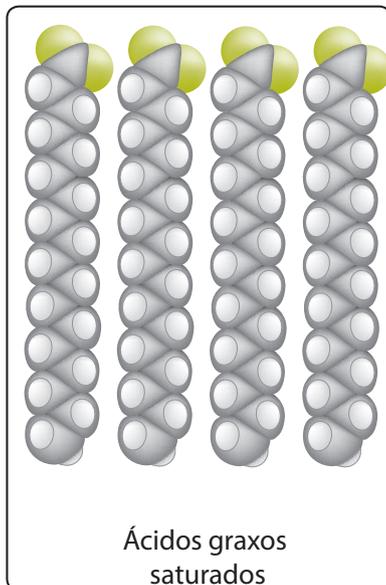


Figura 4.3 – Alinhamento de ácidos graxos saturados.

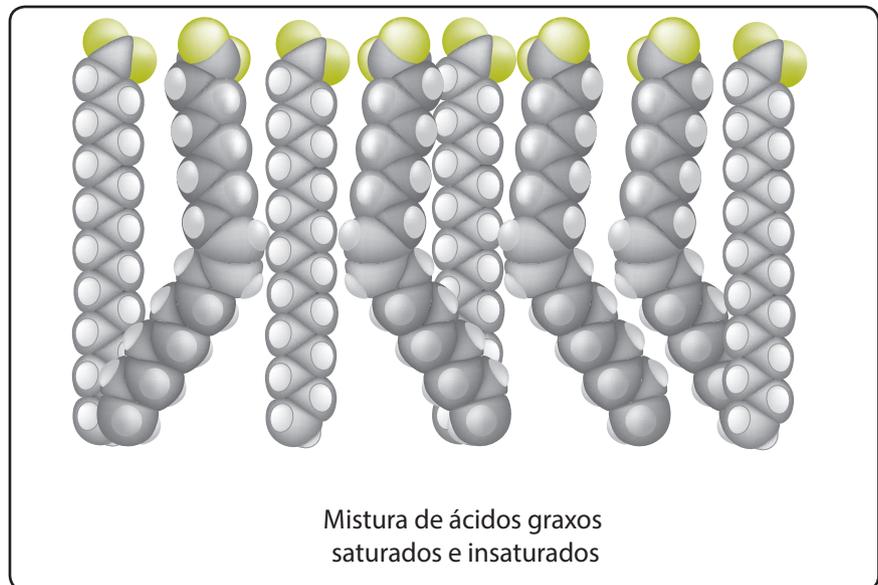


Figura 4.4 – Alinhamento de ácidos graxos saturados e insaturados.

4.3 Principais classes de lipídeos

Os ácidos graxos raramente são livres na natureza, mas se apresentam combinados com outras moléculas, fazendo parte de muitos lipídeos que ocorrem naturalmente. As moléculas às quais os ácidos graxos estão ligados, em última instância, determinam e diferenciam as diferentes classes de lipídeos presentes nos organismos vivos.

4.3.1 Triacilgliceróis

Os **triacilgliceróis** (TAGs) são formados a partir da esterificação de três ácidos graxos ao álcool glicerol, conforme mostrado na Figura 4.5, daí a sua denominação. Os ácidos graxos ligados ao glicerol podem ser distintos entre si, inclusive em relação ao grau de insaturação.

Os TAGs são os lipídeos que comumente denominamos de óleos e gorduras. A sua composição de ácidos graxos reflete o fato de os primeiros serem líquidos à temperatura ambiente, enquanto os outros se apresentam no estado sólido, como é o caso dos óleos vegetais e das gorduras animais, respectivamente.

Ainda em relação à estrutura dos TAGs, note que a esterificação dos ácidos graxos ao glicerol elimina a polaridade do ácido graxo. Dessa forma, os TAGs são lipídeos não polares neutros, ou seja, lipídeos que não apresentam carga no pH fisiológico, isto é, pH 7,0 (Figura 4.5).

Essa propriedade reflete o papel biológico dos TAGs, lipídeos de reserva por excelência, os quais se acumulam nas células do tecido adiposo, ocupando praticamente todo o citoplasma, conforme

Óleos e gorduras

As “gorduras” animais e os “óleos” vegetais apresentam natureza distinta em relação ao seu ponto de fusão. À temperatura ambiente, enquanto as gorduras têm natureza sólida, os óleos apresentam-se fluidos. A principal diferença entre gorduras e óleos é a porcentagem de ácidos graxos insaturados. Essa diferença é ainda mais importante do que o fato de o comprimento da cadeia de ácido graxo poder afetar seu ponto de fusão (a manteiga é uma exceção: ela tem uma alta proporção de ácidos graxos de cadeia curta e, assim, pode “derreter na boca”).

As membranas de órgãos internos de mamíferos homeotérmicos têm uma porcentagem mais alta de ácidos saturados que aquela dos tecidos da pele, o que ajuda a manter a membrana mais sólida à temperatura mais alta do órgão interno. Um outro exemplo pode ser dado quando bactérias são cultivadas em diferentes temperaturas. Assim, a composição de ácidos graxos das membranas desses microrganismos muda, sendo encontrados mais ácidos graxos insaturados em temperaturas mais baixas e mais ácidos graxos saturados em temperaturas mais altas.

Como as doenças cardiovasculares estão correlacionadas a dietas ricas em gorduras saturadas,

uma dieta com mais gorduras insaturadas pode reduzir o risco de ataques cardíacos e derrames. Mesmo entre os óleos vegetais encontramos, comparativamente, variações quanto ao teor de insaturação. O óleo de canola é uma opção alimentar atraente por ter uma alta proporção de ácidos graxos insaturados em relação aos ácidos graxos saturados. Sendo os alimentos mais ricos em gorduras poli-insaturadas mais saudáveis, as empresas alimentícias começaram a comercializar substitutos da manteiga, os quais seriam mais ricos em ácidos graxos insaturados e, ao mesmo tempo, teriam as características físicas da manteiga, como a solidez a temperatura ambiente. Eles atingiram essa meta ao hidrogenar parcialmente as ligações duplas dos ácidos graxos insaturados que compõem os óleos vegetais. No entanto, ao hidrogenar os óleos poli-insaturados, a remoção de algumas das ligações duplas tornou-os, assim, mais saturados. Além disso, no processo de hidrogenação, algumas ligações duplas são convertidas para a forma trans. Estudos recentes mostram que os ácidos graxos trans aumentam a proporção de colesterol LDL (lipoproteína de baixa densidade), em comparação com HDL (lipoproteína de alta densidade), um correlator positivo para as doenças cardiovasculares. Assim, os efeitos dos ácidos graxos trans são semelhantes aos dos ácidos graxos saturados.

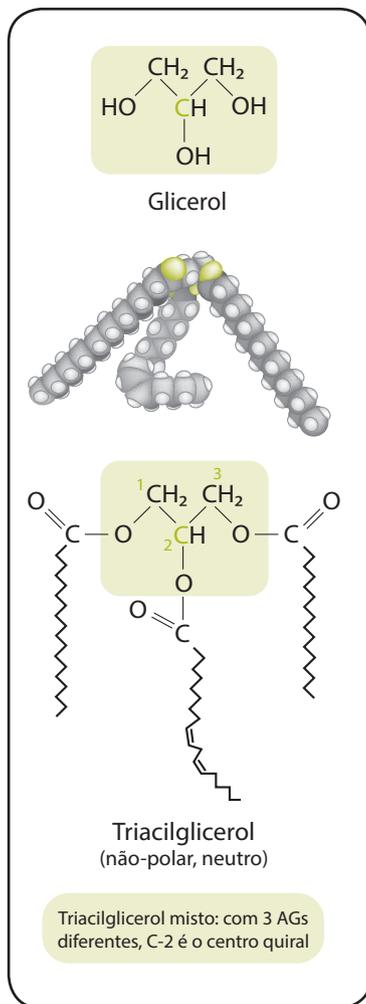


Figura 4.5 – Estrutura de um triacilglicerol (TAG).

mostra a micrografia eletrônica na Figura 4.6. Os TAGs constituem uma reserva energética importante, uma vez que sua metabolização gera um equivalente calórico por quilograma muito superior em comparação com os carboidratos (Tabela 4.3).

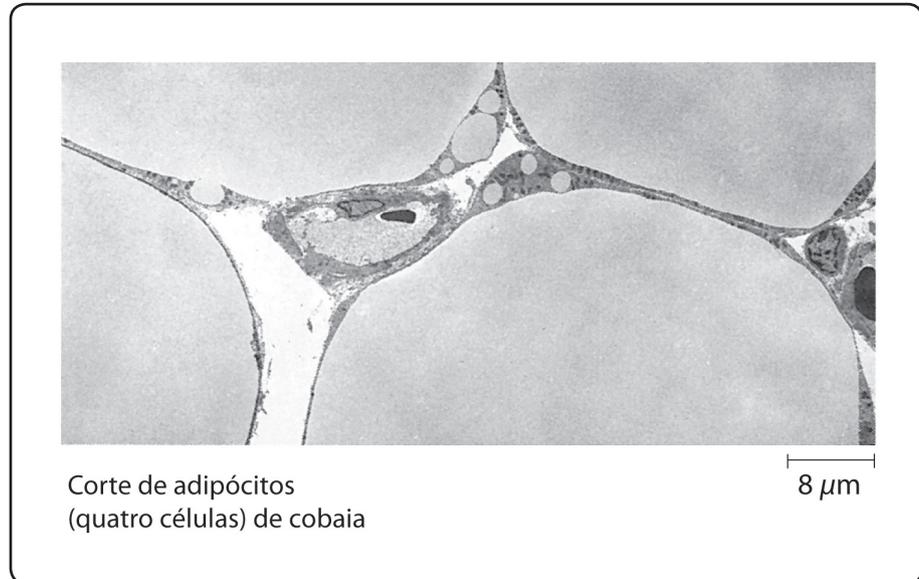


Figura 4.6 – Acúmulos de triacilgliceróis em células adiposas.

Tabela 4.3 – Proporção em massa e equivalente calórico de combustíveis metabolicamente disponíveis em um homem de 70 kg.

Kcal	Peso combustível (kg)	Equivalente calórico
Triagliceróis	15	141.000*
Proteína (músculo)	6	24.000
Glicogênio (músculo)	0.15	600
Glicogênio (fígado)	0.675	300
Combustíveis em circulação	0.023	100
		166.000
* 6x mais energia armazenada que carboidratos		
* Reservas: carboidrato ~1 dia; lipídeos ~1-2 meses		

Além do papel principal como reserva energética, os TAGs são importantes também no isolamento térmico e na proteção contra choques mecânicos.

4.3.2 Ceras

As ceras, uma outra classe de lipídeos, são ésteres de ácidos graxos de cadeia longa (C-14-36), saturados ou insaturados, com alcoóis de cadeia longa (C-16-30). Seu ponto de fusão está na faixa de 60-100°C, geralmente mais alto que os registrados para os triacilgliceróis.

O papel biológico dessa classe de lipídeos está relacionado ao armazenamento de energia nos organismos do plâncton, além de servir como uma camada protetora e impermeabilizante nas penas das aves, na lã do carneiro e na superfície de folhas e frutos. Entre os exemplos mais conhecidos, estão a cera das abelhas, a cera da carnaúba, a cera da jojoba e a cera presente no óleo da cachalote (Figura 4.7).



Figura 4.7 – As ceras têm inúmeras aplicações na indústria farmacêutica e de cosméticos. O óleo de baleia foi largamente empregado na construção no Brasil colonial.

4.3.3 Fosfoacilgliceróis (ou Glicerofosfolipídeos)

Como o nome indica, os fosfoacilgliceróis (FAGs) apresentam um grupo fosfato na sua estrutura, ou seja, são fosfolipídeos. A esterificação do ácido fosfórico ao carbono 3 (C-3) do álcool glicerol forma o ácido fosfatídico (Figura 4.8), o composto a partir do qual se originam os FAGs. Ou seja, diferentes AGs podem, por sua vez, ser esterificados aos carbonos 1 (C-1) e 2 (C-2) do ácido fosfatídico, como o ácido palmítico (saturado, 16:0) e o ácido oleico (insaturado,

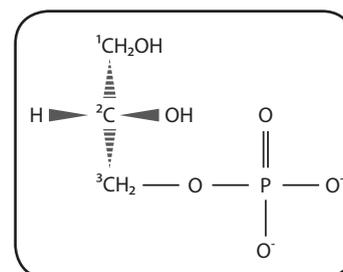


Figura 4.8 – Ácido fosfatídico.

18:1). O que distingue os FAGs entre si não são só os AGs presentes na molécula, mas, também, o tipo de molécula que se liga ao grupo fosfato, designado como substituinte X. A natureza do substituinte X varia, podendo ser, por exemplo, um aminoálcool, como a serina (aminoácido) e a colina (Figura 4.9), protonado no pH intracelular. Dessa forma, em função do grupo fosfato (ionizado) e do aminoálcool (protonado) no pH 7,0, os FAGs são lipídeos polares.

Um dos exemplos de FAG mais conhecido é a fosfatidilcolina, também chamada de lecitina, que pode ser encontrada na soja e na gema do ovo, por exemplo.

Essa propriedade faz com que os FAGs possam formar micelas quando em uma solução aquosa, contribuindo, assim, para a “solubilização” de moléculas apolares, uma vez que as mesmas podem ficar alojadas no interior dessas micelas. Essa é base do que descrevemos como emulsificação. Uma aplicação desse princípio em nosso cotidiano pode ser exemplificada na culinária durante a preparação de maionese (lembre-se que a receita utiliza gema de ovo, rica em lecitina, e azeite de oliva, ou seja, um triacilglicerol, emulsificado no fosfolipídeo).

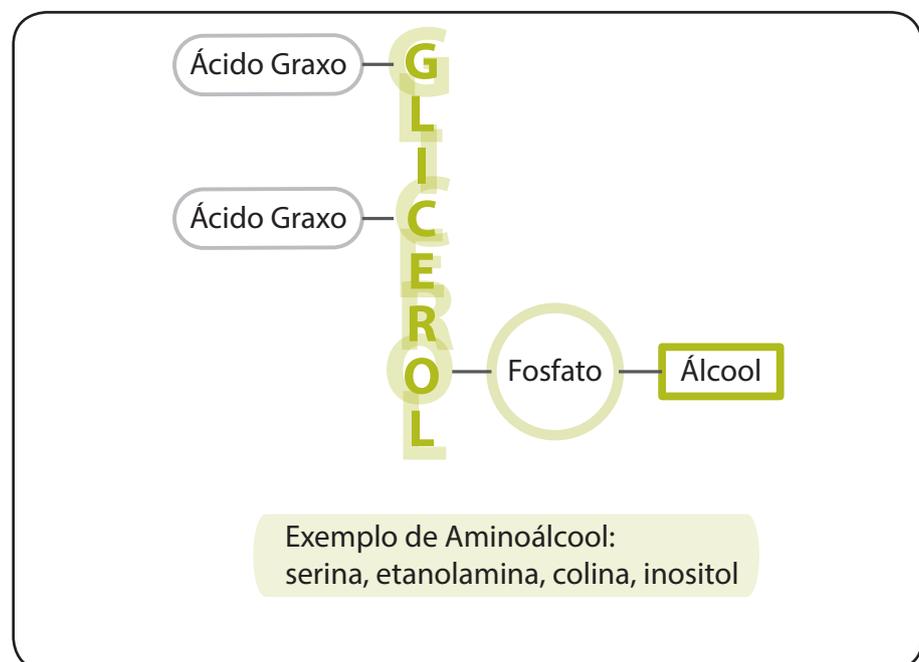


Figura 4.9 – Composição de um fosfoacilglicerol.

As características dessa classe de lipídeos refletem o seu papel biológico, ou seja, os FAGs são os principais componentes das membranas celulares.

4.3.4 Esfingolipídeos

Os AGs podem ainda ocorrer esterificados a um outro álcool, diferente do glicerol. Nesse caso, eles formam um éster com um aminoálcool, a esfingosina. Essa classe de lipídeos é denominada de **esfingolipídeos**.

Além de um AG, os esfingolipídeos podem ou não apresentar um grupo fosfato em sua estrutura. Quando presente, o grupo fosfato apresenta-se ligado a um aminoálcool, como a colina. Nesse caso, o esfingolipídeo é muitas vezes denominado **esfingofosfolipídeo**. Um exemplo desse tipo de lipídeo é a esfingomiéline (Figura 4.10).

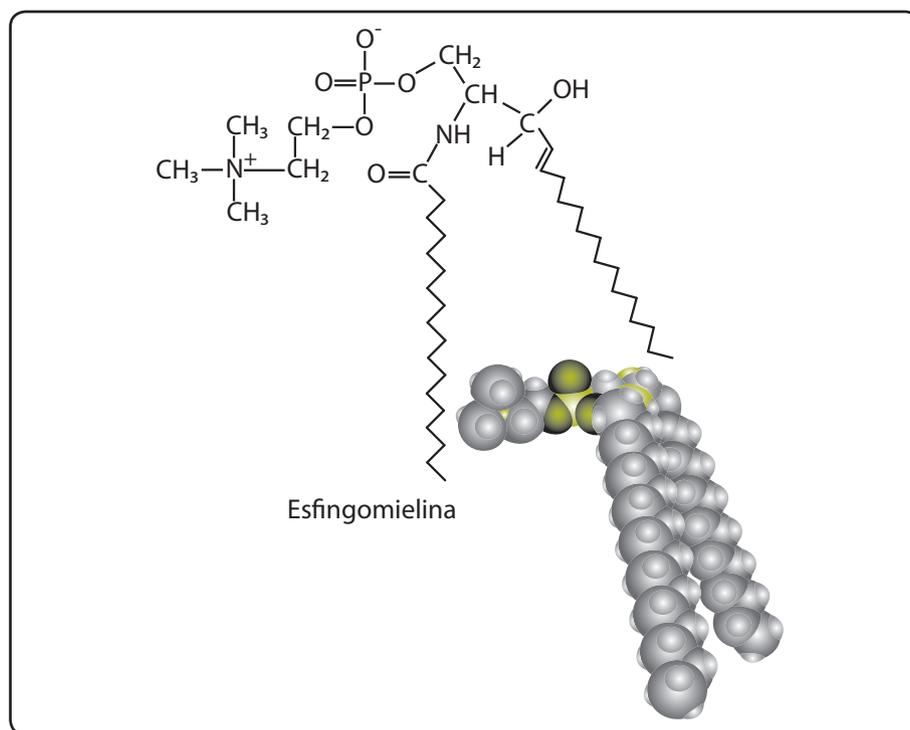


Figura 4.10 – Estrutura da esfingomiéline, um esfingofosfolipídeo.

Outros esfingolipídeos, além de um AG, apresentam um carboidrato na sua estrutura, seja um carboidrato simples, um monossacarídeo, ou uma pequena cadeia de monossacarídeos, um oligossacarídeo (estudaremos os carboidratos a seguir). Nesse caso, o esfingolipídeo é chamado de **esfingoglicolipídeo** ou, simplesmente, **glicolipídeo**.

Os esfingolipídeos são componentes das membranas celulares, sendo particularmente abundantes nas membranas do sistema nervoso. Os esfingoglicolipídeos são também importantes como determinantes dos diferentes grupos sanguíneos do sistema ABO.

4.3.5 Esteroides

Muitos compostos com funções diferentes são classificados como **esteroides**. O que eles têm em comum é a presença de um anel esteroide, ou seja, um sistema de anéis fundidos, constituído por três anéis com seis átomos de carbono (anéis A, B e C) e um anel com cinco átomos de carbono (anel D). Um importante representante desse grupo, o **colesterol**, está mostrado na Figura 4.11.

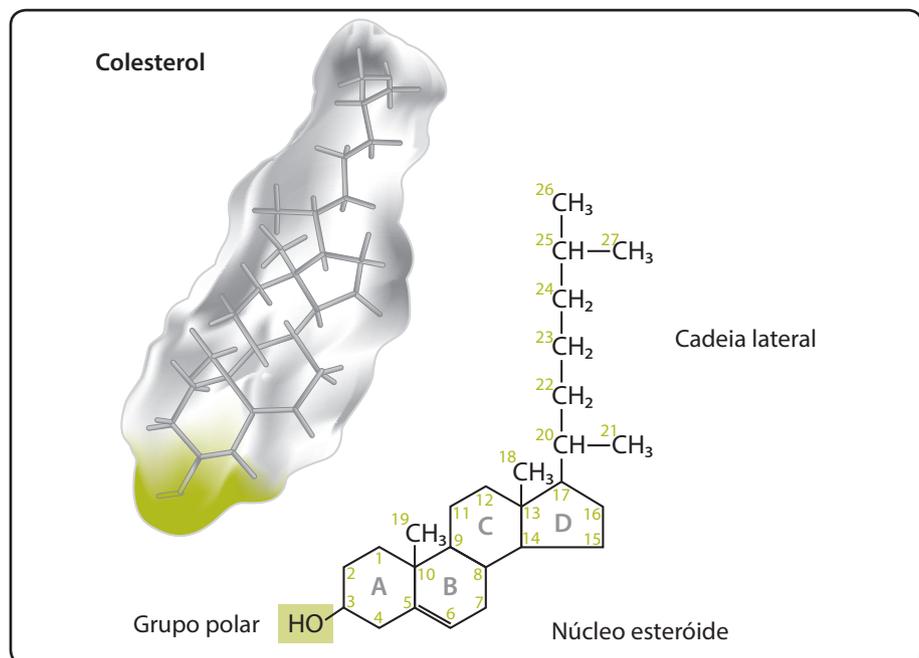


Figura 4.11 – Exemplo de um esteroide, o colesterol.

O único grupo hidrofílico na estrutura do colesterol é a hidroxila. Assim sendo, o colesterol é altamente hidrofóbico. O colesterol é bastante abundante nas membranas celulares animais. A presença do colesterol nas membranas celulares contribui para uma maior rigidez delas.

O colesterol não ocorre nas membranas celulares de procaríotos. Em vegetais, podemos encontrar o fitoesterol, que difere do colesterol em relação aos substituintes e à cadeia lateral, ligados ao núcleo esteroide.

O colesterol é importante, ainda, como precursor de hormônios esteroides sexuais e do córtex da adrenal (Figura 4.12). O colesterol também é precursor de ácidos biliares e de uma vitamina lipossolúvel, a vitamina D₃, importante para o metabolismo ósseo.

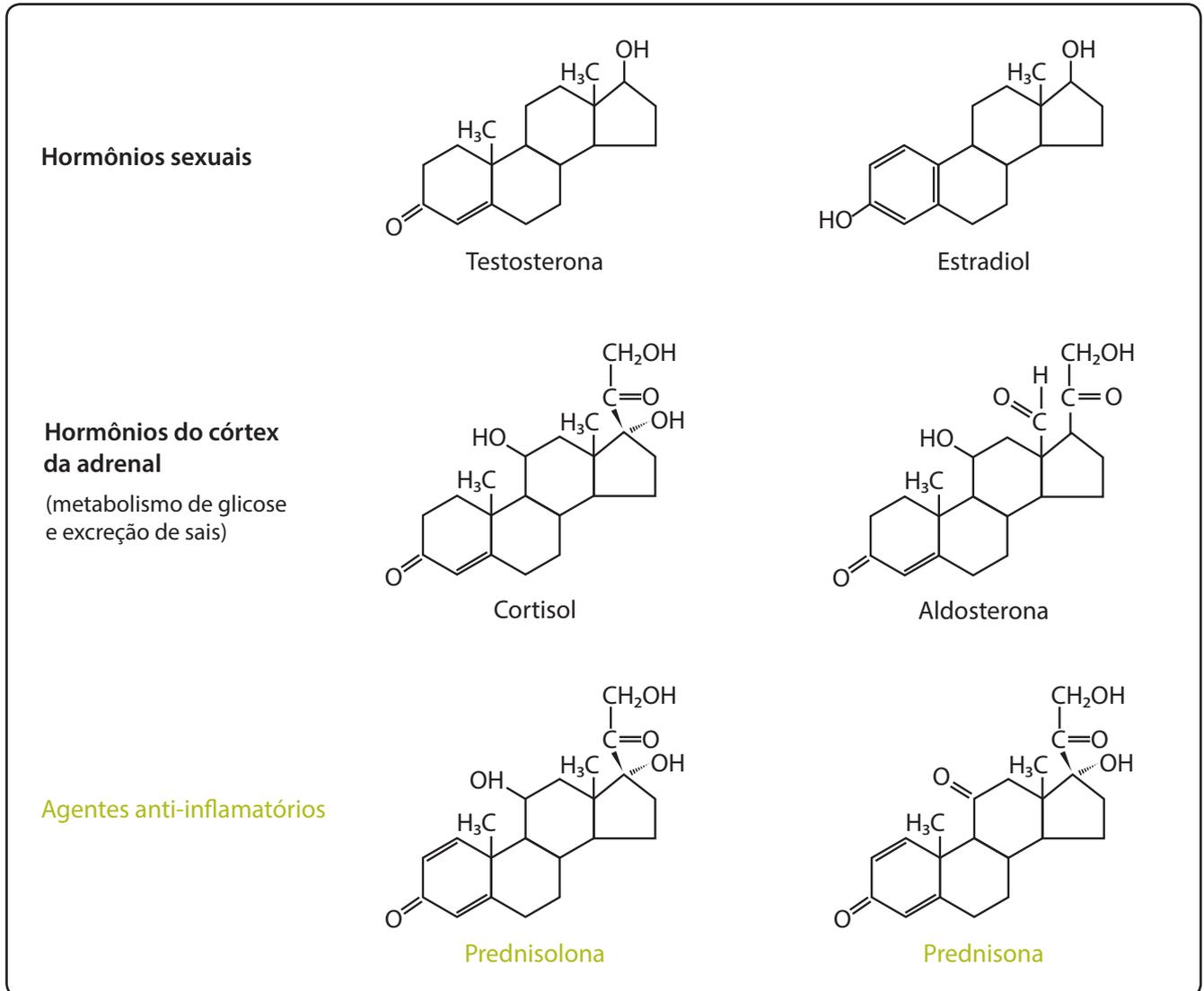


Figura 4.12 – Exemplos de hormônios estoides sexuais e do córtex da adrenal, e de agentes anti-inflamatórios.

No entanto, o colesterol é mais conhecido por seus efeitos nocivos à saúde, quando presente em altas concentrações no sangue. Ele está associado ao desenvolvimento da aterosclerose, que é a ocorrência de depósitos de lipídeos nos vasos sanguíneos, provocando doenças cardiovasculares.

4.4 Lipídeos e prostaglandinas

Um grupo de compostos derivados de ácidos graxos apresenta atividade biológica e inclui as chamadas **prostaglandinas** (PGAs). As PGAs foram inicialmente detectadas no fluido seminal, produzido pela próstata, daí a sua denominação. Mas, na verdade, as PGAs são amplamente distribuídas em diversos tecidos, onde apresentam uma ampla variedade de efeitos fisiológicos.

As PGAs são derivadas do ácido araquidônico, um ácido graxo poli-insaturado, com 20 átomos de carbono e quatro ligações duplas (C-20:4). A produção de PGAs a partir do seu precursor envolve várias etapas, as quais são catalisadas por enzimas específicas. Cada PGA apresenta uma estrutura cíclica, sendo que o número e a posição das ligações duplas e dos grupos que contêm oxigênio são diferentes entre elas.

Algumas funções das PGAs envolvem a participação no controle da pressão sanguínea, na estimulação da contração do músculo liso e na indução da resposta inflamatória.

A aspirina inibe a síntese das PGAs, especialmente em plaquetas sanguíneas, o que explica seus efeitos anti-inflamatórios e anti-térmicos. Alguns esteroides, como a cortisona, também têm efeito anti-inflamatório por inibir a síntese de PGAs.



Figura 4.13 – A membrana celular é formada por uma bicamada lipídica.

4.5 Membranas biológicas

As células estão envolvidas por uma membrana celular (ou membrana plasmática). As células eucarióticas também apresentam as suas organelas envolvidas por membranas, como o núcleo e a mitocôndria. As membranas não apenas delimitam as células e as separam do ambiente externo, mas também têm papel importante no transporte de íons e moléculas específicas para dentro e para fora delas.

A base molecular da estrutura da membrana celular é a bicamada lipídica (Figura 4.13). Os principais lipídeos que formam a bicamada são os fosfoacilgliceróis, cujo caráter anfipático explica o seu arranjo na estrutura da mesma. Outras classes de lipídeos

também são encontradas na membrana, como já discutimos anteriormente, que são os esfingofosfolídeos e os esfingoglicolídeos.

Nas membranas dos organismos eucariotos, os esteroides também são encontrados, sendo o colesterol nos animais e o fitoesterol nos vegetais.

O arranjo das moléculas anfipáticas na membrana respeita essa propriedade, uma vez que as cabeças polares entram em contato com a água (do meio externo e do meio intracelular), enquanto as caudas apolares ficam na parte interna da membrana. Essa organização depende de interações não covalentes entre esses lipídeos, como as interações hidrofóbicas da parte apolar das moléculas. Assim, a superfície da bicamada é polar e contém **grupos carregados**. Por outro lado, o interior de hidrocarboneto apolar da bicamada consiste em cadeias saturadas e insaturadas de AGs, além do anel esteroide (sistema de anéis fundidos) do colesterol (quando for o caso).

Tente identificar aqui quais seriam esses grupos carregados, com base no que estudamos sobre os lipídeos.

A camada externa e a camada interna da bicamada lipídica contêm misturas de lipídeos, mas sua composição é diferente, o que pode ser utilizado para distingui-las. As moléculas maiores, como os **gangliosídeos**, tendem a ocorrer na camada externa, enquanto as menores, como os fosfoacilgliceróis, são mais abundantes na camada interna (Tabela 4.4).

Tabela 4.4 – Exemplos de fosfoacilgliceróis.

Nome	Álcool	Estrutura	Carga líquida pH 7,0
Fosfatidiletanolamina	Fosfatidiletanolamina	$-\text{CH}_2-\text{CH}_3-\text{NH}_3$	0
Fosfatidilcolina ou lecitina	Colina	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)_3$	0
Fosfatidilserina	Serina	$-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{NH}_3$	- 1

Os hidrocarbonetos localizados na parte interior da bicamada são importantes para determinar se essa parte da bicamada pode ser organizada e rígida ou, ao contrário, mais desorganizada e fluida. A fluidez é uma propriedade importante da membrana celular e depende de sua composição, ou seja, depende da composição de ácidos graxos.

Ácidos graxos saturados apresentam uma organização linear das suas cadeias de hidrocarboneto, o que leva a uma maior

compactação das moléculas na bicamada e, conseqüentemente, a uma maior rigidez. Já os ácidos graxos insaturados, devido à presença de duplas ligações, apresentam uma dobra na sua cadeia de hidrocarboneto (ausente nos ácidos graxos saturados). As dobras quebram o ordenamento linear firme, ocasionando uma desordem estrutural, ou seja, o arranjo das moléculas, uma ao lado da outra, fica mais “aberto” ou menos compacto do que seria possível se somente cadeias retas ou lineares saturadas estivessem presentes. Assim, essa estrutura mais desorganizada, causada pela presença de ácidos graxos insaturados com ligações duplas (posição *cis*, portanto dobras), permite uma maior fluidez na bicamada. Essa fluidez é importante para, por exemplo, o trânsito de compostos via membrana plasmática. Os lipídeos na bicamada estão sempre em movimento, apresentando maior mobilidade nas bicamadas com maior fluidez do que naquelas mais rígidas.

O colesterol pode contribuir para o aumento da ordem ou do grau de compactação e, conseqüentemente, da rigidez. As membranas vegetais apresentam mais ácidos graxos poli-insaturados, por exemplo.

Nas membranas celulares encontramos, ainda, proteínas. Ambos os componentes, lipídico e proteico, contribuem para as propriedades das membranas.

As proteínas estão distribuídas (ou embebidas) ao longo da bicamada lipídica. O conteúdo proteico nas membranas celulares pode corresponder de 20 a 80% de seu peso. As proteínas podem estar associadas à bicamada lipídica de duas formas diferentes: como **proteínas periféricas**, na superfície da membrana celular, ou como **proteínas integrais**, inseridas dentro da bicamada (Figura 4.14).

As proteínas periféricas normalmente estão ligadas às “cabeças” carregadas (grupos carregados) da bicamada lipídica por interações polares e eletrostáticas ou, ainda, ambas. Podem ser removidas por tratamentos relativamente suaves, como pelo aumento da força iônica do meio.

As proteínas integrais, por estarem embebidas na bicamada lipídica, têm sua remoção mais difícil, exigindo condições drásticas, como tratamento com detergentes ou exposição a vibrações ultrassônicas (sonicação). Nesse caso, o estudo dessas proteínas acaba sendo

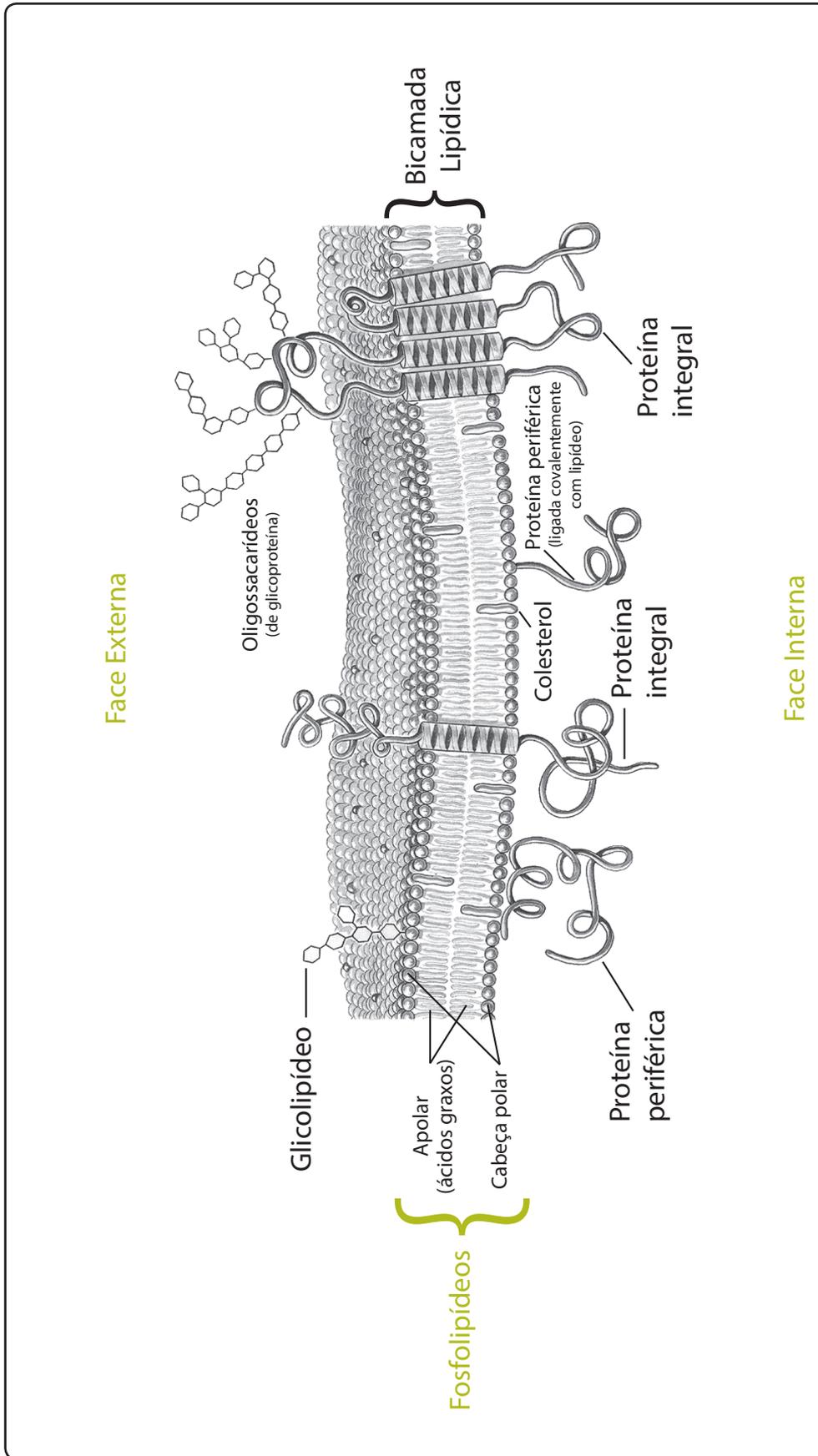


Figura 4.14 – Esquema da membrana celular, mostrando a bicamada lipídica e as proteínas de membrana na ligadas (proteínas periféricas) ou embebidas (proteínas integrais).

mais difícil, pois esses tratamentos frequentemente desnaturam as proteínas que, mesmo assim, permanecem ligadas aos lipídeos.

O modo de inserção das proteínas integrais na bicamada lipídica varia. Essa inserção pode ocorrer por interação hidrofóbica entre uma região em α -hélice da molécula proteica e as caudas de hidrocarbonetos dos ácidos graxos, presentes na parte interna da bicamada. Dessa maneira, a proteína fica “mergulhada” na bicamada. Uma segunda forma de inserção das proteínas integrais se dá através do seu ancoramento aos lipídeos da bicamada, através de ligações covalentes entre resíduos de cisteínas ou grupos amino livres na proteína e uma das várias âncoras lipídicas.

Além da função estrutural como fronteira e envoltório de todas as células e das organelas de eucariotos, as membranas são barreiras semipermeáveis ao fluxo de substâncias para dentro e para fora das células e das organelas. Assim, as proteínas presentes na membrana podem atuar como **proteínas transportadoras**.

Além disso, as proteínas de membrana podem funcionar como **proteínas receptoras (receptores)**, transferindo sinais extracelulares, como aqueles transportados por hormônios ou neurotransmissores, para as células. Algumas enzimas são firmemente ligadas à membrana, como aquelas envolvidas nas reações de oxidação aeróbica, encontradas junto à membrana mitocondrial. Nesse último caso, essas enzimas ou proteínas estão associadas à **função de catálise**.

A distribuição das proteínas nas camadas interna e externa varia bastante, ou seja, é assimétrica, assim como a distribuição dos lipídeos nessas camadas.

O modelo do **mosaico fluido** é o mais aceito para descrever a organização das membranas celulares. O termo **mosaico** faz referência a dois componentes que existem lado a lado de forma independente, sem formar outra substância de natureza intermediária ou diversa. O termo **fluido** se refere à fluidez que permite o movimento lateral dos lipídeos dentro de uma mesma camada. As proteínas flutuam na bicamada lipídica, movendo-se ao longo do plano da membrana.

A organização das membranas celulares pode ser evidenciada através de micrografias eletrônicas. Ainda na técnica de congelamento e fratura, é possível visualizar a bicamada lipídica separada

paralelamente à superfície da membrana. Essa separação ao longo da interface das duas camadas lipídicas expõe o interior da membrana, permitindo visualizar a inserção das proteínas integrais, as quais podem ser vistas como “montanhas” em uma camada, enquanto observamos “vales” na outra camada.

Resumo

Os lipídeos são biomoléculas extraídas das células utilizando-se solventes apolares, como hexano e metanol.

Os constituintes mais abundantes dos lipídeos são os ácidos graxos. A maior parte dos ácidos graxos contém entre 12 e 24 carbonos, podendo ser saturados ou insaturados.

Os ácidos graxos que ocorrem como ésteres ligados ao glicerol são apolares e são aqueles utilizados primariamente como reserva e, conseqüentemente, como combustível metabólico.

Os lipídeos polares, incluindo os fosfoacilgliceróis e os esfingofosfolídeos, podem se combinar com proteínas na constituição das membranas biológicas.

Os esteroides têm uma estrutura característica. O mais conhecido é o colesterol, o qual está presente nas membranas das células eucarióticas animais, além de ser um importante precursor de hormônios esteroides, sais biliares e outras biomoléculas.

Todas as células são delimitadas por uma membrana. A membrana celular é constituída de uma bicamada de lipídeos polares, na qual estão embebidas proteínas, que são associadas com as atividades dinâmicas, como os processos de transporte. O modelo do mosaico fluido descreve esse arranjo da membrana celular.

Bibliografia

CAMPBELL, M. K.; FARRELL, S.O. **Bioquímica**: Bioquímica básica. 5. ed. São Paulo: Thomson Learning, 2007. v. 1.

WOOD, E. J.; SMITH, C. A.; PICKERING, W. R. **Life chemistry and molecular biology**. London: Portland Press, 1997.

Carboidratos

Neste capítulo, estudaremos a estrutura básica das principais classes de carboidratos, suas propriedades e funções biológicas.

5.1 Características estruturais dos carboidratos

Ambos, tanto o termo **carboidrato**, como a sua sinonímia, **hidratos de carbono**, já nos dizem alguma coisa sobre a estrutura desse grupo de biomoléculas. Você facilmente associará essa denominação com a fórmula geral dos carboidratos: $C_n(H_2O)_n$. O carboidrato mais comumente representado com essa fórmula geral é a glicose — $C_6H_{12}O_6$.

Ao se observar a estrutura de uma molécula de carboidrato, fica mais fácil entender essa fórmula geral representativa, dado que praticamente todos os carbonos presentes na molécula estão ligados a uma hidroxila e a um hidrogênio. Por isso, os carboidratos tendem a ser hidrofílicos, a não ser quando polimerizados.

No entanto, a fórmula geral nos fornece uma informação limitada sobre a estrutura dessas moléculas, mesmo porque nem todos os carboidratos importantes biologicamente se encaixam perfeitamente

nessa representação geral. Muitos carboidratos presentes nos organismos vivos apresentam, por exemplo, nitrogênio na molécula.

A Figura 5.1 mostra a estrutura de dois carboidratos simples. Note que um dos carbonos (o carbono 1) apresenta um grupo aldeído em uma das moléculas representadas, enquanto a outra apresenta um grupo cetona em um dos carbonos (carbono 2). Assim, os carboidratos são mais bem definidos como **polihidroxialdeídos** ou **polihidroxicetonas**.

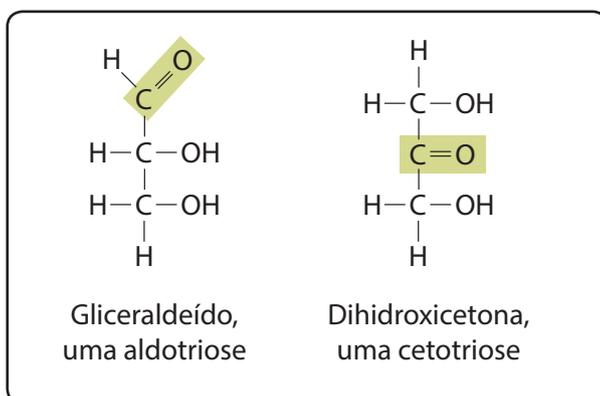


Figura 5.1 – Estrutura de dois carboidratos simples (polihidroxialdeído e polihidroxicetona).

5.2 Visão geral das funções biológicas dos carboidratos

Atualmente, o termo **carboidrato** é quase sempre associado à ideia de que exageros são frequentemente cometidos na nossa alimentação cotidiana. Do ponto de vista de uma dieta balanceada, a ingestão exagerada de carboidratos não pode ser vista como saudável. No entanto, devemos lembrar que os carboidratos constituem uma fonte de alimento abundante e relativamente barata para grande parte da população mundial, na forma, por exemplo, de **amido**, presente em grãos, raízes e tubérculos. Além disso, é importante ressaltar que o principal carboidrato do nosso corpo, a **glicose**, constitui a base do metabolismo energético, e é prontamente usada por todas as células e distribuída a todo o corpo através da circulação sanguínea.

Além do seu papel como **fonte de energia** para o metabolismo celular, os carboidratos podem ocorrer na forma de polímeros com **função estrutural**. Um exemplo de carboidrato que tem esse tipo de função é a celulose, constituinte da parede da célula vegetal.

Mais da metade de todo o carbono orgânico no nosso planeta está armazenada na forma de carboidrato, mais especificamente em apenas duas moléculas de carboidrato: o amido e a **celulose**, que são polímeros de um açúcar simples já mencionado, a glicose.

Os carboidratos são encontrados, ainda, na composição de nucleotídeos, os quais são constituintes dos ácidos nucleicos. Além disso, os nucleotídeos participam da estrutura de formas ativas de vitaminas hidrossolúveis.

A Figura 5.2 mostra exemplos de carboidratos importantes biologicamente e onde podem ser mais frequentemente encontrados.

Os carboidratos podem ainda ocorrer frequentemente ligados a proteínas ou a lipídeos. Nesse caso, eles participam do **reconhecimento** e da **interação** entre células.

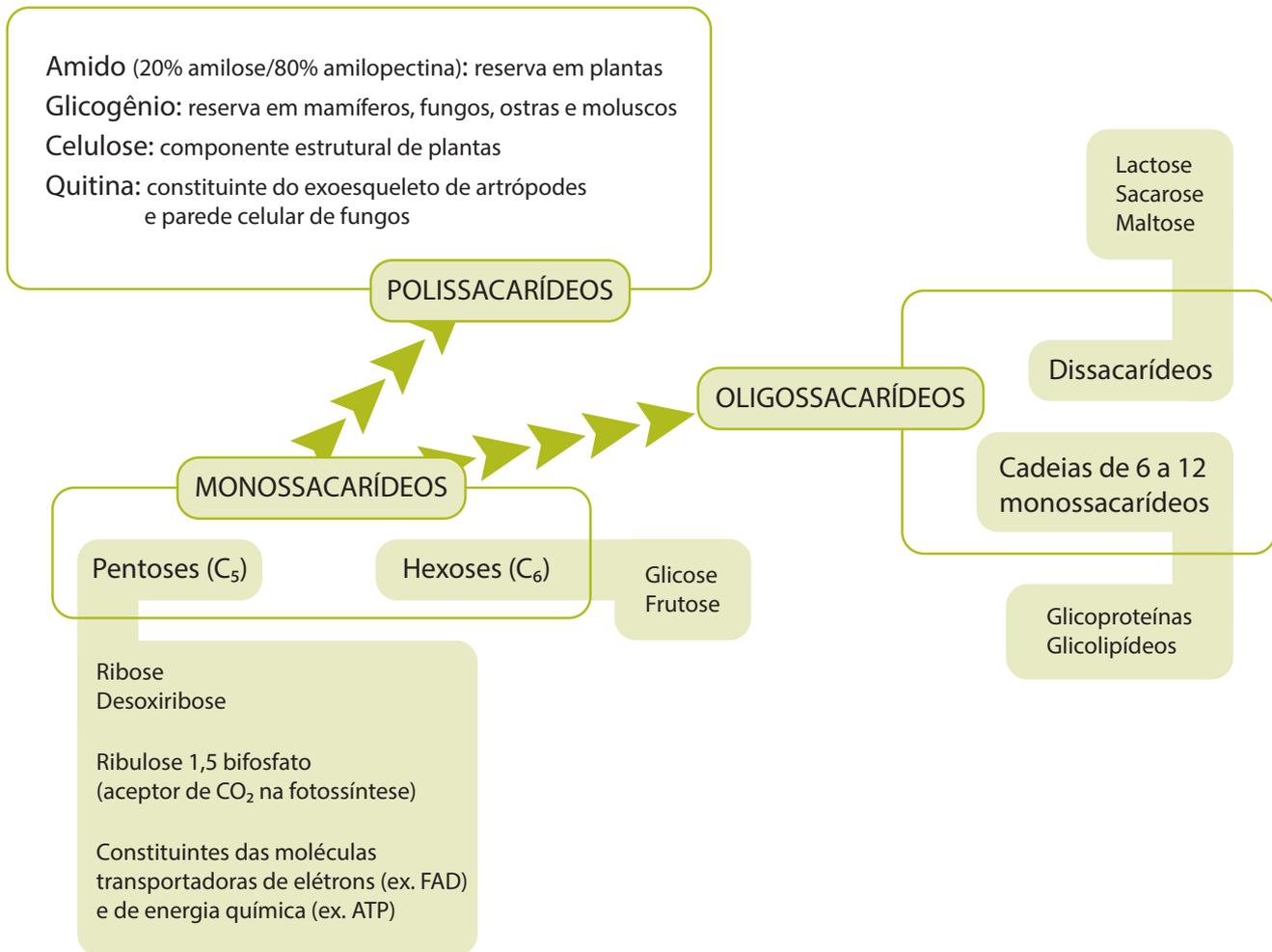


Figura 5.2 – Carboidratos de importância biológica.

5.3 Classificação dos carboidratos

5.3.1 Monossacarídeos

Os açúcares simples são chamados de **monossacarídeos** ou *oses*. Eles se diferenciam entre si pelo número de carbonos na cadeia e pela presença ou de um grupo aldeído ou de um grupo cetona. Assim, conforme mencionamos, os monossacarídeos podem ser polihidroxialdeídos ou polihidroxicetonas. Uma forma mais simples de designarmos é como **aldoses** ou **cetoses**, respectivamente.

Os monossacarídeos mais simples encontrados na natureza apresentam três átomos de carbono e são, conseqüentemente, denominados de **trioses**. A aldotriose (aldose com três átomos de carbono)

é o **gliceraldeído**, e a cetotriose (cetose com três átomos de carbono) correspondente é a **dihidroxicetona** (Figura 5.1). A Figura 5.3 mostra as aldoses com seis carbonos, denominadas aldohexoses.

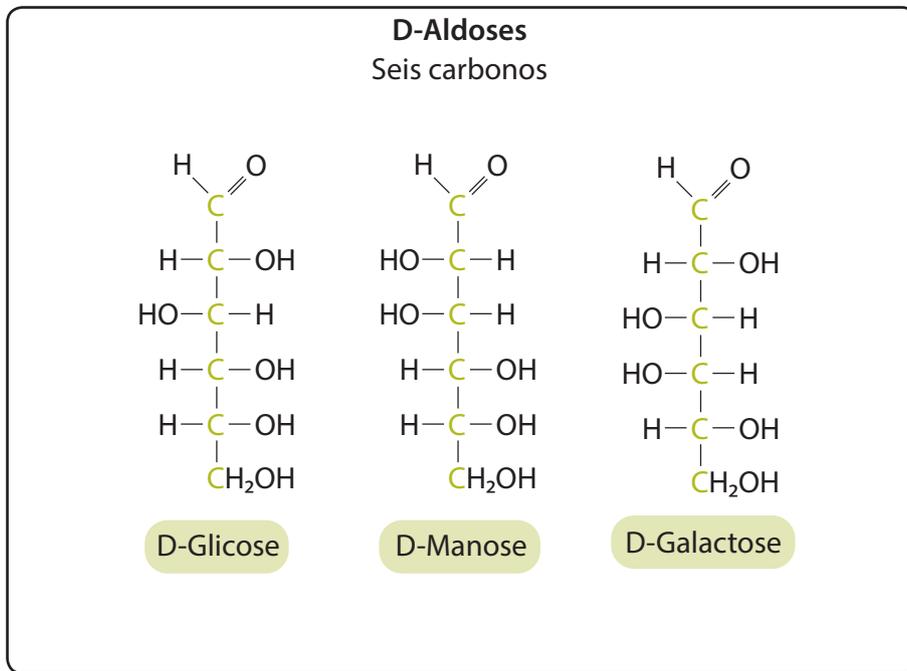


Figura 5.3 – Aldoses com seis carbonos ou aldohexoses.

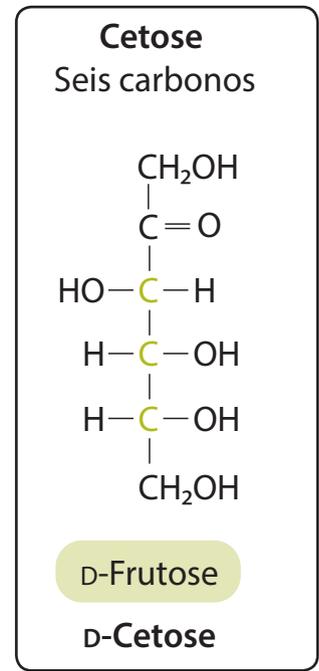


Figura 5.4 – Cetose com seis carbonos.

A cetose correspondente mais importante está mostrada na Figura 5.4. O carbono mais altamente oxidado, aquele envolvido no grupo aldeído, é, por convenção, designado como carbono 1 (C-1). Nas cetoses, o grupo cetona torna-se o carbono 2 (C-2). Os monossacarídeos mais comuns são as aldoses.

Ao observar a estrutura do gliceraldeído, aldose mais simples, note que ele apresenta um carbono quiral, o qual é fonte de isomeria ótica, como no caso dos aminoácidos. Assim, o gliceraldeído pode existir em duas formas isoméricas, sendo o isômero na forma *D*, o *D*-gliceraldeído, o mais importante do ponto de vista biológico. A isomeria é uma característica comum dos monossacarídeos. A designação da configuração como *L* ou *D* depende do arranjo do carbono quiral com o número mais alto, a partir do carbono 1. No caso da glicose e da frutose, esse é o carbono 5 (C-5). Muitas vezes, uma aldose se diferencia da outra somente na configuração em um carbono quiral. Nesse caso, elas são chamadas de **epímeros**. Um exemplo é a galactose, uma hexose epímero da glicose no carbono 2 (Figura 5.5).

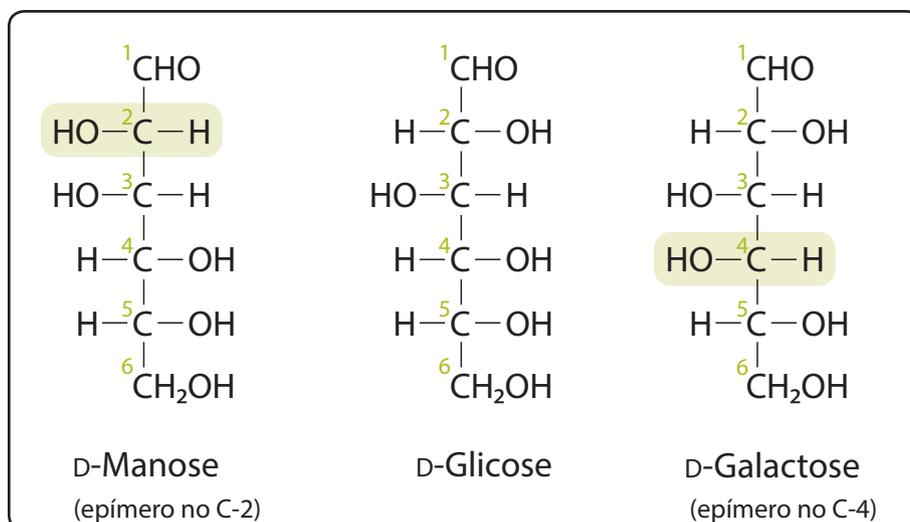


Figura 5.5 – Epímeros de glicose.

Os monossacarídeos, em particular aqueles com cinco ou seis átomos de carbono, existem normalmente como moléculas cíclicas, em vez de apresentar a forma de cadeia aberta. A formação dessa estrutura cíclica é resultado de uma reação intramolecular entre os grupos funcionais de carbonos distintos. Em uma aldohexose, essa reação ocorre entre o grupo aldeído do carbono 1 e a hidroxila do carbono 5 (formando um hemiacetal cíclico) (Figura 5.6). Uma consequência dessa reação é que o carbono carbonílico (carbono 1, C-1) torna-se um novo centro quiral, ou seja, torna-se um **carbono anomérico**.

Carbono anomérico

A maior parte dos monossacarídeos existe na forma cíclica, ou seja, como anéis de cinco ou seis elementos. A reação intramolecular, que leva à ciclização da molécula, envolve o grupo carbonila e dá origem a outro centro quiral, além daqueles já presentes na molécula. Os dois isômeros cíclicos possíveis, denominados de anômeros, são designados α ou β , de acordo com as duas configurações possíveis no átomo de carbono que era o carbono carbonílico na forma de cadeia aberta (como o carbono 1 de uma aldohexose).

Assim, a forma cíclica da aldohexose pode existir em duas formas distintas, em relação ao arranjo espacial dos substituintes livres do carbono 1 (C-1).

Como um modo de melhor compreender esse arranjo, podemos imaginar esses grupos se projetando em relação ao plano do anel. Por convenção, quando a hidroxila estiver escrita acima do

plano do anel, como se projetada para fora do plano de representação da molécula, essa é a forma α . Na posição oposta, designamos a forma da aldohexose como sendo β (Figura 5.6).

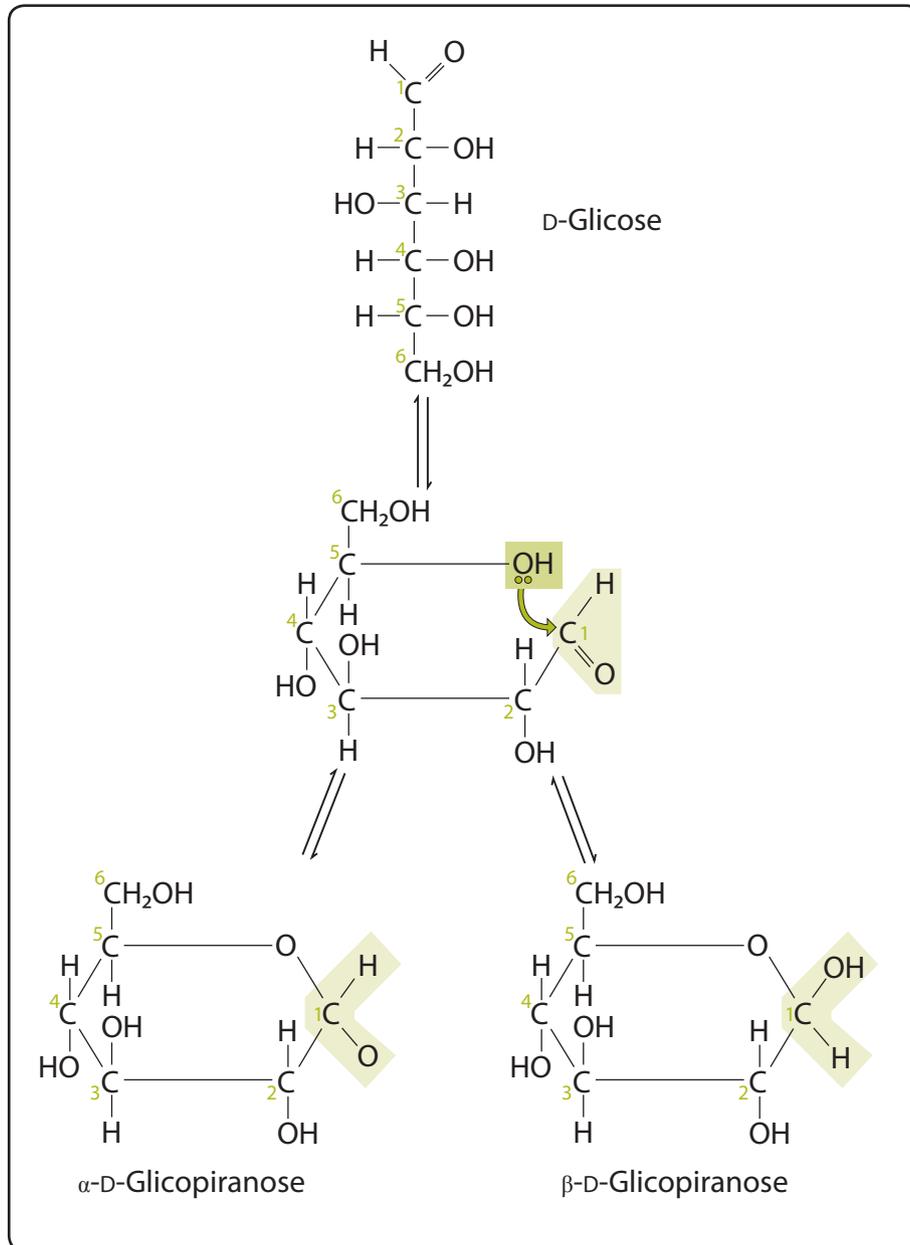


Figura 5.6 – Anômeros de uma aldohexose.

5.3.2 Oligossacarídeos

Os monossacarídeos podem ligar-se entre si para formar moléculas contendo algumas unidades de monossacarídeos unidas covalentemente, os **oligossacarídeos** (**oligo** = alguns).

Esse tipo de ligação covalente entre monossacarídeos ocorre quando o grupo hidroxila (ROH) ligado ao carbono anomérico de um deles reage com outra hidroxila (R'-OH) do outro monossacarídeo. Essa ligação é denominada de **ligação glicosídica** (Figura 5.7). Esse tipo de ligação glicosídica é chamada de **O-glicosídica**, uma vez que um açúcar está ligado a um átomo de oxigênio da outra molécula de açúcar.

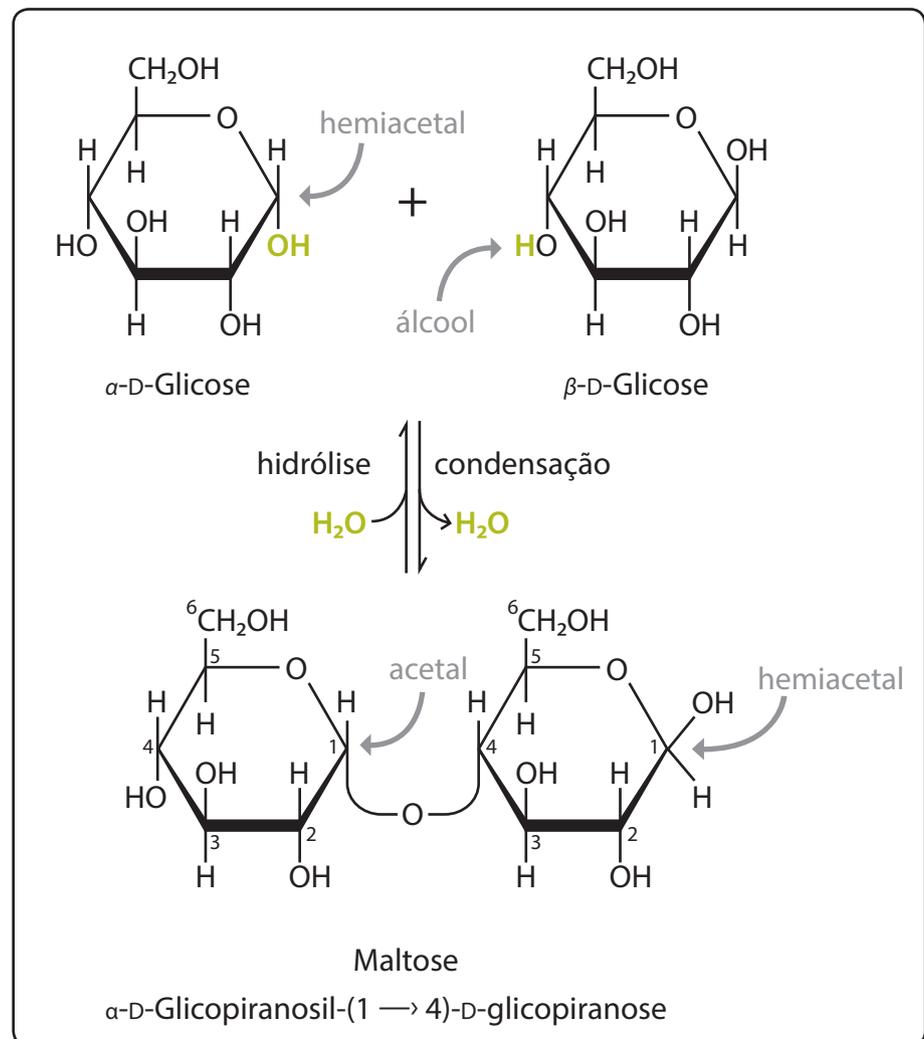


Figura 5.7 – Formação de uma ligação glicosídica entre duas moléculas de glicose.

As ligações glicosídicas podem assumir várias formas, uma vez que o carbono anomérico de um monossacarídeo pode estar na configuração α ou β . Além disso, a ligação pode envolver um grupo $-\text{OH}$ ligado a qualquer um dos carbonos do segundo monossacarídeo, como o carbono 4 (C-4) ou o carbono 6 (C-6). Várias combinações diferentes são encontradas na natureza. Por

isso, os grupos $-OH$ são enumerados de modo que possam ser distinguidos (esse sistema de enumeração segue aquele dos carbonos aos quais os grupos $-OH$ estão ligados), e a notação do tipo de configuração do carbono anomérico também deve ser mencionada aos se especificar a ligação glicosídica entre os monossacarídeos. Dessa maneira, podemos ter, por exemplo, uma ligação glicosídica entre duas moléculas de monossacarídeos na forma α (1 \rightarrow 4) ou na forma α (1 \rightarrow 6).

Os **dissacarídeos**, formados a partir da união de duas moléculas de monossacarídeos, são os oligossacarídeos mais simples que ocorrem na natureza. Na Figura 5.8 estão mostrados alguns exemplos, observe suas unidades componentes e as ligações glicosídicas entre eles.

Os **Oligossacarídeos** são importantes no reconhecimento e na adesão celular, ocorrendo principalmente como cadeias nas proteínas de membrana (glicoproteínas) e em glicolípídeos inseridos na bicamada de fosfolípídeos da membrana celular (Figura 5.9).

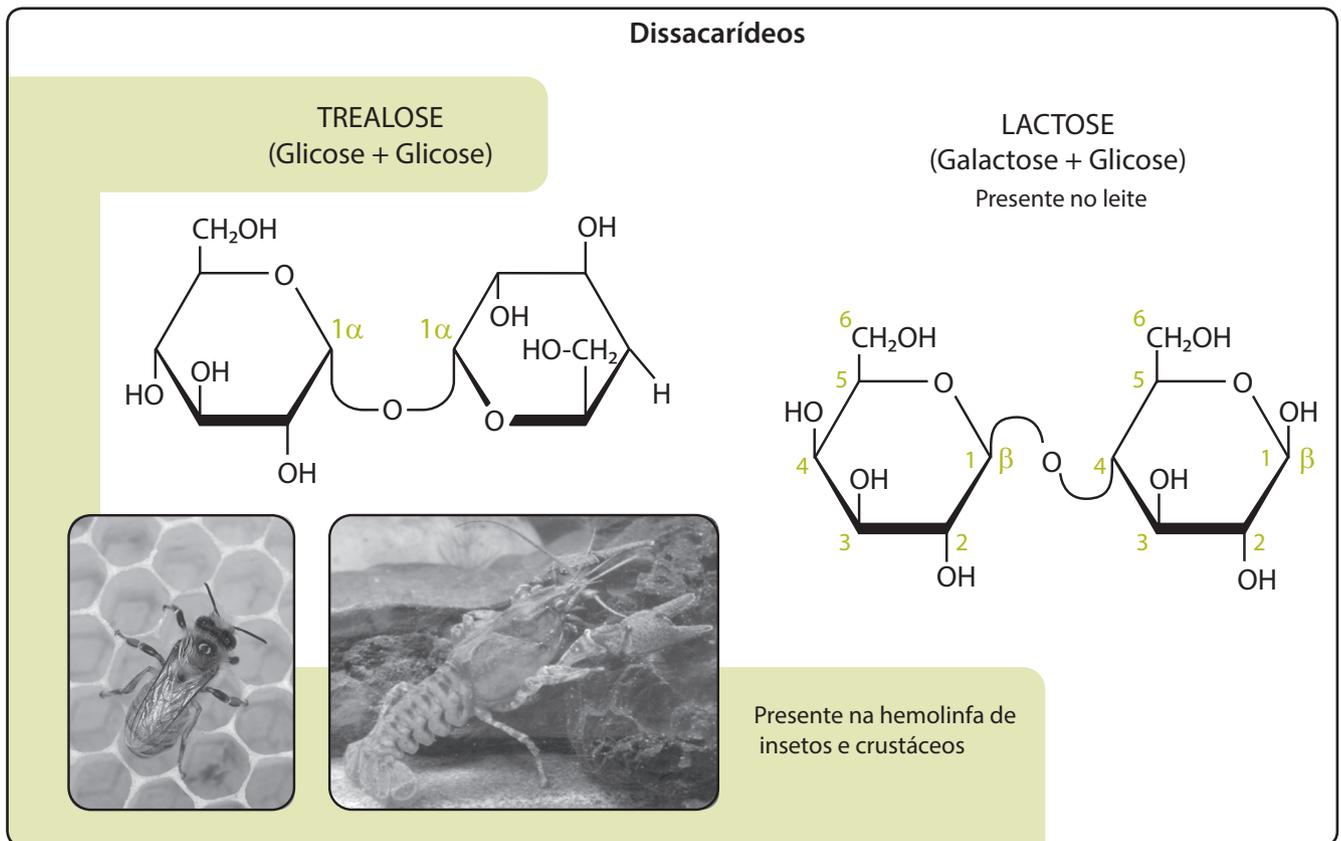


Figura 5.8 – Exemplos de dissacarídeos e suas ligações glicosídicas.

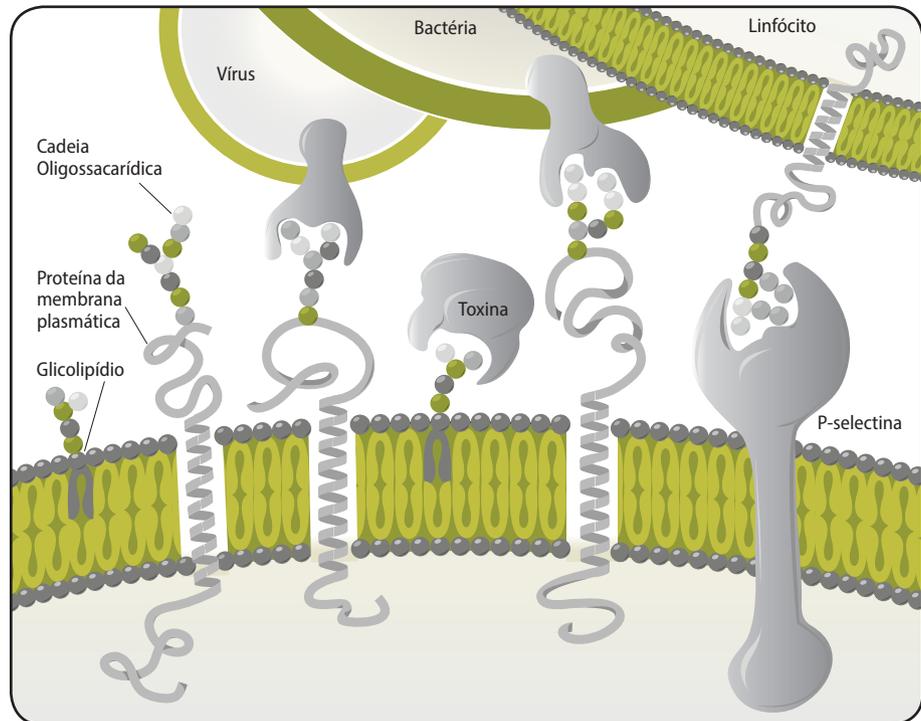


Figura 5.9 – Representação esquemática da interação entre cadeias de oligossacarídeos no reconhecimento e na adesão celular.

Oligossacarídeos de glicoproteínas na invasão de uma célula pelo vírus da gripe.

Confira na Figura 5.10 as seguinte etapas:

1. Entrada do vírus: o vírus da gripe geralmente entra no organismo através do trato respiratório. O vírus invade então uma célula, utilizando o sistema de síntese de proteínas da mesma para sintetizar proteínas virais e, conseqüentemente, fazer mais cópias de si mesmo. A célula libera os novos vírus que invadem outras células.
2. O organismo se defende: o sistema de defesa (sistema imune) tem várias estratégias de defesa, incluindo as chamadas células T killer, as quais atacam as células infectadas. Anticorpos podem, eventualmente, ser produzidos e podem neutralizar os vírus antes que estes infectem as células.
3. Uso de fármacos: Não há cura para a infecção viral, mas alguns fármacos podem diminuir a severidade

e a duração da gripe. O Tamiflu, por exemplo, inibe a enzima N, evitando a reprodução do vírus no interior da célula infectada.

4. O vírus pode sofrer mutação: no processo de replicação podem ocorrer alterações (mutações) no material genético viral. Isso leva a novos vírus que o sistema imune não mais reconhece.

Hemaglutinina H – Proteína que permite a ligação do vírus à célula hospedeira e a sua conseqüente infecção (funcionam como receptores para o ancoramento do vírus).

Neuraminidase N (Enzima N) – Enzima que permite a liberação das cópias virais produzidas no interior da célula infectada.

Anticorpos – Podem se ligar a Hemaglutinina H (receptores) bloqueando a entrada do vírus nas células sãs.

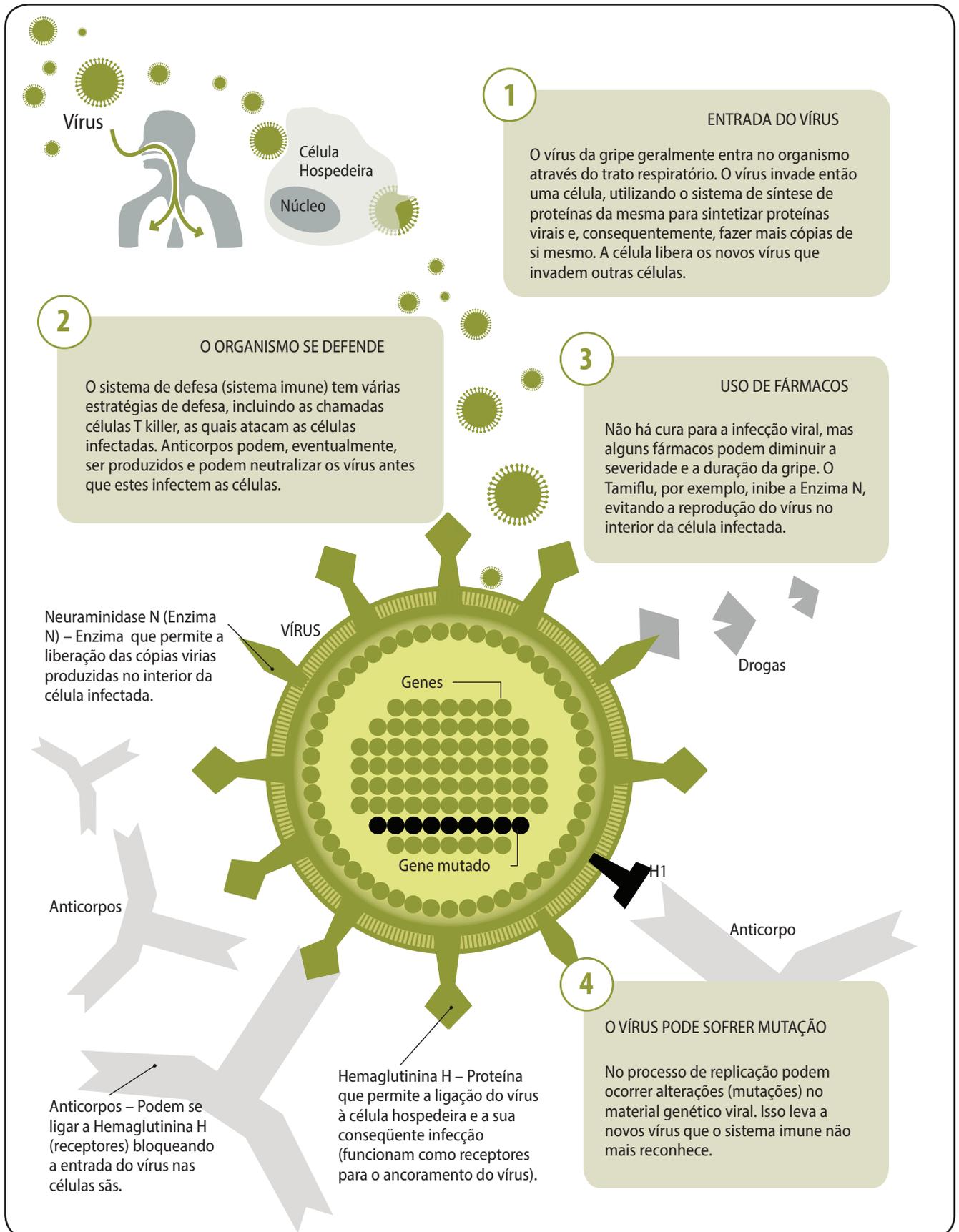


Figura 5.10. Fonte: Esquema e legendas de Center for BioMolecular Modeling – Milwaukee School of Engineering's. 2008. <http://cbm.msos.edu/includes/swf/HAAAnimation.swf>

Intolerância à lactose

A lactose é geralmente conhecida como o “açúcar do leite”, por ocorrer nele. Os seres humanos podem ser intolerantes ao leite ou seus derivados por várias razões. Em alguns adultos, a deficiência da enzima lactase (que degrada a lactose em galactose e glicose) causa um aumento no nível desse dissacarídeo quando da ingestão de leite ou seus derivados. Sem a enzima, a lactose não é degradada nos seus monossacarídeos componentes, de modo a permitir sua absorção nas vilosidades intestinais. A lactose acumulada pode ser degradada pela lactase de bactérias intestinais, produzindo gás hidrogênio, dióxido de carbono e ácidos orgânicos. Esses produtos da ação da lactase bacteriana causam problemas digestivos como inchaço e diarreia, assim como a presença da lactose não degradada. Essa doença afeta um décimo da população branca dos EUA, mas é mais comum em asiáticos, africano-americanos, latino-americanos e hispânicos. Os indivíduos com intolerância à lactose devem evitar sua ingestão. Alguns aditivos à base de lactase estão disponíveis comercialmente nos EUA, podendo, por exemplo, ser adicionados ao leite. Em alguns casos, mesmo que a lactose possa ser degradada, outros problemas podem ocorrer. Um deles envolve o metabolismo da galactose. Se a enzima que catalisa uma reação subsequente da via de metabolização não estiver presente, a galactose pode ser acumulada. Se houver um aumento no nível de galactose, a condição conhecida como galactosemia pode acontecer. Esse problema é especialmente sério em crianças e pode causar retardamento mental.

5.3.3 Polissacarídeos

Quando vários monossacarídeos são ligados entre si, o polímero resultante é denominado polissacarídeo. Os polissacarídeos podem ser formados a partir de unidades repetitivas de um único tipo de monossacarídeo (ou monômero) e, nesse caso, o polissacarídeo é chamado de **homopolissacarídeo**. Se o polímero é formado a partir de mais de um tipo de monossacarídeo, ele é denominado **heteropolissacarídeo**.

Quando há mais de um tipo de monômero, frequentemente, somente dois tipos de monossacarídeos ocorrem em uma sequência repetitiva. Assim, a caracterização completa de um dado polissacarídeo inclui a especificação dos monômeros constituintes e, se necessário, a sequência dos mesmos, além do tipo da ligação glicosídica presente. Veremos que o tipo da ligação glicosídica é uma característica fundamental para a função biológica dos polissacarídeos, os quais podem ter um **papel estrutural** ou como **reserva energética**.

Ainda quanto à sua estrutura, os polissacarídeos podem ser lineares ou ramificados (Figura 5.11).

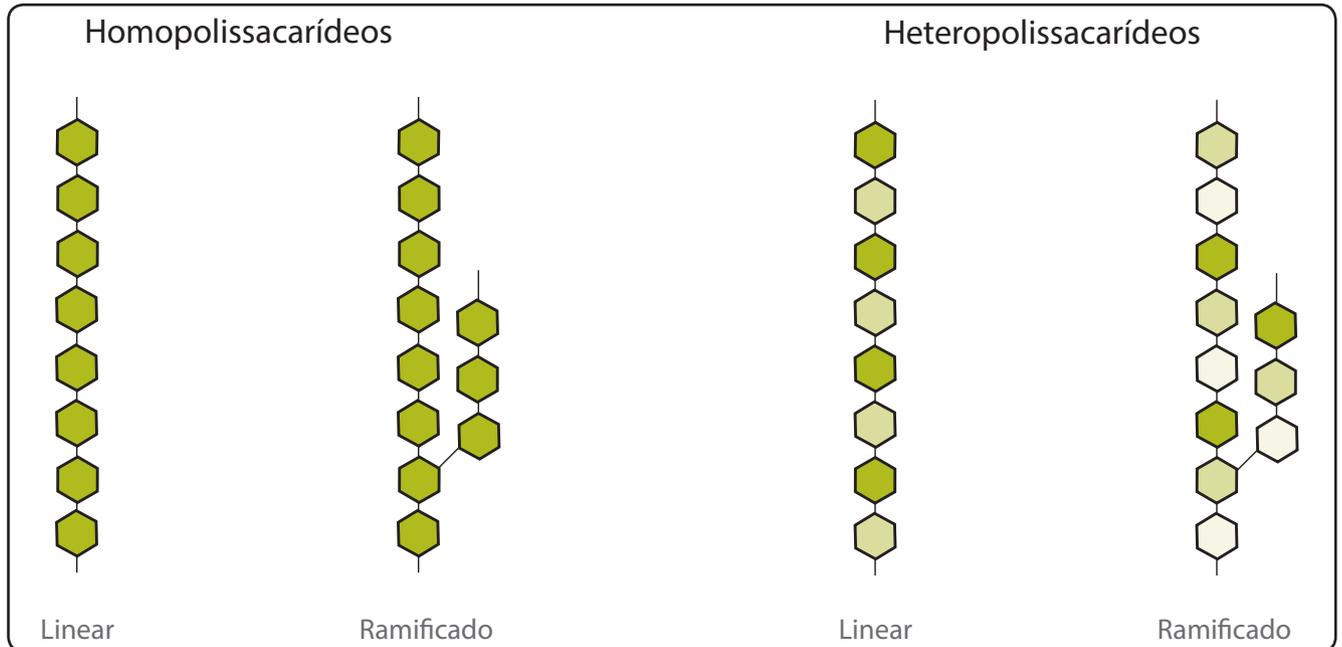


Figura 5.11 – Homo e heteropolissacarídeos lineares e ramificados.

5.3.4 Amido

O amido é um homopolissacarídeo formado de α -D-glicose, presente em células vegetais, armazenado geralmente como grânulos.

O amido possui uma porção linear, onde os resíduos de glicose estão unidos através de ligações α (1 \rightarrow 4). Essa porção do polímero, denominada **amilose**, é bastante hidrofílica e pode formar hélices com seis resíduos de glicose a sua volta. Essa é a base de um teste simples utilizado para a detecção de amido em alimentos, por exemplo, o qual está baseado na reação com lugol. O iodo (I_2) do reagente forma um complexo amido-iodo, alojando-se entre essas espirais, produzindo a cor azul-escuro intensa, característica do complexo.

Os tipos de amido podem ser distinguidos uns dos outros com base em outra porção do polímero, a **amilopectina**. A amilopectina é a porção ramificada do polímero, com ramificações formadas por ligações α (1 \rightarrow 6) ao longo da cadeia não ramificada de ligações α (1 \rightarrow 4) (Figura 5.12). O grau de ramificação é o que distingue os tipos de amido.

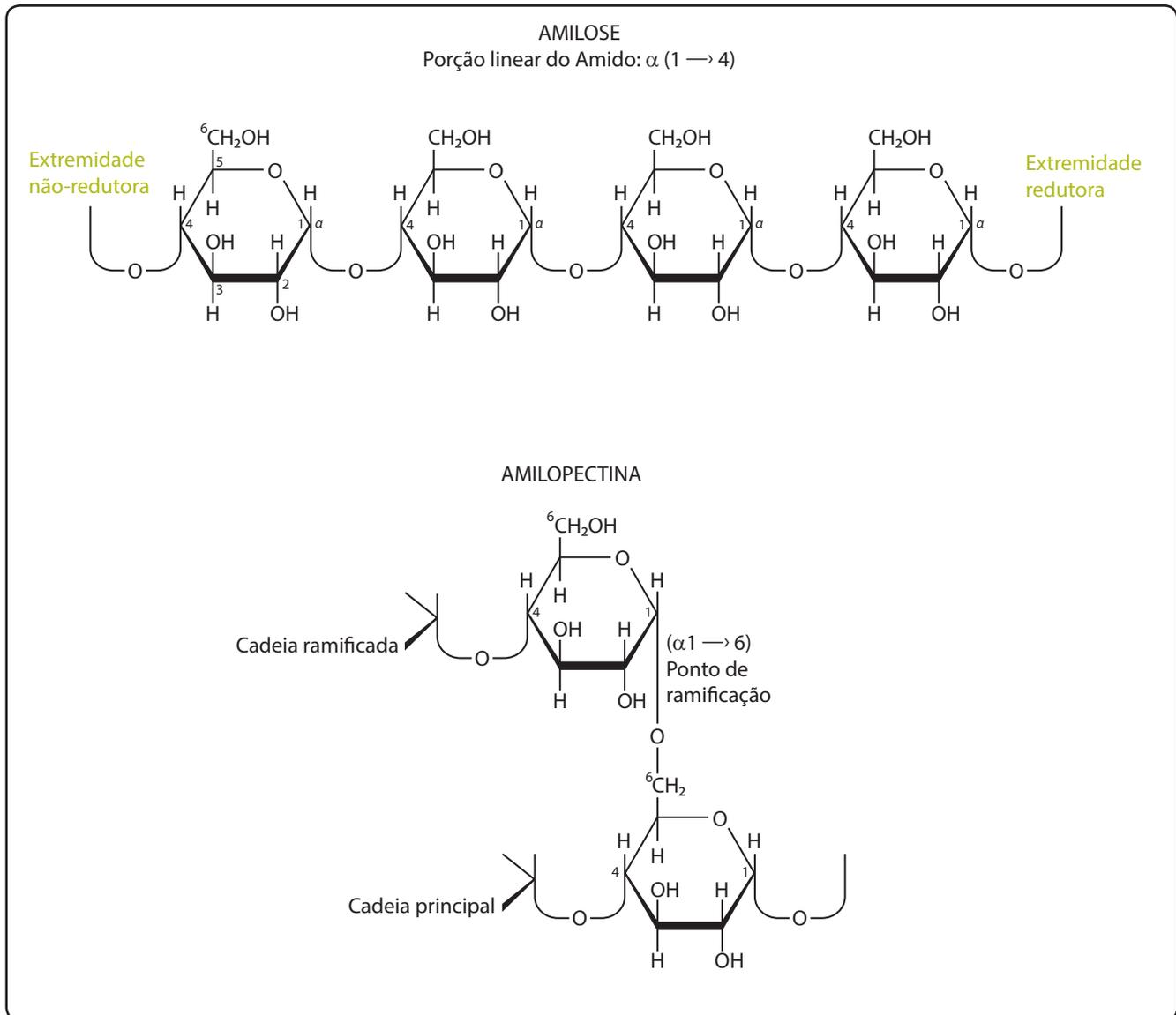


Figura 5.12 – Estruturas da amilose e da amilopectina da molécula de amido.

Digestão do amido

O amido é uma forma de armazenamento de glicose, que deve ser liberada quando houver necessidade. Essa liberação depende de enzimas que hidrolisam o amido (quebram as ligações glicosídicas entre as unidades de glicose). Tais enzimas são as

α -amilases e as β -amilases, que hidrolisam as ligações α (1 \rightarrow 4). A digestão da amilopectina, por sua vez, requer mais uma enzima, a enzima desramificadora, que hidrolisa as ligações α (1 \rightarrow 6) das ramificações. Essa ação combinada de enzimas leva à digestão completa do amido.

5.3.5 Glicogênio

Assim como o amido nos vegetais, existe um polissacarídeo de armazenamento ou reserva nos animais. O **glicogênio** é um polímero de cadeia ramificada, formado de unidades de α -D-glicose, sendo, sob esse aspecto, semelhante à porção ramificada do amido, a amilopectina. Desse modo, o glicogênio consiste em uma cadeia de glicoses unidas por ligação α ($1 \rightarrow 4$), com pontos de ramificação em α ($1 \rightarrow 6$). A diferença é que o glicogênio é muito mais ramificado, com pontos de ramificação ocorrendo aproximadamente a cada dez resíduos (no amido, esses pontos ocorrem aproximadamente a cada 25 resíduos). Um número maior de ramificações é importante para a função biológica do glicogênio, uma vez que torna a molécula mais solúvel em água (aumenta o seu caráter hidrofílico) e fornece potencialmente mais alvos para a ação da enzima que degrada o glicogênio (a glicogênio-fosforilase), em caso de necessidade de uma mobilização rápida de glicose.

Nas células animais, o glicogênio é encontrado em grânulos nas células musculares e hepáticas, semelhantes aos grânulos do amido nas células vegetais. Alguns atletas, especialmente aqueles que correm grandes distâncias, procuram aumentar sua reserva de glicogênio antes de uma corrida ingerindo grandes quantidades de carboidratos.

5.3.6 Celulose

A **celulose** é o principal componente estrutural dos vegetais. É um homopolissacarídeo linear formado de glicoses unidas através de ligações glicosídicas β ($1 \rightarrow 4$). As cadeias lineares assim formadas são ligadas entre si através de pontes ou ligações de hidrogênio, o que contribui ainda mais para a força mecânica dessas fibras vegetais.

As ligações nessa configuração β são comuns também em outros polímeros com papel estrutural. No caso da celulose, as enzimas chamadas de celulasas hidrolisam as ligações β entre as glicoses. Os animais são incapazes de utilizar a glicose contida na celulose por não possuírem essas enzimas. Dessa maneira, a celulose, para os animais, não tem valor energético, serve somente como fibra alimentar, contribuindo, por exemplo, para estimular o movimento peristáltico no intestino.

As celulasas são alvo de estudo em bactéria e fungos, devido ao seu potencial de aplicação biotecnológica. Micro-organismos (bactérias e fungos) que habitam o trato digestivo de insetos, como os cupins, e de ruminantes, como o boi, sintetizam celulasas e podem, conseqüentemente, hidrolisar a celulose. Isso explica os danos causados à madeira pelos cupins e a alimentação quase que exclusiva de pasto, no caso do gado.

Apesar das paredes celulares vegetais serem constituídas basicamente por celulose, um outro importante componente polissacarídeo também é encontrado, a **pectina**. A pectina é um polímero formado basicamente de ácido *D*-galacturônico, um derivado ácido da galactose, no qual o grupo hidroxila no carbono 6 (C-6) foi oxidado ao grupo carboxila. A pectina tem importância comercial na indústria de alimentos, como agente gelificante em geleias e iogurtes.

5.3.7 Quitina

A quitina é um outro exemplo de polissacarídeo com função estrutural, que possui considerável força mecânica. A quitina forma o exoesqueleto de invertebrados, como insetos e crustáceos, estando ainda presente na parede celular de fungos.

A quitina é um homopolissacarídeo linear formado da união de moléculas de *N*-acetil-*D*-glicosamina (Figura 5.13), através de ligações glicosídicas β (1 \rightarrow 4). A quitina apresenta, ainda, uma quantidade considerável de pontes de hidrogênio unindo os seus filamentos lineares, o que contribui para a sua resistência.

Outro exemplo de polissacarídeo é a agarose. A agarose, um agente gelificante obtido da parede celular de algumas espécies de algas vermelhas (Rodophyta), primariamente do gênero *Gelidium* e *Gracilaria*, é um polissacarídeo linear formado de subunidades repetitivas de galactose e um derivado sulfatado.

A agarose é usada para fins culinários, principalmente na Ásia, na indústria alimentícia em geral, como agente espessante para sopas e sorvetes. É ainda bastante utilizada em laboratórios, na formulação de meios de cultura para Microbiologia e para a Biotecnologia Vegetal.

Outro exemplo de polissacarídeo é a agarose. A agarose, um agente gelificante obtido da parede celular de algumas espécies de algas vermelhas (Rodophyta), primariamente do gênero *Gelidium* e *Gracilaria*, é um polissacarídeo linear formado de subunidades repetitivas de galactose e um derivado sulfatado.

A agarose é usada para fins culinários, principalmente na Ásia, na indústria alimentícia em geral, como agente espessante para sopas e sorvetes. É ainda bastante utilizada em laboratórios, na formulação de meios de cultura para Microbiologia e para a Biotecnologia Vegetal.

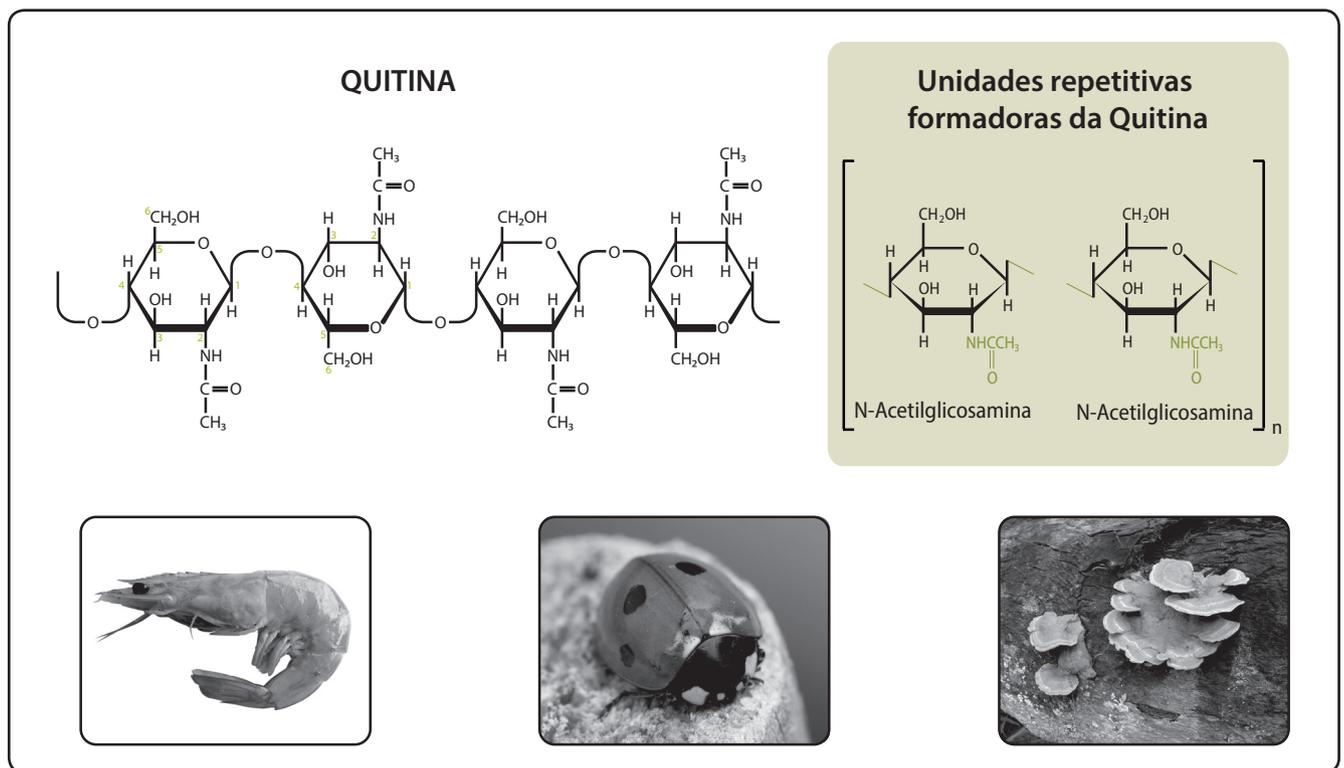


Figura 5.13 – Estrutura da quitina e exemplos de sua ocorrência na natureza.

5.4 Derivados de carboidratos

Alguns compostos derivados de carboidratos podem ser simples ou complexos. Os derivados mais simples são formados a partir de um monossacarídeo, como alguns alcoóis, por exemplo, o glicerol e o sorbitol.

Um outro exemplo é o ácido ascórbico, ou seja, a vitamina C, uma importante vitamina hidrossolúvel.

Vitamina C

Quando na forma cíclica, a oxidação de um aldose leva à produção de uma lactona (um éster cíclico, ligando o grupo carboxila e um dos grupos alcoólicos do açúcar). Uma lactona importante é a vitamina C, ou ácido ascórbico. A maioria dos animais pode sintetizar a vitamina C, com exceção de cobaias e primatas, incluindo os seres humanos. Para estes, o ácido ascórbico é uma vitamina e deve ser adquirida em sua dieta. Sua carência pode levar a uma doença conhecida como escorbuto. Ela está relacionada a defeitos na estrutura do colágeno, o que traz fragilidade aos capilares e lesões na pele. O ácido ascórbico é essencial para a atividade da enzima que hidroxila a prolina (enzima prolina hidroxilase). Essa doença era comumente relatada no século XVIII pela marinha inglesa como decorrência da ausência de alimentos frescos durante as longas viagens marítimas, antes da introdução de frutas cítricas na dieta dos marinheiros. Uma boa fonte de vitamina C é a acerola. A vitamina C é lábil, podendo ser facilmente oxidada pelo ar, o que é seguido pela hidrólise ou quebra da ligação éster e pela perda da atividade como vitamina.

Derivados mais complexos envolvem a formação de cadeias contendo aminoaçúcares e derivados ácidos ou sulfatados de monossacarídeos. Esses derivados complexos são denominados **glicosaminoglicanas** (anteriormente chamadas de mucopolissacarídeos) e constituem um tipo de polissacarídeo baseado em um dissacarídeo repetitivo, sendo um deles um aminoaçúcar e o outro carregado (em função do grupo ácido ou sulfatado) no pH 7,0. Os resíduos sulfatados das glicosaminoglicanas, sendo hidrofílicos e carregados, atraem água e íons de carga oposta. As glicosaminoglicanas, cuja estrutura pode ser vista na Figura 5.14, estão envolvidas em uma ampla variedade de funções, estando presentes em diversos tecidos celulares. As glicosaminoglicanas são importantes componentes do tecido conectivo, do fluido sinovial (fluido lubrificante das juntas), da cartilagem e do tecido ósseo. A heparina, um polissacarídeo complexo sulfatado, é um outro exemplo de glicosaminoglicana. A heparina atua como anticoagulante natural e, dessa forma, tem função de proteção, uma vez que atua prevenindo a formação de coágulos de sangue.

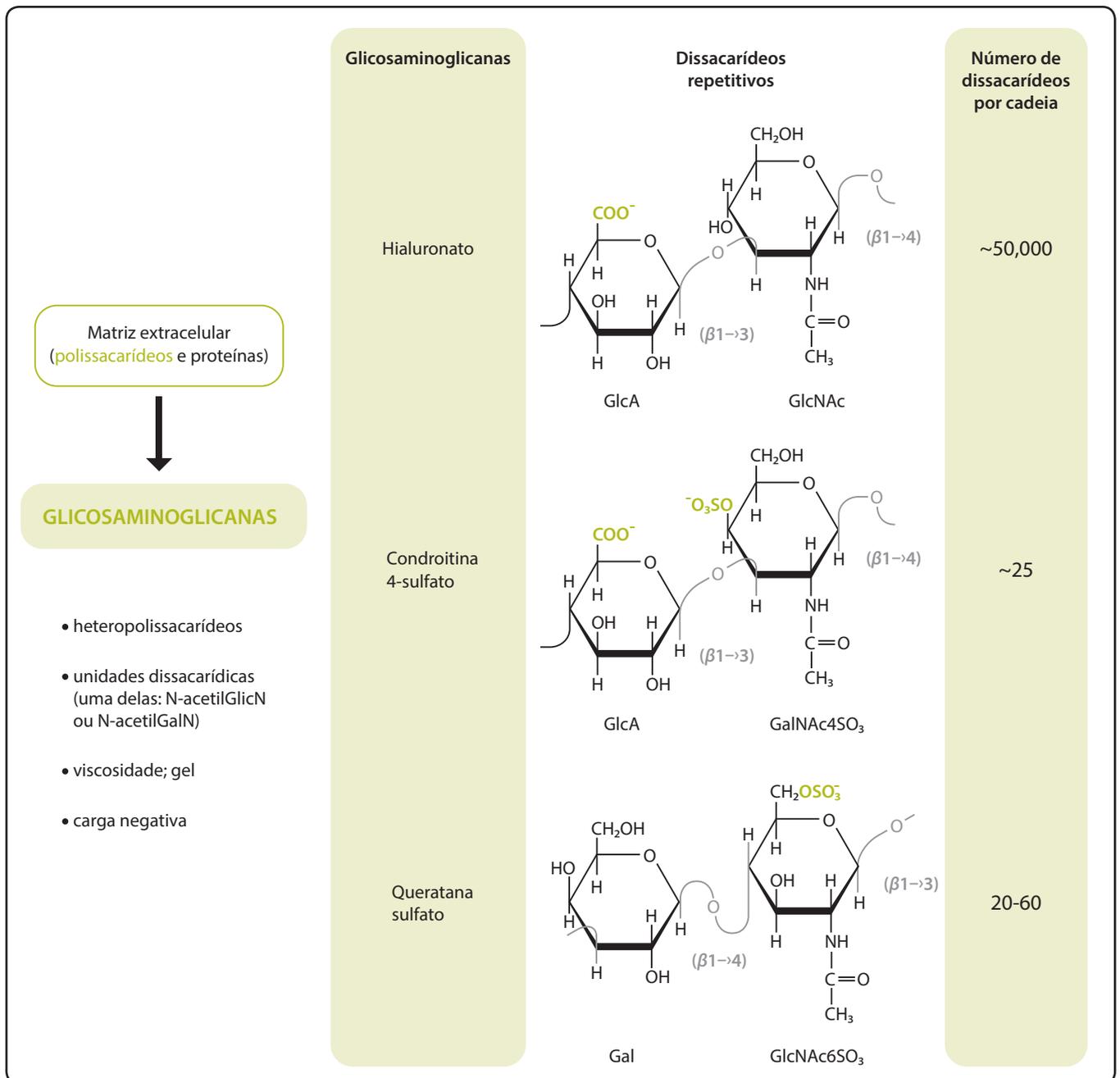


Figura 5.14 – Exemplos e estruturas de algumas glicosaminoglicanas.

5.5 Peptideoglicana

Uma característica da parede celular bacteriana é que seu principal componente são os heteropolissacarídeos. O polissacarídeo presente é formado por uma unidade repetitiva, constituída de dois resíduos de monossacarídeos unidos por ligações glicosídicas β (1 \rightarrow 4). Um dos monômeros é a *N*-acetil-*D*-glicosamina

e o outro é o ácido *N*-acetilmurâmico. A estrutura desse último difere da *N*-acetil-*D*-glicosamina pela substituição do grupo hidroxila (-OH) no carbono 3 pela cadeia lateral de ácido láctico [-O-CH(CH₃)-COOH]. O ácido *N*-acetilmurâmico é encontrado somente em paredes celulares de procariotos.

As cadeias desse heteropolissacarídeo são mantidas unidas através de ligações cruzadas, formadas por pequenos peptídeos. Essa estrutura, resultante das ligações cruzadas do polissacarídeo por peptídeos, é a **peptideoglicana**, nome dado porque contém componentes tanto de natureza peptídica, como de carboidratos. Um esquema do arranjo estrutural de uma peptideoglicana está ilustrado na Figura 5.15. Note que nos peptídeos envolvidos nas ligações cruzadas da peptideoglicana ocorrem *D*-aminoácidos.

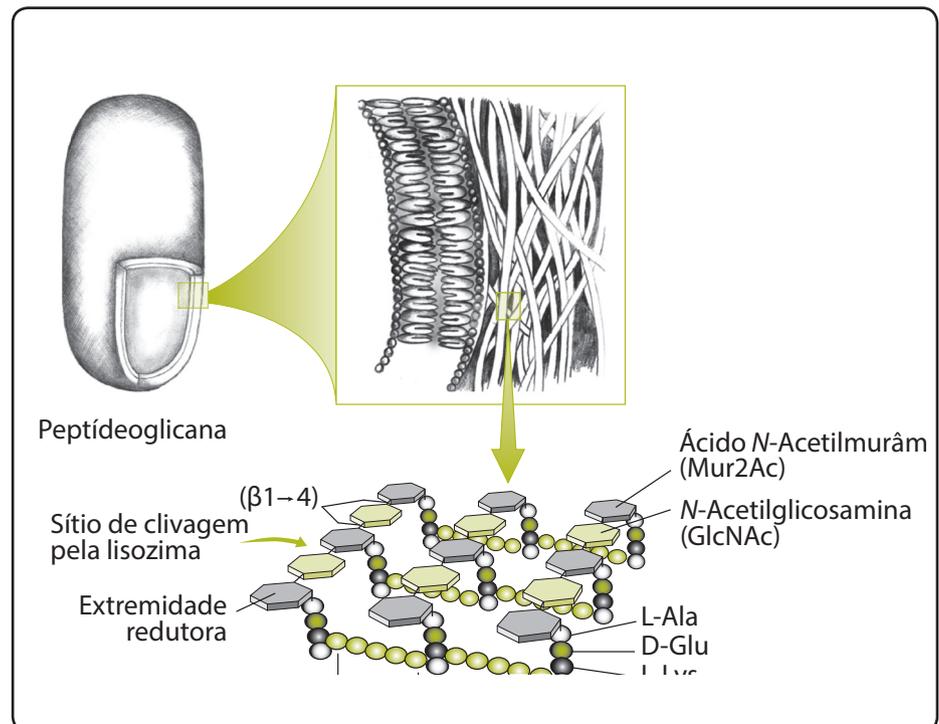


Figura 5.15 – Arranjo estrutural de uma peptideoglicana.

Resumo

Os carboidratos são compostos que ocorrem naturalmente, cujos grupos funcionais são aldeídos ou cetonas, além de múltiplas hidroxilas.

Os carboidratos têm diferentes funções biológicas, entre elas, papel estrutural, reserva energética, reconhecimento e comunicação celular.

Em solução aquosa, os carboidratos, a partir de reações intramoleculares de um grupo aldeído ou cetona com um grupo hidroxila, formam uma estrutura cíclica de cinco ou seis elementos.

A ligação entre monossacarídeos para formar oligo ou polissacarídeos é a ligação *O*-glicosídica.

Os carboidratos mais abundantes na natureza são os polissacarídeos amido, glicogênio e celulose.

Nas glicoproteínas, os carboidratos aparecem ligados covalentemente às proteínas, através de resíduos de serina, treonina ou asparagina. As glicoproteínas estão envolvidas em muitas funções biológicas, incluindo proteção imunológica, reconhecimento célula-célula e interação hospedeiro-patógeno.

Bibliografia

CAMPBELL, M. K.; FARRELL, S.O. **Bioquímica**: Bioquímica básica. 5. ed. São Paulo: Thomson Learning, 2007. v. 1.

NELSON, D. L.; COX, M. M. L. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Savier, 2005.

Ácidos Nucleicos – Estrutura e Função

Neste capítulo, estudaremos a estrutura do DNA e do RNA, destacando suas semelhanças e suas diferenças, bem como as características e funções biológicas do último. Além disso, vamos estudar os níveis de organização estrutural dos ácidos nucleicos.

6.1 O que são os ácidos nucleicos?

Os ácidos nucleicos encontrados nos organismos vivos são o ácido ribonucleico (ARN, ou RNA, do inglês, *ribonucleic acid*) e o ácido desoxirribonucleico (ADN, ou DNA, do inglês, *deoxyribonucleic acid*). Eles são ácidos porque são carregados negativamente no pH 7,0 e podem formar sais de sódio.

Sua estrutura e real importância ou papel biológico só emergiram no início dos anos 1950, particularmente a partir dos estudos sobre o DNA realizados por Watson e Crick. Esses estudos, que elucidaram a estrutura da molécula, também forneceram evidências de que o DNA era capaz de realizar duas funções fundamentais para qualquer organismo vivo: uma delas é ser portador da informação molecular que define as características de um dado ser vivo; a outra é ser capaz de duplicar essa informação de forma precisa, de modo que, ao ocorrer a divisão de uma célula, cada uma das células-filhas conterá a mesma informação presente na célula parental que a originou.

A compreensão do caráter informacional dos ácidos nucleicos representou um marco de grande impacto na biologia, estabelecendo novas fronteiras na investigação dos processos moleculares vitais dos seres vivos. A partir da década de 1980, várias metodologias foram sendo desenvolvidas, de forma a permitir a manipulação da informação contida nessas macromoléculas, entre elas a engenharia genética e a terapia gênica. Essa parte da bioquímica é denominada de biologia molecular.

6.2 Unidades fundamentais dos ácidos nucleicos

A análise química da composição dos ácidos nucleicos revela que essas macromoléculas são formadas por fosfato, dois tipos de monossacarídeos (ribose ou desoxirribose) e quatro tipos diferentes de bases orgânicas nitrogenadas.

Esses componentes estão ligados covalentemente de modo a constituir as unidades fundamentais que dão origem aos ácidos nucleicos. Assim, tanto o DNA como o RNA são polímeros formados por milhares de unidades fundamentais, denominadas nucleotídeos, ou seja, os ácidos nucleicos são polinucleotídeos.

Desse modo, um nucleotídeo contém um monossacarídeo, uma base nitrogenada e um grupo fosfato.

Quando nos referimos aos ácidos nucleicos, o termo base não se refere a um composto alcalino, como o NaOH, mas a um composto aromático nitrogenado que apresenta um ou dois anéis (anéis heterocíclicos).

Os nucleotídeos podem ser separados em duas famílias: os ribonucleotídeos e os desoxirribonucleotídeos, dependendo se apresentam, respectivamente, ribose ou desoxirribose na sua composição (aproveite para recordar a estrutura desses monossacarídeos que, nos ácidos nucleicos, ocorrem como β -D-pentoses) (Figura 6.1).

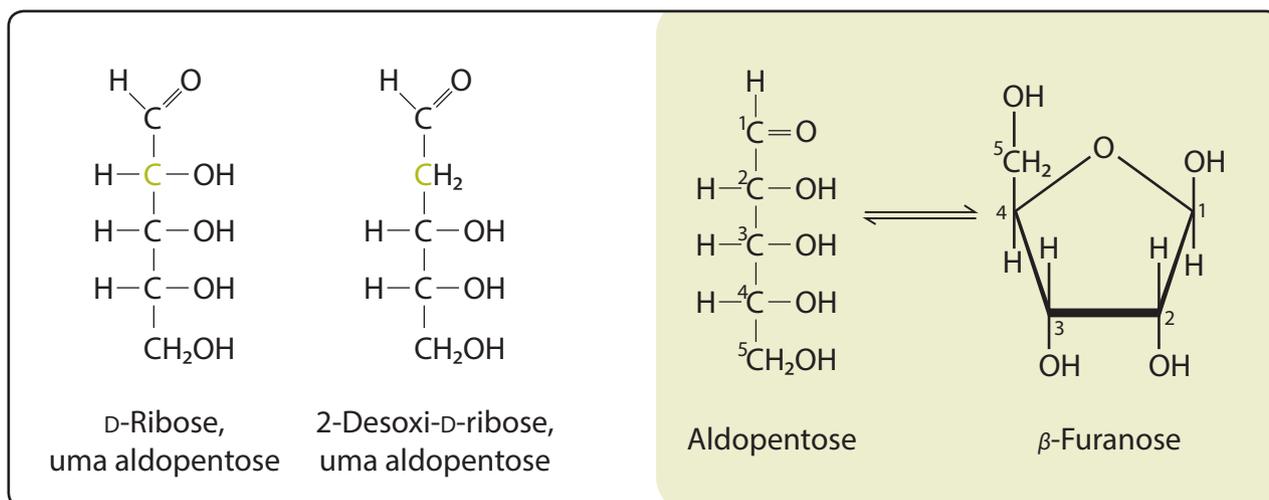


Figura 6.1 – Estrutura da ribose e da desoxirribose. Organização linear e cíclica de uma aldopentose.

Note que a diferença estrutural entre a ribose e a desoxirribose, ambas aldopentoses, está no carbono 2, ou seja, no caso da desoxirribose, um hidrogênio substitui a hidroxila encontrada no mesmo carbono 2 na ribose (lembre-se que a numeração dos carbonos tem início no carbono com a função aldeído, numerado como carbono 1). Na figura 6.1 você também pode observar a forma cíclica usual da aldopentose ribose. Aproveite e esquematize como seria o carbono 2 na forma cíclica da aldopentose desoxirribose.

Assim, o tipo de monossacarídeo diferencia os dois tipos de ácidos nucleicos, sendo o RNA constituído por ribonucleotídeos, e o DNA, por desoxirribonucleotídeos. Note que essa diferença estrutural está diretamente relacionada à nomenclatura utilizada para designar os dois tipos de ácidos nucleicos.

As bases nitrogenadas presentes nos ácidos nucleicos (também chamadas de nucleobases) são de dois tipos: as bases púricas (derivadas da purina, composto aromático de dois anéis), e as bases pirimídicas (derivadas da pirimidina, composto aromático de um único anel). Os substituintes presentes nos anéis de purina e de pirimidina distinguem as bases nitrogenadas entre si (Figura 6.2).

Além disso, a ocorrência das bases nitrogenadas é responsável pela segunda diferença estrutural entre o DNA e o RNA. Como pode ser visto na Figura 6.2, no caso das nucleobases pirimídicas, a citosina é encontrada tanto no RNA quanto no DNA, enquanto a uracila ocorre apenas no RNA. No DNA, a uracila é substituída pela timina. Em poucos casos, no entanto, a timina pode ser encontrada em alguns tipos de RNAs. Além das cinco bases nitrogenadas comumente encontradas nos ácidos nucleicos, algumas bases não usuais podem ser localizadas. Entre elas, estão as bases modificadas por metilação, como a 5-metilcitosina. Bases modificadas são frequentemente encontradas em um tipo de RNA, o RNA transportador (tRNA).

Neste ponto, ainda nos resta uma questão central a ser respondida: **como um monossacarídeo, uma base nitrogenada e um fosfato estão covalentemente ligados entre si para formar um nucleotídeo?** Aqui, podemos usar uma breve analogia para facilitar nossa compreensão. Imagine que um nucleotídeo seja uma

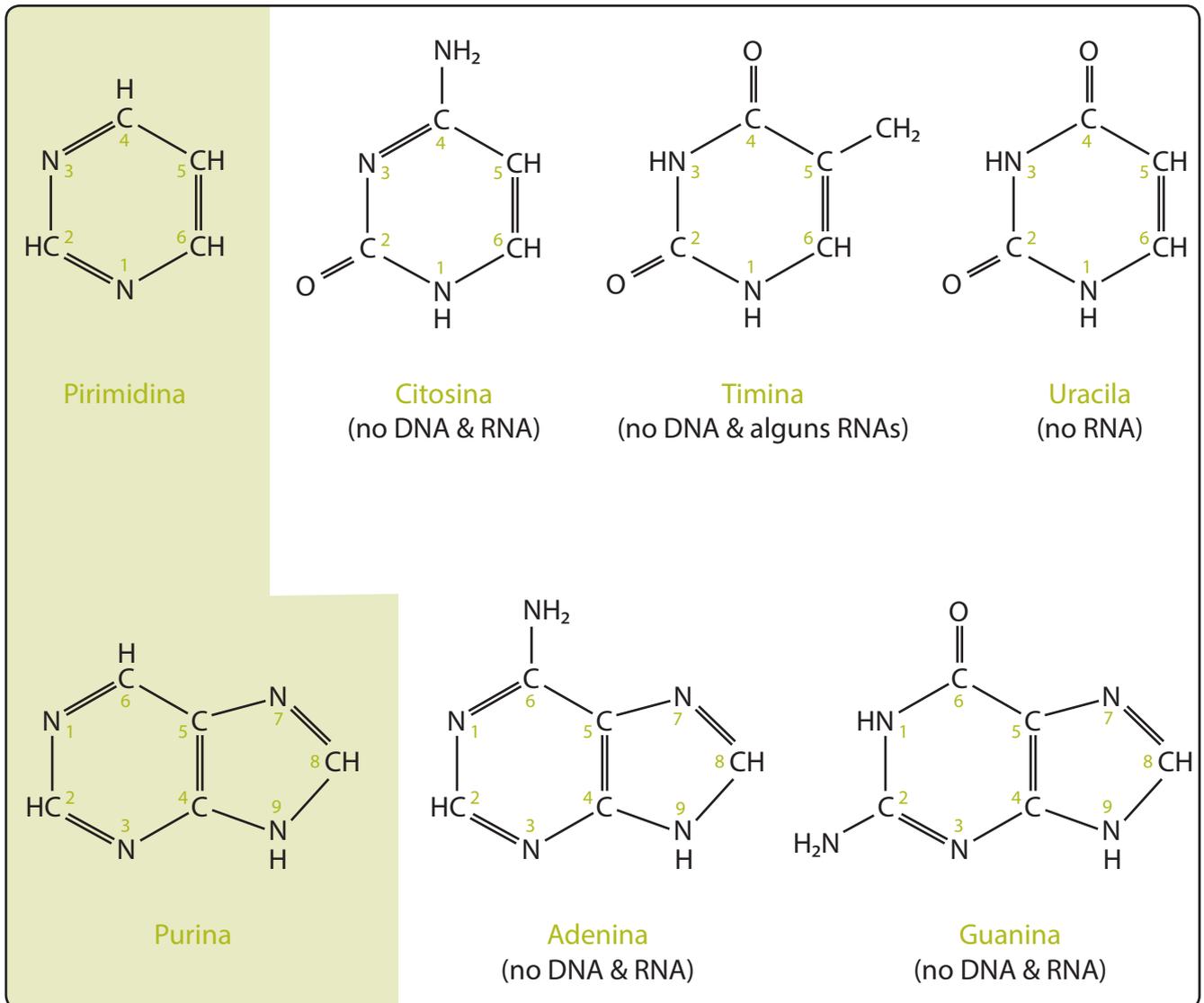


Figura 6.2 – Estrutura das bases nitrogenadas derivadas da pirimidina (bases pirimídicas) e da purina (bases púricas).

balança de dois pratos. A parte central dessa balança é representada pelo monossacarídeo. Desse monossacarídeo partem dois “braços”, equivalentes às ligações covalentes, para sustentar dois “pratos”, sendo um deles equivalente à base nitrogenada e o outro, ao fosfato, respectivamente.

Conforme mostrado na Figura 6.3, o monossacarídeo, no caso uma β -D-ribose, está ligado à base nitrogenada (púrica ou pirimídica) através de uma ligação glicosídica. A ligação glicosídica envolve o carbono 1' (C1') da pentose e um nitrogênio (N) da bases nitrogenada. Por isso, essa ligação é denominada N-glicosídica e envolve ou o nitrogênio N-1 de uma pirimidina

ou o nitrogênio *N*-9 de uma purina. Por outro lado, o ácido fosfórico é esterificado com o grupo hidroxila do carbono 5 do monossacarídeo, carbono 5', sendo essa ligação denominada fosfoéster. Essa estrutura, aqui descrita e mostrada na Figura 6.3, é a de um nucleotídeo monofosfato.

Nos nucleotídeos, aos números dos carbonos do monossacarídeo é adicionado o sinal de aspas simples ('). Assim, temos os carbonos 1', 2', 3', 4' e 5'. Esse formato particular da numeração tem por objetivo deixar claro a que carbono nos referimos na estrutura do nucleotídeo, permitindo diferenciar os carbonos do monossacarídeo daqueles da base nitrogenada.

No esquema simplificado de um nucleotídeo na Figura 6.3 está representado um ribonucleotídeo, uma vez que a pentose constituinte é a ribose (observe a presença da hidroxila - OH no carbono 2'). Note também que o esquema representa um ribonucleotídeo no pH intracelular (pH 7,0), uma vez que o fosfato está carregado negativamente. Assim sendo, o fosfato é responsável pela carga negativa presente nos ácidos nucleicos no pH intracelular. Esta propriedade tem aplicação prática, pois é utilizada na separação de ácidos nucleicos e seus fragmentos através do método de eletroforese, amplamente utilizado em Bioquímica e Biologia Molecular.

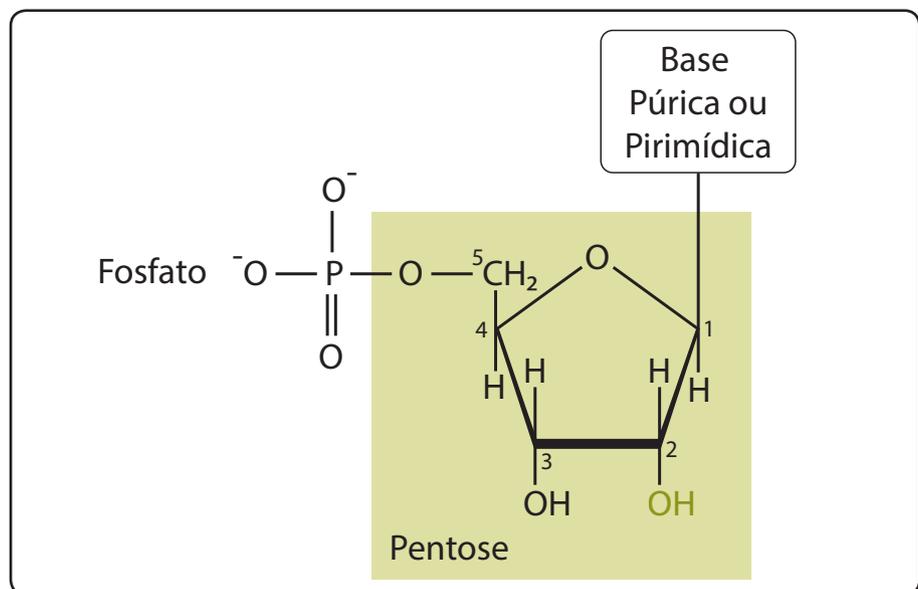


Figura 6.3 – Estrutura de um nucleotídeo.

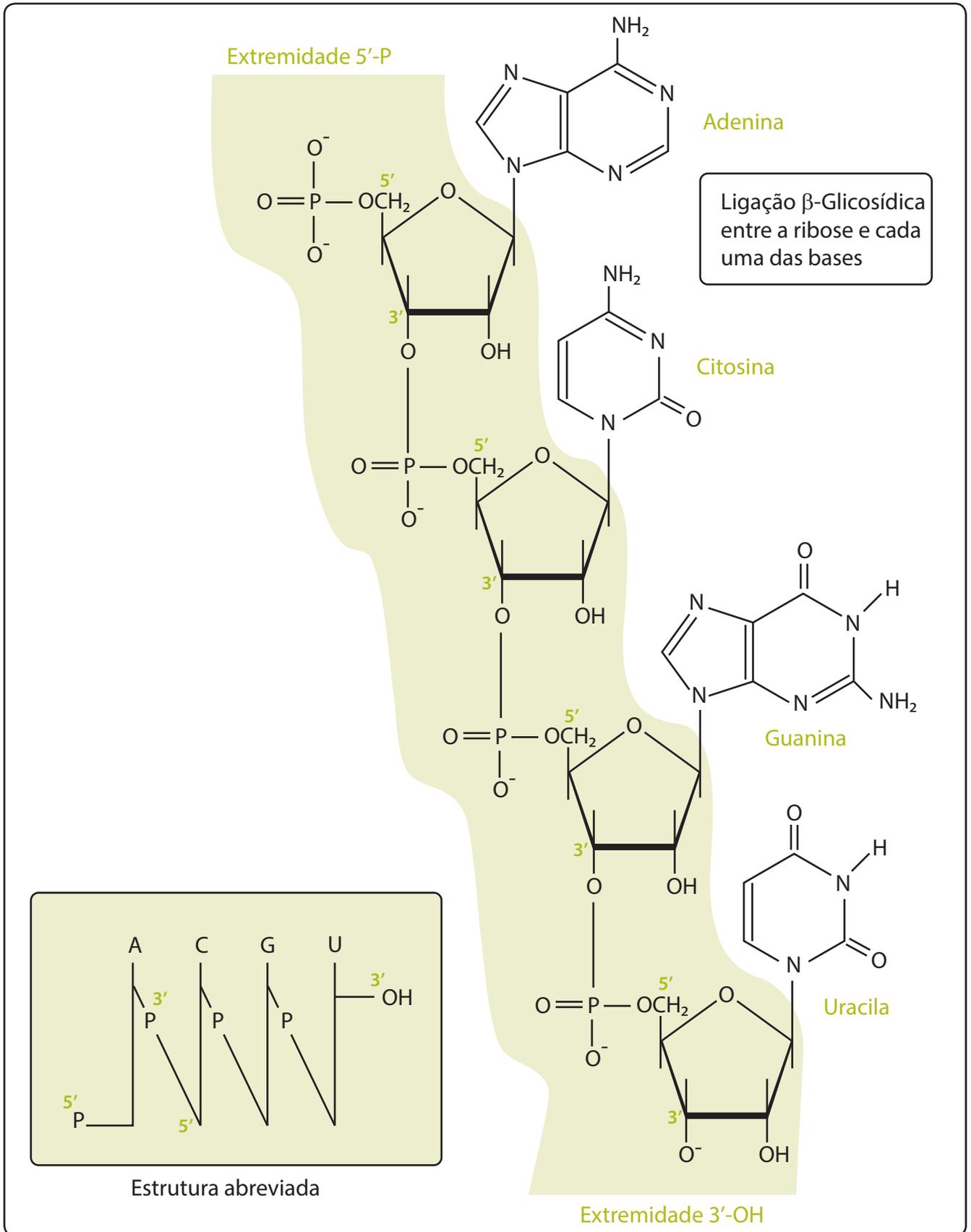


Figura 6.4 – Estrutura de um fragmento de uma cadeia de RNA, mostrando as ligações entre os nucleotídeos.

6.3 Polimerização de nucleotídeos

A polimerização dos nucleotídeos dá origem a cadeias polinucleotídicas, ou seja, aos ácidos nucleicos. A ligação entre os nucleotídeos envolve a formação de duas ligações éster pelo ácido fosfórico. De outra forma, podemos dizer que o ácido fosfórico faz a “ponte”, ou seja, a ligação covalente entre dois nucleotídeos adjacentes, através do carbono 5' de um nucleotídeo e o carbono 3' do outro. Ou seja, os grupos hidroxila para os quais o ácido fosfórico é esterificado são aqueles do carbono 5' e do carbono 3' de nucleotídeos adjacentes.

Na Figura 6.4, pode ser observado um fragmento de uma cadeia de RNA. Note o esqueleto açúcar-fosfato ao longo da cadeia e a sequência das bases nitrogenadas. Formando uma cadeia a partir de ligações monossacarídeo-fosfato, uma sequência linear de bases ligadas ao monossacarídeo (ribose ou desoxirribose) é criada. Essa sequência de bases carrega a mensagem genética em um alfabeto de quatro letras. Esse número pode parecer inicialmente limitado, mas ao fazermos uma comparação com o código binário de informação utilizado na linguagem computacional fica mais fácil percebermos o alcance desse código molecular de informação (Figura 6.5).

A sequência no DNA de uma célula humana possui milhões de bases. Um gene estrutural é parte de tal sequência e codifica (ou seja, possui a informação para produzir) uma cadeia polipeptídica com uma sequência determinada.

a) 110100100110110101010	b) GAGTAGCTAAATCCCAGAT
00101010010101011010110	GCGTTAATCACCGGGGAAT
01011001010100010111111	TCGGCGCAATTACAGC
010001	

Armazenamento de informação em: [a] um sistema binário (a ordem de 0 e 1 representa um pulso ou uma ausência de pulso) em computadores e [b] na molécula de DNA (em um código de quatro “letras” equivalentes às nucleobases dos nucleotídeos).

Figura 6.5 - Analogia entre um sistema binário e a estrutura primária da molécula de DNA.

O DNA e o RNA são polímeros de nucleotídeos unidos por ligações fosfodiéster, de modo a formar um esqueleto açúcar-fosfato. O açúcar ou pentose presente no RNA é a ribose, e no DNA é a desoxirribose. Dois tipos de nucleobases nitrogenadas, purinas e pirimidinas, estão ligadas ao esqueleto açúcar-fosfato. A sequência de bases é a característica fundamental da estrutura primária dos ácidos nucleicos. Essa sequência no DNA é a informação (genética) responsável pela sequência dos aminoácidos em uma dada cadeia polipeptídica.

6.4 Níveis estruturais dos ácidos nucleicos

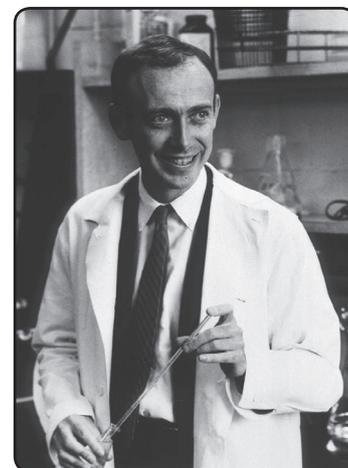
A descrição dos ácidos nucleicos como polímeros de nucleotídeos é limitada, pois não considera a sua estrutura tridimensional. Assim, para que possamos melhor compreender a relação entre estrutura, propriedades e função, devemos nos familiarizar com todos os níveis de organização estrutural dessas moléculas.

6.4.1 Estrutura primária

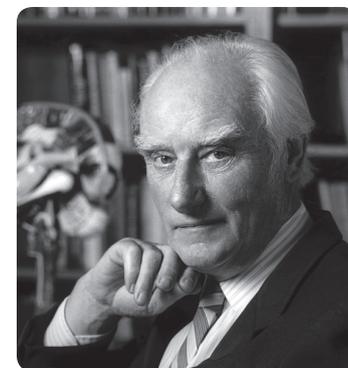
Esse nível de organização dos ácidos nucleicos se refere à ordem ou à sequência dos nucleotídeos na cadeia polinucleotídica, isto é, a característica fundamental desse nível de organização do polímero é a sequência de bases, tanto para o DNA, quanto para o RNA.

Podemos fazer aqui uma analogia, comparando as bases nitrogenadas a letras do alfabeto, só que, nesse caso, temos somente quatro letras ao invés de vinte e três. Pode parecer um número pequeno, ou até mesmo limitado. No entanto, podemos fazer uma outra analogia e lembrar como uma vasta quantidade de informação pode ser armazenada através de um sistema binário (de 0 e 1) nos computadores modernos (Figura 6.5).

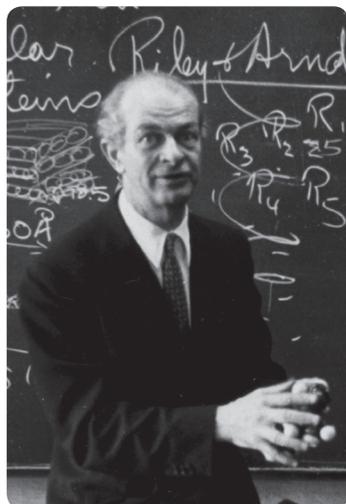
A ligação responsável pela manutenção desse nível estrutural é a ligação fosfodiéster entre os nucleotídeos. A cadeia polinucleotídica, seja formada de desoxirribonucleotídeos ou ribonucleotídeos, apresenta polaridade. Em outras palavras, as suas



James Watson



Francis Crick



Linus Pauling



Rosalind Franklin



Maurice Wilkins

extremidades são distintas: uma delas apresenta um grupo 5' fosfato (5'P) livre, enquanto na outra, o grupo terminal é uma hidroxila 3' (3'OH). Essa polaridade é relevante para a decodificação da mensagem contida na cadeia, ou seja, a mensagem (a ordem ou a sequência das bases) tem um sentido: ela é “lida” a partir de uma extremidade da cadeia.

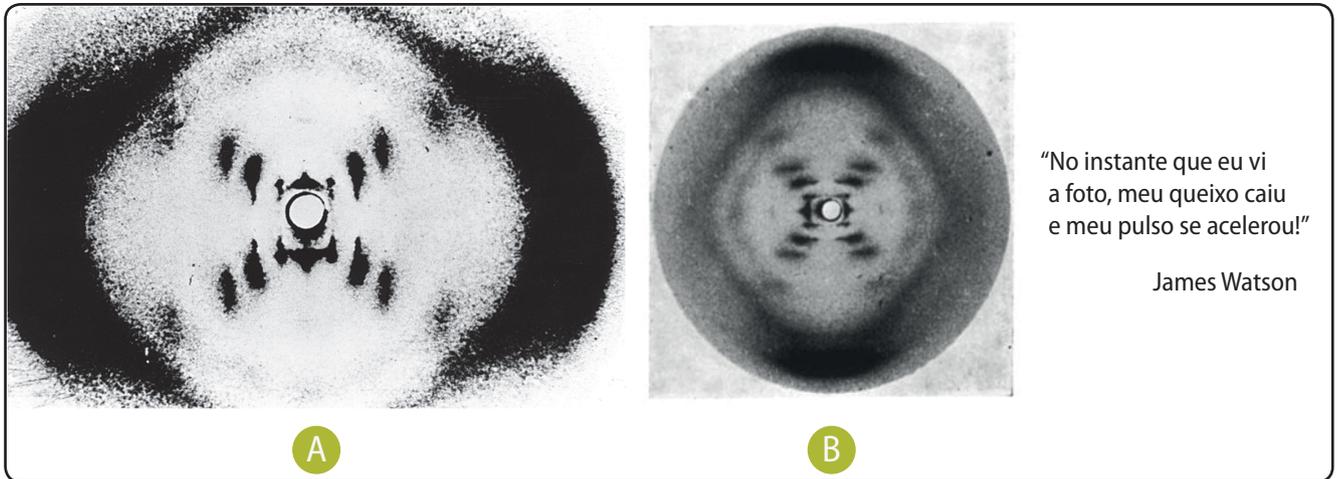
6.4.2 Estrutura secundária

A estrutura secundária da molécula de DNA, denominada estrutura de **dupla hélice**, pode ser considerada como a estrutura molecular mais representada na mídia e, conseqüentemente, mais conhecida entre aquelas de diferentes biomoléculas.

Desde que foi proposta por **James Watson** e **Francis Crick**, em 1953, uma série de pesquisas foi desencadeada, levando a avanços sem precedentes na bioquímica, biologia molecular e genética.

A história (inclusive os bastidores) da proposição desse modelo representa, também, um dos capítulos mais interessantes da biologia molecular, envolvendo não só aspectos científicos, como outros de natureza distinta, todos relacionados ao que podemos chamar como “corrida” para elucidar essa estrutura. Essa “corrida” teve, inclusive, a participação de **Linus Pauling**, eminente estudioso da estrutura secundária de proteínas.

A determinação da estrutura da dupla hélice envolveu a construção de um modelo molecular (Figura 6.6) com base em padrões de difração de raios X, obtidos por **Rosalind Franklin**, junto ao laboratório liderado por **Maurice Wilkins**. Rosalind Franklin obteve fotos de nível técnico excelente para os padrões da época, sendo a mais famosa, a Foto 51, aquela considerada fundamental para as conclusões de Watson e Crick. Além dessas informações dos padrões de difração de raios X, outros dados importantes foram obtidos das análises químicas da molécula de DNA de várias espécies, realizadas por Erwin Chargaff e colaboradores. Essas análises demonstraram que, em uma molécula de DNA, a quantidade de adenina (A) era sempre igual à de timina (T), e que a quantidade de guanina (G) era sempre igual à de citosina (C).



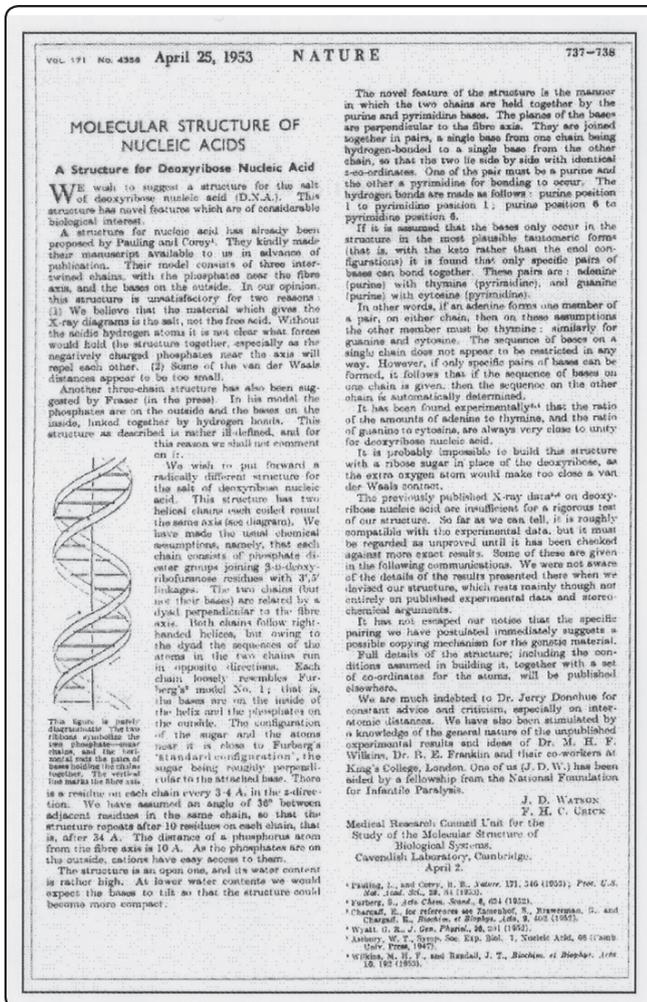
“No instante que eu vi a foto, meu queixo caiu e meu pulso se acelerou!”

James Watson

Figura 6.6 – (A) Fotografia obtida por difração de raios X e utilizada para construir o modelo de dupla hélice da estrutura secundária do DNA. (B) Fotografia número 51 obtida por Rosalind Franklin e o comentário de James Watson ao vê-la.

Todas essas informações, acrescidas da informação sobre as características polares/apolares dos componentes presentes nos nucleotídeos, foram usadas para concluir que a molécula de DNA é formada de duas cadeias de polinucleotídeos enroladas em torno de um eixo, formando uma dupla hélice voltada para a direita (Figura 6.9). Esse modelo foi alvo da publicação de apenas uma página em um dos periódicos de maior impacto (até hoje) nas diferentes áreas da ciência (Figura 6.7).

A “corrida” e os “bastidores” da descoberta e da proposição da estrutura secundária da molécula de DNA, a dupla hélice, foi alvo de um relato na visão pessoal de Watson na forma de um livro (*The Double Helix*; ISBN 0-451-62787-3) publicado em 1969, uma iniciativa que pode ser considerada pouco usual na Ciência, tanto na época quanto nos dias de hoje. Em dezembro de 1962, o biólogo James Watson e o físico Francis Crick, juntamente com o também físico Maurice Wilkins, receberam o prêmio Nobel em Fisiologia e Medicina pela descoberta da estrutura secundária do DNA: “pelas suas descobertas relacionadas à estrutura molecular dos ácidos nucléicos e a sua relevância para a transferência de informação nos organismos vivos” (www.nobelprize.org). A biofísica Rosalind Franklin, cujo falecimento ocorreu em 1958 aos trinta e sete anos, vítima de câncer ovariano, não compartilhou o referido prêmio e nem teve uma menção in memoriam, uma vez que o Prêmio Nobel não é dado postumamente. Mesmo assim,



Estrutura Molecular de Ácidos Nucleicos

Uma estrutura para o ácido desoxiribonucleico

“Gostaríamos de sugerir uma estrutura para a molécula do ácido desoxiribonucleico, DNA, com novidades que são de considerável interesse para a Biologia”

J. D. Watson e F. H. Crick

Nature, 1953.

Figura 6.7 – Publicação de Watson & Crick no importante periódico Nature, em 1953, propondo a estrutura em dupla hélice do DNA.

sua contribuição fundamental para o estabelecimento da dupla hélice do DNA foi inequívoca e é reconhecida no meio acadêmico.

A combinação das evidências obtidas nos estudos mencionados permitiu que se concluísse que o esqueleto açúcar-fosfato é a parte externa da hélice e que as bases nitrogenadas estão voltadas para o interior da dupla hélice. Esse posicionamento interno das bases nitrogenadas permite o pareamento entre elas, de modo que seja **complementar**, isto é, A paria com T e G paria com C. Como esse pareamento ocorre ao longo de toda a dupla hélice, as duas cadeias são chamadas de **fitas complementares**.

A força ou ligação responsável pela manutenção da estrutura secundária do DNA é a ponte de hidrogênio (ou ligação de hidrogênio) que se forma entre as bases nitrogenadas ao longo da dupla hélice. Entre um par de adenina-timina (A-T), são geradas

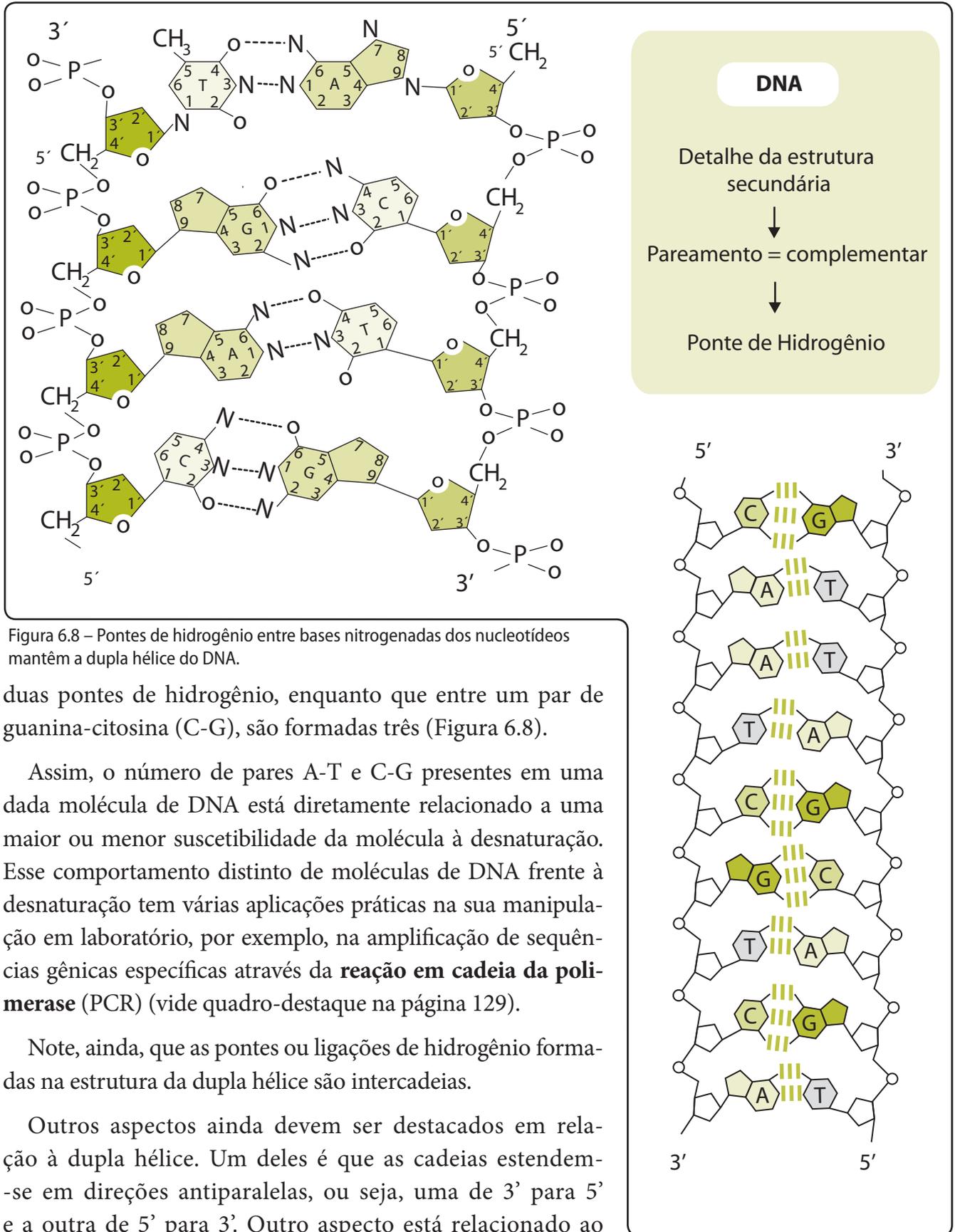


Figura 6.8 – Pontes de hidrogênio entre bases nitrogenadas dos nucleotídeos mantêm a dupla hélice do DNA.

duas pontes de hidrogênio, enquanto que entre um par de guanina-citosina (C-G), são formadas três (Figura 6.8).

Assim, o número de pares A-T e C-G presentes em uma dada molécula de DNA está diretamente relacionado a uma maior ou menor suscetibilidade da molécula à desnaturação. Esse comportamento distinto de moléculas de DNA frente à desnaturação tem várias aplicações práticas na sua manipulação em laboratório, por exemplo, na amplificação de sequências gênicas específicas através da **reação em cadeia da polimerase** (PCR) (vide quadro-destaque na página 129).

Note, ainda, que as pontes ou ligações de hidrogênio formadas na estrutura da dupla hélice são intercadeias.

Outros aspectos ainda devem ser destacados em relação à dupla hélice. Um deles é que as cadeias estendem-se em direções antiparalelas, ou seja, uma de 3' para 5' e a outra de 5' para 3'. Outro aspecto está relacionado ao

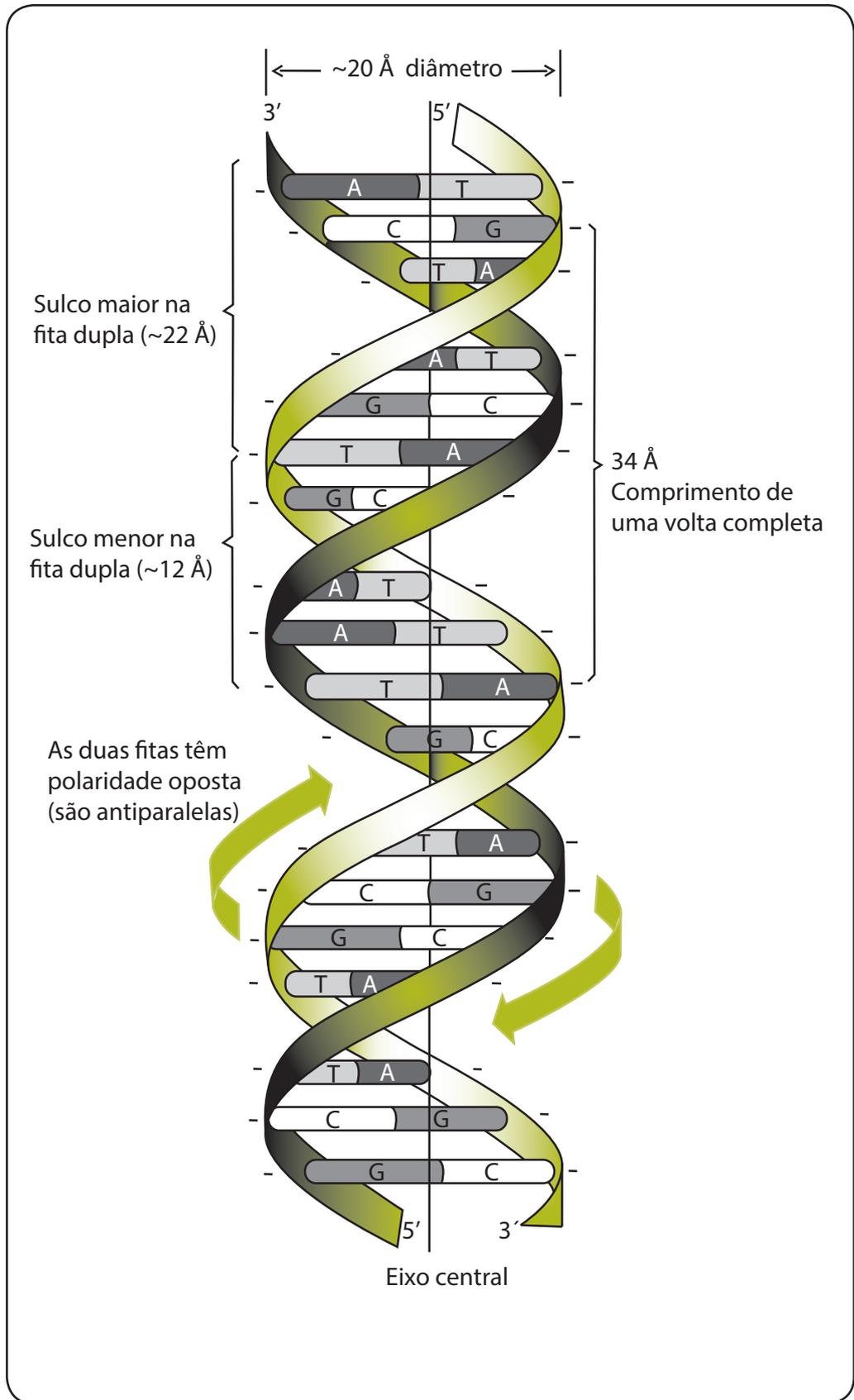


Figura 6.9 - Esquema da estrutura secundária em dupla-hélice da molécula de DNA.

fato de que os átomos que compõem as duas cadeias da dupla hélice não preenchem totalmente o cilindro que podemos imaginar ao redor e ao longo dela. Isso deixa alguns espaços “vazios” ao longo da face externa da hélice (Figura 6.7). Esses espaços são denominados **sulcos**: um sulco maior e um sulco menor. A importância desses sulcos que se repetem ao longo de toda a dupla hélice tem sido cada vez mais investigada, uma vez que drogas ou polipeptídeos podem se ligar a esses sítios, o que tem contribuído para o estudo da expressão de genes e para o desenvolvimento de fármacos. Além disso, devemos lembrar que, em pH fisiológico, os grupos fosfato do esqueleto açúcar-fosfato estão carregados negativamente. Assim, íons com carga positiva, como o Mg^{2+} , bem como polipeptídeos, podem estar frequentemente associados à molécula de DNA.

A estrutura secundária do DNA que discutimos é a chamada *DNA-B*. Acredita-se que essa seja a sua forma predominante na natureza. No entanto, existem variações conformacionais da estrutura secundária do DNA, dependendo da sequência de bases específicas, bem como das condições do meio, como concentração salina e o íon positivo associado à molécula.

O RNA também pode apresentar estrutura secundária. Nesse caso, esse nível de organização ocorre quando a cadeia do RNA dobra-se sobre si mesma. Em determinadas regiões ao longo desse dobramento, pontes de hidrogênio podem ser formadas em função do pareamento complementar entre as bases nitrogenadas. Em algumas regiões da molécula, no entanto, devido à ocorrência de bases nitrogenadas modificadas, esse pareamento complementar não ocorre, e esses trechos da molécula apresentam-se como fita simples. Esse tipo de arranjo é particularmente frequente e é característico do RNA transportador (tRNA) (Figura 6.10). Note que no RNA as pontes ou ligações de hidrogênio formadas são intracadeia.

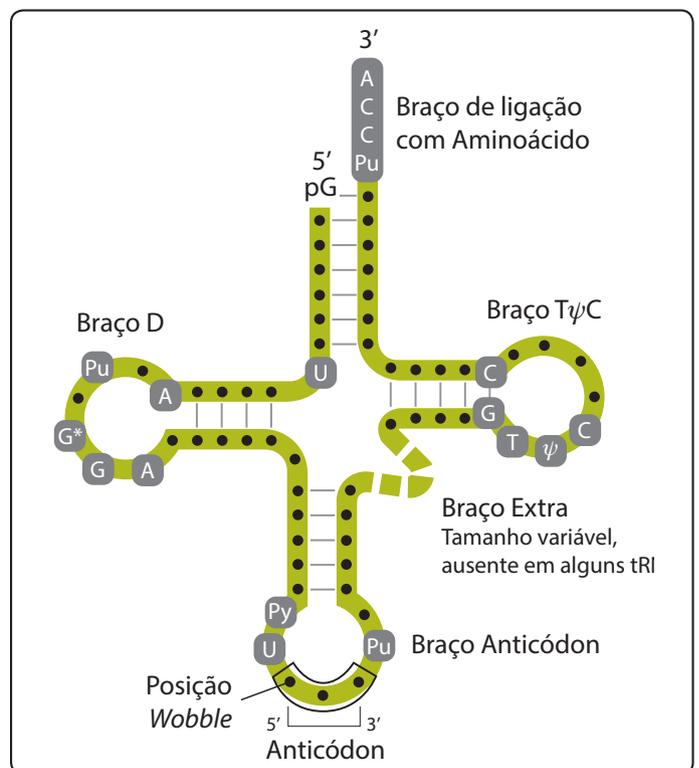


Figura 6.10 – Estrutura secundária do RNA transportador (t-RNA), com formação de pontes de hidrogênio intracadeia.

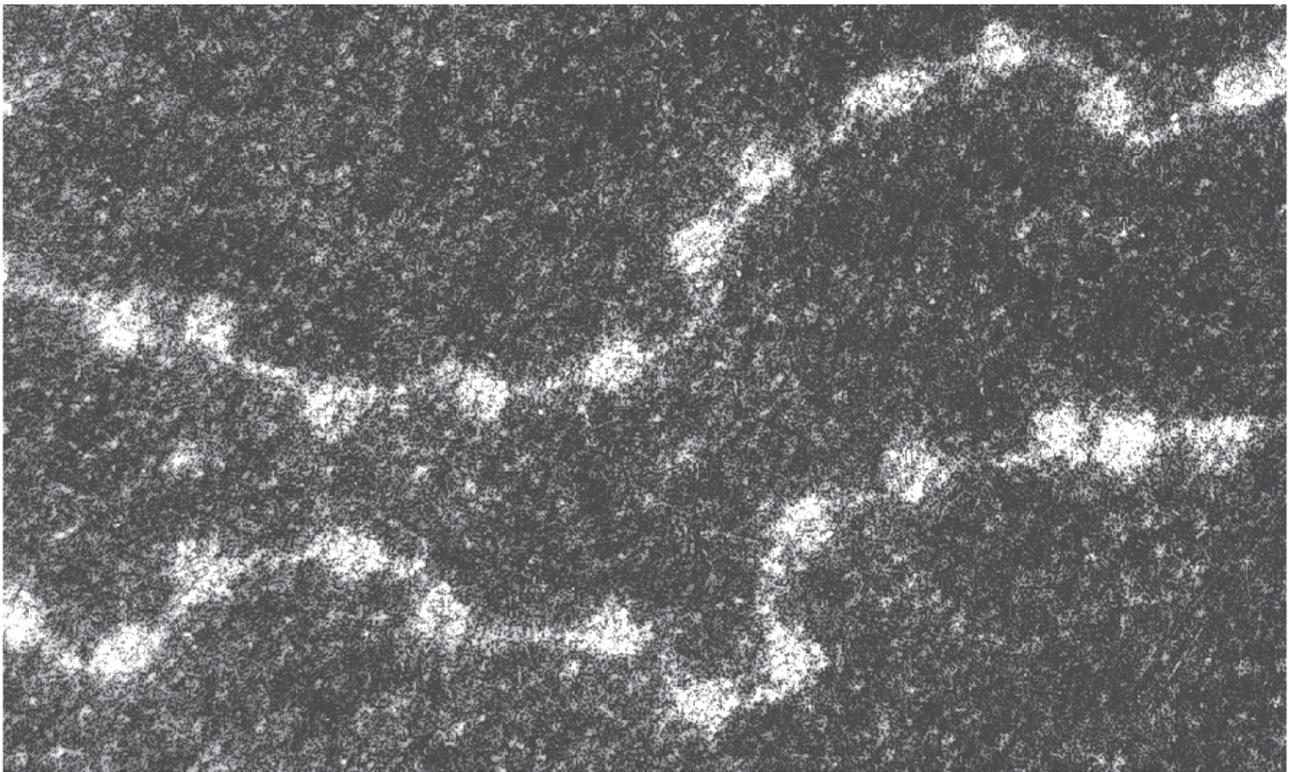
6.4.3 Estrutura terciária

A dupla hélice do DNA que discutimos até agora pode apresentar-se de uma forma mais condensada ou empacotada. Uma analogia que podemos usar aqui para melhor compreender esse empacotamento é imaginar a cadeia polinucleotídica como sendo o fio de um telefone, já que ele tem a forma de uma espiral. Imagine agora se as duas pontas desse fio espiralado começassem a sofrer simultaneamente uma torção. Esse movimento levaria a uma maior condensação do fio espiralado, aumentando, conseqüentemente, o seu grau de empacotamento. Na molécula de DNA, isso se traduz em um superenovelamento da hélice em toda a sua extensão. Esse nível de organização é chamado de **estrutura terciária**.

O superenovelamento ou estrutura terciária de DNA é facilmente observado em procariotos. Não só no DNA genômico, como também nos plasmídeos, ou seja, pequenas moléculas de DNA dupla fita circular fechadas que ocorrem em bactérias, independentemente o DNA genômico.

O superenovelamento foi observado experimentalmente em DNAs que ocorrem naturalmente, através, por exemplo, de micrografias eletrônicas, as quais evidenciaram a presença de DNA circular de várias origens, incluindo bactérias, vírus, mitocôndrias e cloroplastos.

O superenovelamento também ocorre no DNA nuclear dos eucariotos (vegetais e animais), mas de uma forma mais complexa. O DNA eucariótico aparece complexado com proteínas, denominadas **histonas**. Essas proteínas são ricas em resíduos de aminoácidos básicos (com cadeias laterais polares carregadas positivamente em pH fisiológico), como a lisina, e ligam-se eletrostaticamente com as cargas negativas do grupo fosfato da molécula de DNA. Esse complexo é chamado de cromatina. Em micrografias eletrônicas, a cromatina tem a aparência de um colar de contas, sendo cada uma dessas “contas” um **nucleossomo**, o qual é constituído por DNA envolto em um núcleo de histona (Figura 6.12).



50 nm

Estrutura da Cromatina

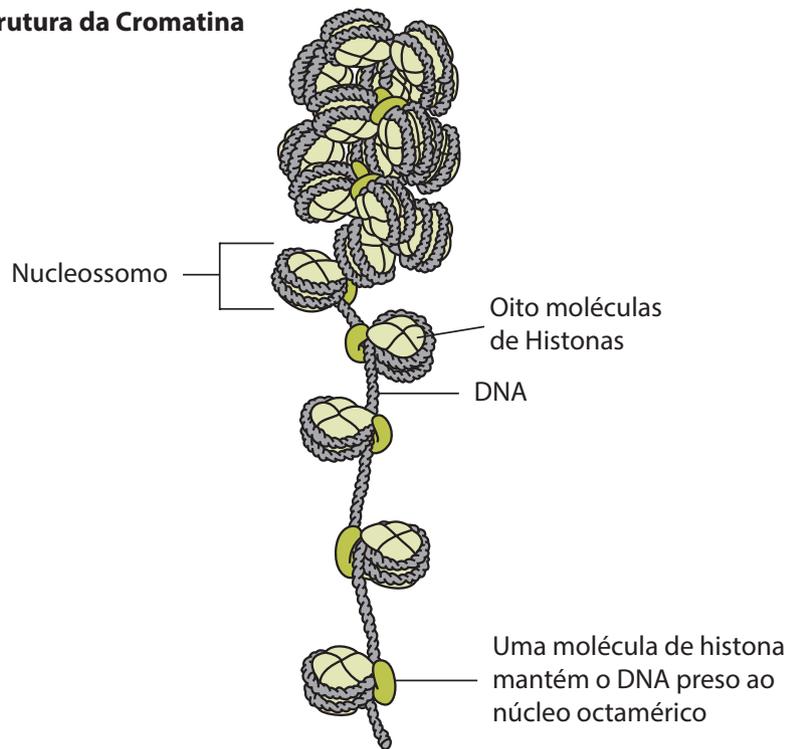


Figura 6.12 – Esquema da estrutura do DNA envolto em um núcleo de histonas. A estrutura se assemelha a um colar de contas, baseada na micrografia eletrônica mostrada acima.

6.5 Tipos de RNA

Seis tipos de RNA são conhecidos e exercem papéis fundamentais nos processos celulares que envolvem a expressão de genes. Todos esses tipos de RNAs apresentam estrutura primária e secundária (essa última em grau extremamente variável).

Além do RNA transportador (tRNA), já mencionado anteriormente, existem o RNA ribossômico (rRNA), o RNA mensageiro (mRNA), o RNA nuclear pequeno (snRNA), o micro RNA (miRNA) e o RNA curto interferente (siRNA). A Tabela 6.1 mostra algumas características dessas moléculas e resume seu papel biológico na célula. De modo geral, os vários tipos de RNA participam da síntese de proteínas em uma série de reações controladas pela sequência de bases do DNA celular. Assim, as sequências de bases de todos os tipos de RNA são determinadas pelo DNA.

Tabela 6.1 – Tipos de de RNA e suas funções

Tipo de RNA	Tamanho	Função
RNA transportador	Pequeno	Transporta aminoácidos para o local da síntese de proteína.
RNA ribossomal	Tamanho variável	Combinam-se com proteínas para formar os ribossomos (local da síntese de proteínas)
RNA mensageiro	Variável	Direciona a ordem dos aminoácidos na cadeia polipeptídica.
RNA nuclear pequeno	Pequeno	Processamento do mRNA para a sua forma madura em eucariotos.
Micro RNA	Pequeno	Afeta a expressão de genes (importante no desenvolvimento e crescimento).
RNA de interferência	Pequeno	Afeta a expressão de genes (usado em pesquisas para silenciar genes).

6.6 Outras funções dos nucleotídeos

Os nucleotídeos não são só importantes como “matéria-prima” para a síntese de ácidos nucleicos.

Se grupos adicionais de fosfato formam ligações de anidrido com o primeiro fosfato são gerados nucleotídeos di- e tri-fosfatados. Nas figuras 6.3 e 6.13 estão mostradas esquematicamente as estruturas dos nucleotídeos e a nomenclatura dos ribonucleotídeos e dos desoxiribonucleotídeos. O papel das suas formas 5' trifosfatadas pode ser destacado, uma vez que são estes os precursores para a síntese de RNA e DNA, respectivamente.

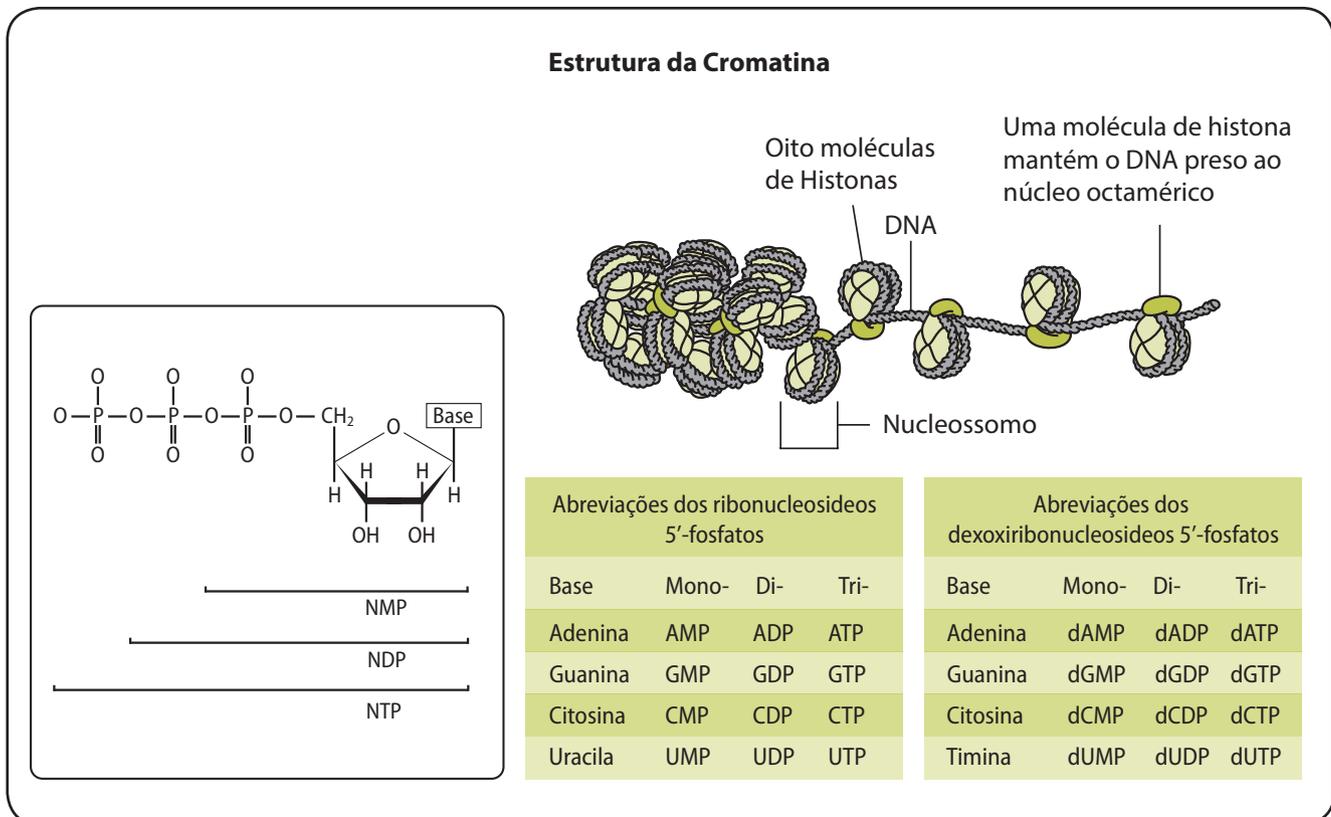


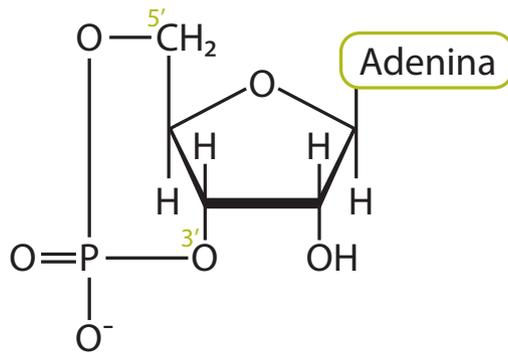
Figura 6.13 – Esquema dos nucleotídeos mono-fosfatados (NMP), di-fosfatados (NDP) e tri-fosfatados (NTP) e suas respectivas abreviações, tanto para os ribonucleotídeos quanto para os desoxiribonucleotídeos.

Além disso, os ribonucleotídeos desempenham outras funções. A importância desses nucleotídeos no metabolismo celular será discutida ao longo da disciplina, mas, aqui, devemos destacar sua importância no armazenamento de energia química, ou seja, como “moedas e energia”. O ATP é central para o metabolismo energético.

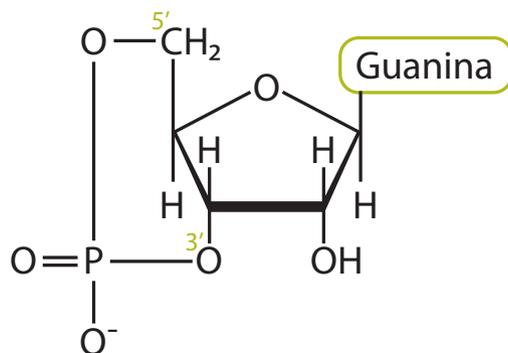
co; o GTP dirige a síntese de proteínas; o CTP dirige a síntese de lipídios, enquanto o UTP dirige o metabolismo dos carboidratos. Os ribonucleotídeos monofosfatados são ainda como componentes de coenzimas (formas ativas de vitaminas hidrossolúveis, como aquelas genericamente chamadas de complexo B), as quais são fundamentais para a atividade de algumas enzimas (Capítulo 7) e, ainda, na transdução de sinal. Exemplos de nucleotídeos associados a essa última função podem ser vistos na Figura 6.14.

Funções Biológicas de Nucleotídeos

Moléculas regulatórias (segundo mensageiros)



Adenosina 3', 5' - monofosfato cíclico
(AMP cíclico; cAMP)



Guanosina 3', 5' - monofosfato cíclico
(GMP cíclico; cGMP)

Figura 6.14 – Nucleotídeos associados à transdução de sinais.

6.7 Os ácidos nucleicos e o fluxo da informação genética

O DNA é fundamental para o armazenamento da informação genética, ou seja, da base molecular das características hereditárias dos organismos vivos. Como vimos, parte deste papel está fundamentado na sua estrutura primária, ou seja, na ordem ou sequência dos nucleotídeos que compõem a sua cadeia polinucleotídica. Ao longo desta cadeia, trechos ou segmentos com sequências características constituem o conjunto dos diferentes genes. Assim, de uma forma simplificada, podemos dizer que gene é um segmento no DNA que codifica uma informação biológica na forma de um RNA ou de uma determinada proteína. Estes genes que dão origem ou levam à produção de um RNA ou uma proteína são chamados de genes estruturais.

Diferentes tipos de RNA são fundamentais no caso da produção de proteínas, processo denominado tradução, porque um “tipo de linguagem molecular”, ou seja, uma sequência de nucleotídeos vai dar origem a um “tipo de linguagem” molecular diferente, ou seja, uma sequência de aminoácidos. Apesar de serem “linguagens moleculares” estruturalmente distintas (nucleotídeos x aminoácidos), elas apresentam uma correspondência em termos sequenciais. Para que isto ocorra, a sequência de desoxiribonucleotídeos de um dado gene presente na longa molécula de DNA deve ser reescrita em uma sequência de ribonucleotídeos de uma molécula de RNA correspondente, ou seja, de RNA mensageiro (mRNA). Neste caso, esta etapa envolve “linguagens moleculares” bastante semelhantes, já que em ambos os casos envolvem nucleotídeos. Por isso, este processo é denominado de transcrição.

Uma analogia que poderíamos usar para facilitar nosso entendimento seria comparar os dois processos celulares ao tratamento dado a um texto imaginário escrito na língua portuguesa. Imagine que você fosse ler um capítulo de um livro de Bioquímica escrito em Portugal. Você entenderia bem o texto, mas notaria algumas diferenças quanto a termos ou palavras específicas não usuais no Brasil. Ou seja, mesmo sendo a mesma língua portuguesa, há diferenças sutis entre alguns termos nos dois países. Esta seria a

analogia para o processo de transcrição (sequência de desoxiribonucleotídeo x sequência de ribonucleotídeo). Agora, imagine que você deva utilizar este texto na língua portuguesa e reescrevê-lo na língua inglesa. Trata-se agora de duas línguas totalmente distintas. Esta seria a analogia para o processo de tradução (sequência de ribonucleotídeo x sequência de aminoácidos).

Uma visão simplificada do fluxo da informação genética está esquematizada na Figura 6.15.

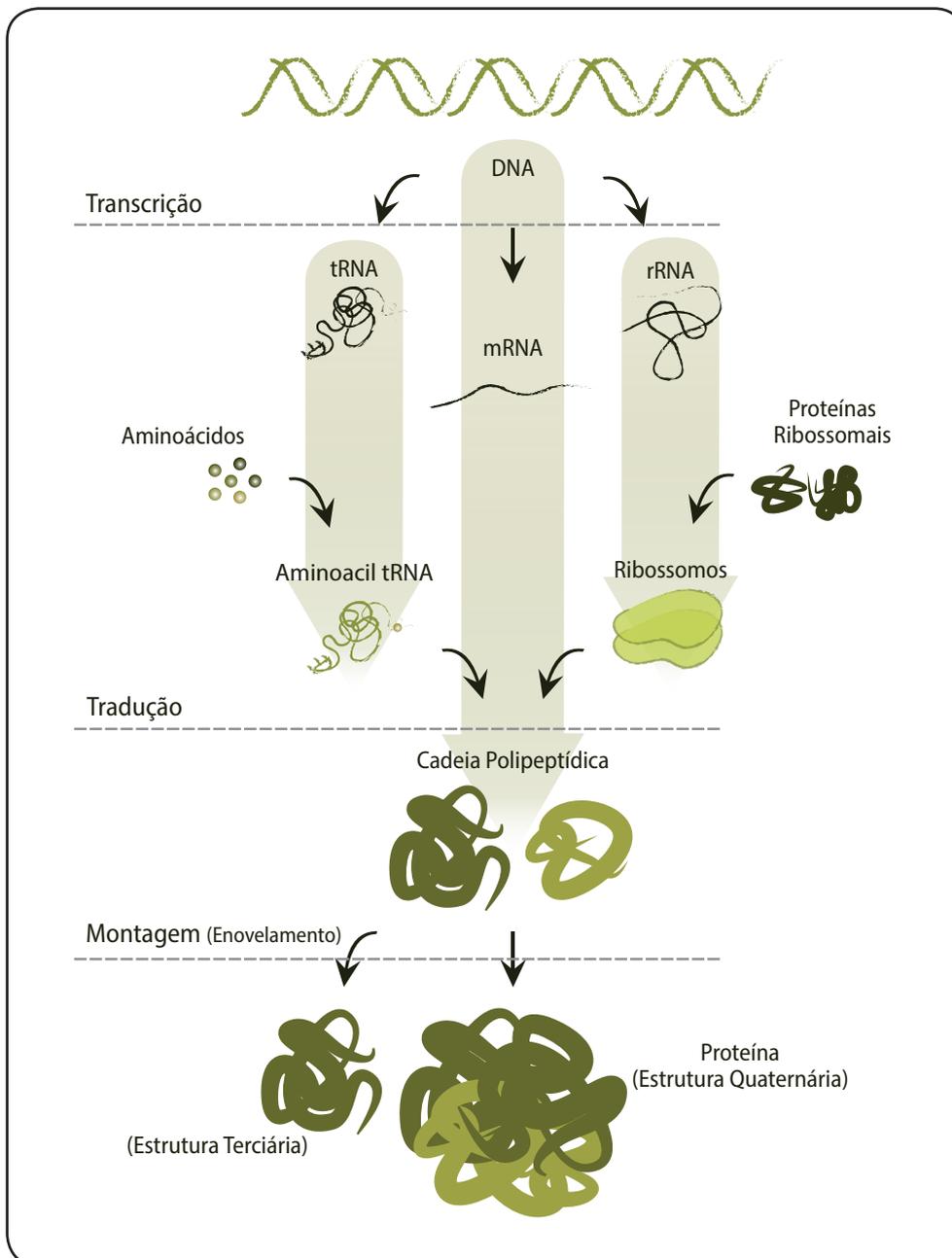


Figura 6.15 – Esquema simplificado do fluxo da informação gênica.

PCR

A Reação em Cadeia da Polimerase - PCR é um método que permite a obtenção de várias (milhares) de cópias de um fragmento específico (parte de um determinado gene), a partir de uma quantidade inicial pequena de DNA genômico extraído de uma determinada amostra de tecido ou células. A PCR pode ser descrita de forma simplificada como um método de replicação *in vitro* de uma determinada sequência específica (sequência alvo) presente em uma molécula de DNA. A idéia da PCR foi concebida em 1983 por Kary Mullis, na época vinculado à empresa Cetus Corporation, o que lhe valeu o Prêmio Nobel em Química em 1993. A utilização da PCR permitiu avanços significativos em diferentes áreas das Ciências Biológicas, como por exemplo, na Bioquímica e Biologia Molecular, na Genética e na Taxonomia Molecular. Além disso, a PCR tem sido ainda amplamente utilizada para a amplificação e análise de sequências alvo na determinação de paternidade e em casos de identificação criminal. Nestes casos, regiões alvo do genoma que são altamente polimórficas (ou seja, apresentam uma alta variabilidade entre indivíduos ou em uma dada população) são aquelas selecionadas para a reação de amplificação. A PCR tem sido ainda utilizada para estudar fragmentos de DNA de amostras fósseis bem preservadas e no diagnóstico laboratorial, como na investigação da presença de sequências genômicas de patógenos em diversos tipos de amostras.

A PCR emprega uma enzima que sintetiza DNA, ou seja, forma polímeros de desoxirribonucleotídeos, a partir de desoxirribonucleotídeos trifostados (dATP; dCTP; dGTP e dTTP). Esta enzima, a

Taq polimerase, é uma DNA polimerase termorresistente, a qual foi originalmente isolada de *Thermus aquaticus*, uma arqueobactéria encontrada em fontes termais em temperaturas acima de 90°C. A Taq atua utilizando uma das fitas da molécula de DNA (contendo o fragmento alvo a ser amplificado) como molde e incorpora os nucleotídeos ligando-os entre si de forma a fazer uma sequência ou estrutura primária complementar à fita alvo, ou seja, produzindo cópias do fragmento de interesse como fragmentos de DNA dupla fita.

Para tal, o DNA é inicialmente desnaturado a 95°C, ou seja, as fitas da dupla hélice do DNA genômico usado como molde são separadas (desnaturação). Após a desnaturação, a amostra é resfriada de forma a permitir que pequenos fragmentos âncora (dois oligonucleotídeos sintéticos de aproximadamente 20 pares de nucleotídeos cada um, denominados iniciadores ou primers), possam realizar pareamento complementar com cada uma das fitas simples do DNA molde (pareamento ou hibridização) e sirvam como âncoras ou pontos iniciais para que a enzima passe a sintetizar as cópias de cada uma das fitas (síntese).

As condições da reação de PCR são estabelecidas de modo a se obter as melhores condições para a amplificação e a obtenção de uma quantidade significativa de uma região ou um fragmento de um dado gene, podendo o ciclo de amplificação (reação de desnaturação, seguida de reação de pareamento e reação de síntese) ocorrer 25 a 30 vezes seguidas. A PCR foi automatizada e é realizada sob condições controladas, as quais são programadas em um termociclador.

Resumo

Os ácidos nucleicos, DNA e RNA, são importantes por seus papéis no armazenamento e no fluxo da informação genética, sendo ambos polímeros de nucleotídeos ligados covalentemente, os desoxirribonucleotídeos ou os ribonucleotídeos, respectivamente. Os nucleotídeos são constituídos de uma base nitrogenada, uma pentose e um grupo fosfato (nucleotídeos monofosfato).

Em 1953, Watson e Crick propuseram o modelo de estrutura secundária para o DNA, a dupla hélice. As duas cadeias da dupla hélice são mantidas unidas através de pontes de hidrogênio entre os pares de base complementares: A-T e C-G.

A quantidade de pontes de hidrogênio influencia diretamente a suscetibilidade à desnaturação, o que tem várias aplicações práticas.

Existem diferentes tipos de RNA, os quais realizam papéis biológicos distintos.

A arquitetura molecular dos ácidos nucleicos apresenta diferentes níveis de organização, os quais apresentam particularidades distintas entre o DNA e o RNA.

Bibliografia comentada

CAMPBELL, M. K. ; FARRELL, S. O. **Bioquímica: Biologia molecular**. 5. ed. São Paulo: Thomson Learning, 2008. v. 2.

Nessa nova edição, o livro-texto foi dividido em três volumes. O volume 2 foi dedicado exclusivamente à biologia molecular. Além da estrutura e função de ácidos nucleicos, há uma abordagem abrangente sobre as principais técnicas e a biotecnologia de ácidos nucleicos. Um capítulo sobre tópicos atuais em Biologia Celular e Molecular traz um material ricamente ilustrado e trata de algumas aplicações importantes, particularmente na área de Saúde.

<http://www.pbs.org/wgbh/nova/body/journey-into-human-dna.html>

Utilize os esquemas para contextualizar as unidades fundamentais que compõem o DNA e os seus vários níveis de organização estrutural, usando como referência o corpo humano.

<http://www.wiley.com/legacy/college/boyer/0470003790/animations/translation/translation.htm>

Utilize as animações para rever os conceitos relacionados ao fluxo da informação gênica. Você encontrará ainda um material interessante sobre a biossíntese e proteínas (tradução).

<http://highered.mcgrawhill.com/olcweb/cgi/pluginpop.cgi?it=swf::535::535::/sites/dl/free/0072437316/120078/micro15.swf::Polymerase%20Chain%20Reaction>

Neste link, você encontrará uma animação sobre a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

Unidade C

Aspectos Gerais do Metabolismo

Catálise

Neste capítulo, estudaremos as bases da catálise realizada pelas enzimas, bem como os principais parâmetros cinéticos de uma reação catalisada por uma enzima. Estudaremos, também, as principais classes de enzimas, os fundamentos da inibição enzimática e o comportamento cinético de enzimas alostéricas.

A vasta maioria das milhares de reações químicas que ocorrem nos organismos vivos são catalisadas por **enzimas**. Na verdade, a maior parte dessas reações não ocorreria a uma velocidade razoável e compatível com a vida na ausência de um catalisador.

E o que é um catalisador? Bem, um catalisador pode ser um íon metálico ou uma molécula que acelera a velocidade com que uma reação ocorre. Assim, na presença de um catalisador de natureza metálica, como a platina e o níquel, por exemplo, a velocidade de uma dada reação é aumentada por um fator na ordem de 10^3 a 10^4 . Por sua vez, as enzimas, chamadas de catalisadores biológicos, podem acelerar a velocidade de uma reação por um fator de até 10^{17} . Essas considerações estão resumidas na Tabela 7.1.

Tabela 7.1 – Fator de aumento da velocidade de algumas reações catalisadas por enzimas.

Anidrase carbônica	10^7
Triose-fosfato isomerase	10^9
Carboxipeptidase A	10^{11}
Fosfoglicomutase	10^{12}
Succinil-CoA transferase	10^{13}
Urease	10^{14}

Por outro lado, nem sempre todas as reações na célula devem proceder continuamente a uma velocidade alta. Dessa maneira, “ligando” e “desligando” a atividade das enzimas, a velocidade das

reações pode ser modulada e controlada de forma bastante precisa. Esse conceito pode ficar mais claro em relação às enzimas envolvidas no metabolismo da glicose. Em uma situação de jejum, as enzimas celulares que degradam o glicogênio para liberar glicose devem estar ativas. Por outro lado, logo após uma refeição, serão as enzimas envolvidas no armazenamento de glicose na forma de glicogênio aquelas a estarem ativas. Esse controle é obtido através de diferentes estratégias, as quais, no seu conjunto, modulam a velocidade das diferentes enzimas celulares e fazem com que o metabolismo ocorra de forma coordenada.

7.1 Breve histórico

Apesar da utilização das enzimas desde a Antiguidade, o que é considerado o primeiro registro da existência da catálise biológica foi o estudo relatado, em 1822, por um médico canadense, William Beaumont, sobre o efeito da secreção gástrica na digestão da carne. Ele realizou esses estudos durante o tratamento de um soldado, cuja parede estomacal ficara exposta no abdômen devido a um ferimento a bala. A ferida decorrente permitiu que Beaumont acompanhasse o que ocorria quando pedaços de carne eram introduzidos no estômago do paciente com o auxílio de um cordão. Seus experimentos mostraram que a carne era digerida pelo suco gástrico e que nenhuma trituração era necessária.

Em 1835, Berzelius relatou que no extrato da batata havia alguma coisa que hidrolisava o amido. Mas, foram os estudos de Louis Pasteur sobre a fermentação realizada por leveduras, responsável pela conversão de açúcar em álcool, um dos principais marcos da investigação sobre enzimas. Pasteur postulou que a fermentação era realizada por “fermentos”, os quais eram inseparáveis da célula viva.

Essa afirmação foi sendo considerada verdadeira por décadas, até que, em 1897, Büchner trouxe um avanço significativo para o entendimento da catálise biológica, quando demonstrou que células vivas de levedura não eram, ao contrário do estabelecido até então, essenciais para a fermentação. Ele obteve um extrato de leveduras que se mostrou capaz de fermentar a glicose, produzindo álcool.

Mais tarde, foram obtidas evidências de que essa atividade era destruída pelo aquecimento. Aos poucos, foi se compreendendo que as enzimas eram proteínas, até que, em 1926, James Sumner purificou a enzima **urease** de uma espécie de feijão, em um grau compatível com a sua cristalização. Os cristais pareciam ser constituídos somente por proteína. Estudos semelhantes realizados posteriormente com outras enzimas digestivas tornaram estabelecida a ideia de que todas as enzimas são proteínas.

No entanto, em 1975, descobriu-se que a urease cristalizada não apresentava uma constituição 100% proteica. Menos de 0,1% da enzima era representado por um metal, o níquel, que é essencial para a sua atividade. Na verdade, isso foi observado em várias enzimas, as quais apresentavam metais (não necessariamente o níquel) ou pequenas moléculas orgânicas associadas a elas e necessárias para a sua atividade. Esses metais ou moléculas associadas são denominados **cofatores** ou **coenzimas**, respectivamente.

Mais recentemente, em 1982, Cech relatou que alguns RNAs apresentam atividade catalítica. Esses RNAs são chamados de ribozimas. Apesar disso, a grande maioria das enzimas são proteínas. Uma típica célula bacteriana pode conter aproximadamente 3.000 tipos diferentes de proteínas com atividade enzimática, ou seja, enzimas, enquanto em uma célula humana poderíamos estimar esse

Histórico

1822 - Foi reconhecida a existência de catálise biológica, através de estudos da digestão da carne por secreções do estômago (William Beaumont).

1835 - Conversão do amido em açúcar pela saliva e extrato de plantas.

1850s - Louis Pasteur concluiu que a fermentação do açúcar em álcool pelas leveduras era catalisada por "fermentos". Ele postulou que os "fermentos" eram inseparáveis das células de leveduras vivas. Foi denominado vitalismo e permaneceu por décadas.

1897 - Eduard Büchner descobriu que extratos de leveduras fermentavam o açúcar em álcool, mostrando que esse processo continuava a funcionar mesmo após serem removidas das células. Frederick W. Kühne

(1878) denominou essas moléculas de enzimas ("na levedura").

1926 - Urease foi isolada e cristalizada por James Sumner. Sumner descobriu que os cristais de urease consistiam inteiramente de proteína e postulou que todas as enzimas eram proteínas.

Os estudos foram aceitos após John Northrop e Moses Kunitz terem cristalizado a pepsina, tripsina e outras enzimas digestivas, concluindo que todas eram proteínas. Nessa época, J.B.S. Haldane escreveu um tratado intitulado *Enzymes*. Apesar da natureza molecular das enzimas não ter sido completamente analisada, Haldane propôs que as interações fracas entre as enzimas e o substrato poderiam ser utilizadas para catalisar a reação.

número como sendo na ordem de 50.000. Mas, mesmo com esses números, em função da descoberta das ribozimas, acredita-se que antes das proteínas, a atividade catalítica era exercida por moléculas de RNA, ribozimas, no que chamamos “mundo do RNA”.

7.2 Catálise enzimática

Os catalisadores químicos que mencionamos tendem a ser não específicos, ou seja, eles catalisam uma ampla gama de reações químicas.

Os catalisadores biológicos, por outro lado, têm um comportamento diferente, ou seja, uma enzima (E) é geralmente altamente específica para a reação que ela catalisa. Essa especificidade está fundamentada na interação de uma parte específica da molécula de enzima com a molécula envolvida na reação catalisada. Essa molécula é denominada de **substrato** (S). A região da enzima que interage com o substrato é denominada de sítio ativo. Essa interação está representada na Figura 7.1 e pode ocorrer, por exemplo, em função de ligações fracas entre o S e a E, de modo a formar um complexo ES. Dessas ligações fracas participam determinados resíduos de aminoácidos presentes no sítio ativo da enzima, os quais são denominados resíduos essenciais do sítio ativo. O número de resíduos de aminoácidos que formam ou participam do sítio ativo varia dependendo da enzima. Como uma ideia geral, podemos dizer que o equivalente a aproximadamente 6-12 resíduos de aminoácidos, de um total de 200-400 resíduos que formam uma dada enzima, fazem parte do sítio ativo. A natureza dos resíduos também varia, dependendo da enzima (Figuras 7.2 a e b). Na quimotripsina, por exemplo, três resíduos são os principais envolvidos na catálise: serina (SER), histidina (HIS) e

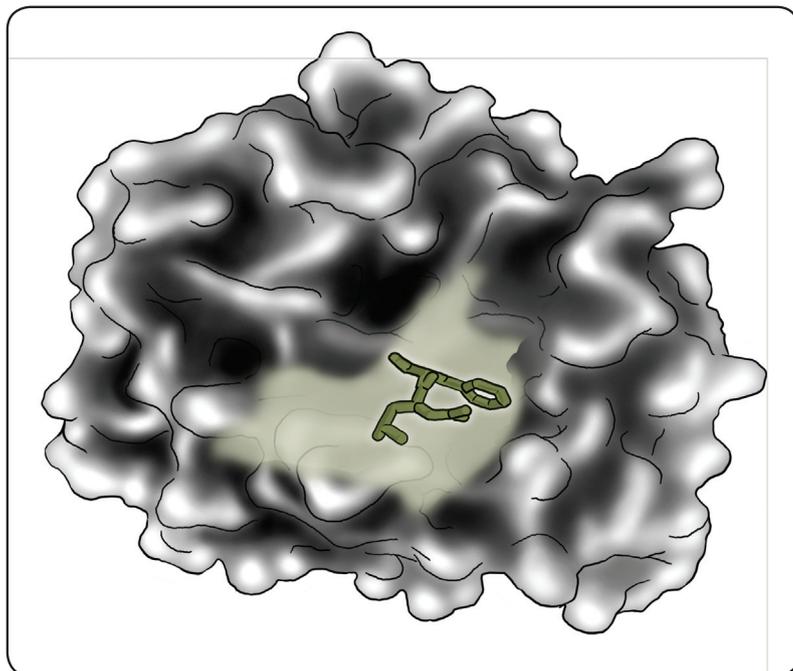


Figura 7.1 – O sítio ativo de uma enzima é a região de enzima que interage com o substrato.

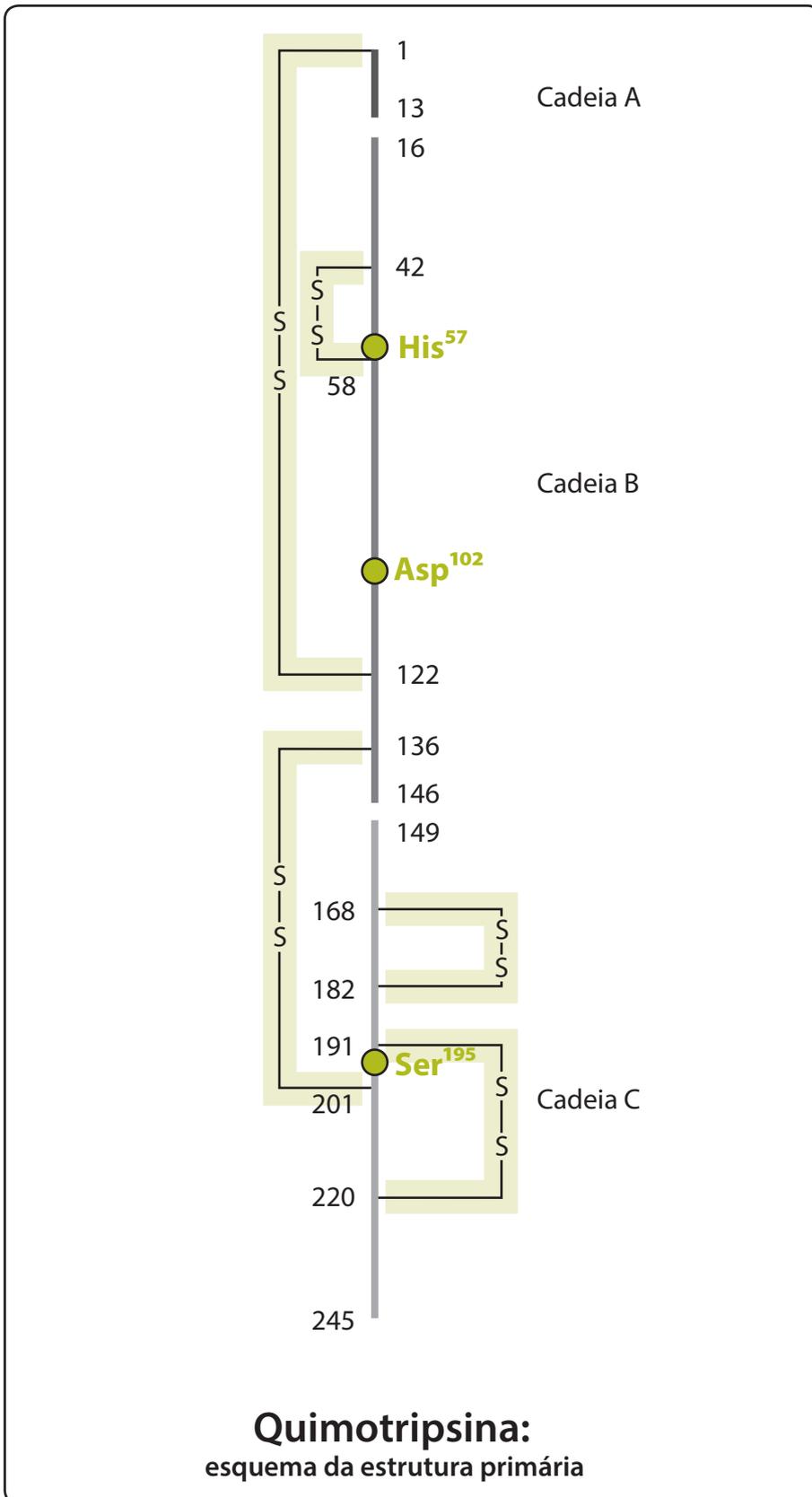


Figura 7.2b – Resíduos de aminoácidos no sítio ativo da quimotripsina interagem com o substrato.

produto(s). As reações tendem a ocorrer na direção do seu equilíbrio. Para que isso se dê de outra forma, há a necessidade de energia, o que não é suprido pelo catalisador, uma vez que ele permanece inalterado ao final da reação.

As reações ocorrem porque os produtos possuem uma energia química menor que os substratos, ou seja, elas tendem a ocorrer na direção do equilíbrio, até que este seja atingido. No entanto, é evidente que, mesmo sendo capazes de reagirem, muitas substâncias não o fazem! Um exemplo pode ser dado pelo petróleo, o qual contém uma grande quantidade de carbono e hidrogênio, que pode ser oxidada pelo oxigênio atmosférico, mas, mesmo assim, permanece estável e inalterado em temperatura ambiente na presença do ar, não entrando em combustão ou explosão espontânea. A razão para isso é que os reagentes (petróleo e oxigênio) não possuem energia suficiente em temperatura ambiente para reagir entre si. Existe uma barreira energética entre os reagentes e os produtos dessa reação. Essa barreira energética é denominada **energia de ativação**.

Quando as moléculas vão reagir, elas devem formar um complexo chamado de **estado de transição**, o qual apresenta uma energia maior que a energia média tanto dos reagentes quanto dos produtos. Dessa maneira, a energia de ativação é a diferença de energia entre a energia dos reagentes e aquela do estado de transição.

No laboratório, nós podemos aumentar a temperatura para que algumas moléculas dos reagentes “vençam” essa barreira energética, mas essa estratégia não é aplicável às células. Assim, as enzimas representam um caminho alternativo para a reação. Em contraste com a reação “normal” (não catalisada), esse caminho alternativo tem um estado de transição diferente, com uma energia de ativação mais baixa (Figura 7.3).

Devemos lembrar que, mesmo nessa situação, o equilíbrio da reação não é afetado, ele simplesmente é atingido muito mais rapidamente. A diferença de energia entre a dos reagentes e a dos produtos é a mesma, independente da rota que a reação toma (não catalisada ou catalisada).

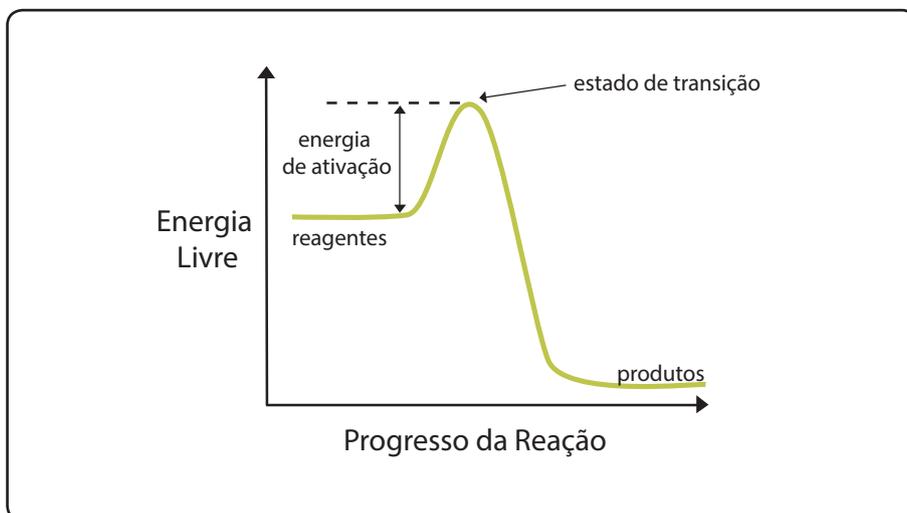


Figura 7.3 – Progresso de uma reação, mostrando a energia de ativação necessária para que a reação ocorra.

7.3 Nomenclatura e classificação das enzimas

Para muitas enzimas digestivas ainda é utilizada uma denominação mais antiga, a qual, certamente, você já conhece. Nesse grupo, estão incluídas as enzimas pepsina, tripsina, quimotripsina, renina e ptialina, por exemplo.

Porém, a denominação mais simples e amplamente utilizada atualmente é baseada na descrição feita por Sumner para a enzima urease, ou seja, adicionando-se o sufixo “ase” ao nome da molécula sobre a qual a enzima age. No entanto, o nome urease, apesar de indicar que a enzima age sobre a ureia, não fornece nenhuma informação sobre o tipo de reação que a enzima catalisa (nesse caso, uma reação de hidrólise). Dessa maneira, mais recentemente, o recomendado é que o sufixo “ase” seja adicionado ao nome da reação catalisada pela enzima, por exemplo, uma oxidase catalisa uma reação de oxidação.

Mesmo com essa forma de denominar as enzimas, visando evitar ambiguidades, a União Internacional de Bioquímica, IUBMB, formou uma comissão especial para organizar um sistema de classificação e nomenclatura de enzimas para ser utilizado por todos os pesquisadores e estudiosos da área. Essa comissão, chamada de *Enzyme Commission* (EC), estabeleceu seis classes distintas de enzimas, tomando por base os tipos de reações catalisadas por elas (Tabela 7.2).

Tabela 7.2 – Classificação internacional das enzimas.

Número	Classe	Tipo de Reação Catalisada
1	Oxirredutases	Transferência de elétrons (íon hidreto ou átomo de H)
2	Transferases	Transferência de grupos
3	Hidrolases	Reação de hidrólise (participação da água)
4	Liasas	Adição de grupos a ligações duplas ou formação de ligações duplas por remoção de grupos funcionais
5	Isomerases	Transferência de grupos dentro das moléculas para formação de isômeros
6	Ligases	Formação de ligações covalentes C-C, C-S, C-O, C-N por reações de condensação, ligadas à clivagem de ATP

Exemplos de nomenclatura de enzimas

- IUBMB – União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular

Classificação funcional sistemática

- Exemplo:

Carboxipeptidase A

Peptidil-L-Aminoácido hidrolase (nome sistemático)

E.C.3.4.17.1 (número de classificação)

(classe, sub-classe, sub-sub-classe, no. de série)

Observando a Tabela 7.2, é surpreendente que, apesar da existência de milhares de enzimas, elas possam ser classificadas em apenas seis classes. Esse é um ponto importante a ser destacado.

Mesmo com a grande e complexa variedade de sequências de reações celulares, o metabolismo ocorre através de um número ou conjunto de transformações químicas simples.

7.4 Cinética enzimática

A ideia de que as enzimas aumentam a velocidade de uma dada reação implica que, de alguma forma, isso possa ser acompanhado em condições de laboratório. Assim, o curso de uma reação (ou a sua velocidade) pode ser acompanhado. Uma forma é através da velocidade com que o substrato é convertido em produto, digamos, a quantidade de substrato (em moles, por exemplo) convertida por unidade de tempo (por minuto, por exemplo) em condições padrão.

É necessário definir as condições em que a reação está ocorrendo, porque, como veremos mais adiante, a velocidade varia com a concentração de enzima, com a temperatura e com o pH do meio.

De forma similar, em vez de se medir o **desaparecimento do substrato**, uma alternativa possível seria medir a velocidade ou taxa de **aparecimento do produto**. A escolha entre essas duas estratégias vai depender do que seja mais conveniente, exequível e preciso.

Podemos tomar a atividade da enzima amilase salivar como uma referência. Essa enzima digere (ou seja, catalisa a hidrólise) o amido em unidades menores, como a maltose, por exemplo. Conforme vimos anteriormente, o amido (nesse caso, substrato) forma um complexo de cor azul-escuro intenso ao reagir com o lugol, enquanto o mesmo não ocorre com a maltose (nesse caso, produto). Desse modo, uma forma de avaliar essa reação seria retirar pequenas alíquotas da mistura da reação ao longo de intervalos de tempo determinados e testá-las frente à reação com o lugol. Ao longo do tempo, poderíamos verificar que o aparecimento da cor azul iria diminuir gradativamente.

Uma vez que as reações enzimáticas ocorrem em volumes pequenos, em baixas concentrações, normalmente se utiliza ou se define a unidade de reação em termos de 10^{-6} moles (ou μM) convertidos por minuto. A unidade internacional (*International Unit*, SI) da atividade de uma enzima é definida como a quantidade de enzima capaz de converter um μmol de substrato em produto em um intervalo de um minuto, sob condições definidas de pH e temperatura. O equivalente SI de atividade enzimática, o *katal*, é definido como a quantidade de enzima que catalisa a conversão de um mole de substrato em produto, em um segundo. Alguns exemplos podem ser vistos na Tabela 7.3.

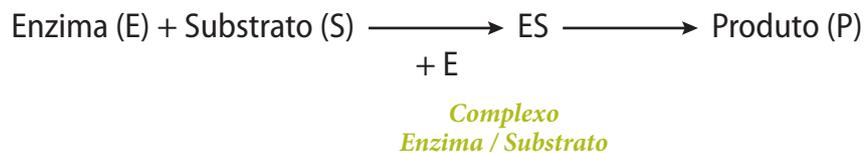
Turnover

É equivalente ao número de moléculas de substrato transformadas no produto em uma dada unidade de tempo por uma única molécula de enzima, quando a mesma está saturada com o substrato.

Tabela 7.3 – Número de renovação ou turnover (K_{cat}) de algumas enzimas.

Enzima	Substrato	K_{cat} (s^{-1})
Catalase	H_2O_2	40.000.000
Acetilcolinesterase	Acetilcolina	14.000
β -lactamase	Benzilpenicilina	2.000
Proteína Rec A (uma ATPase)	ATP	0.4

Em 1913, Leonor Michaelis e Maud L. Menten (Figura 7.4) propuseram um modelo geral para a ação enzimática, conforme mostrado a seguir:



A formação do complexo enzima-substrato (ES) é a principal característica do modelo proposto por Michaelis e Menten. O substrato é convertido a produto, o qual é, então, liberado da enzima. Como todos os catalisadores, a enzima é regenerada ao final da reação.

O modelo proposto por Michaelis e Menten, além de prever a formação de um complexo enzima-substrato (ES), também permite

estabelecer a base da dinâmica da reação catalisada por uma enzima. Essa dinâmica envolve alguns parâmetros importantes, os quais, no geral, definem o que denominamos de **cinética enzimática**.

Quando medimos a velocidade de uma reação enzimática na presença de concentrações variáveis (crescentes) de substrato, é possível observar que a velocidade depende da concentração de substrato [S]. Podemos construir um gráfico que nos permita melhor visualizar essa relação a partir da curva hiperbólica obtida (Figura 7.5).

Na parte inferior da curva, ou seja, na presença de concentrações baixas de substrato, a reação é de primeira ordem, implicando que a velocidade, V , depende da concentração de substrato [S]. Por outro lado, na parte superior da curva (na presença de concentrações altas de substrato), a reação passa a ser de ordem zero, ou seja, a velocidade independe da concentração do substrato. A reação está na sua velocidade máxima, $V_{\text{máx}}$. Os sítios ativos de todas as moléculas de enzima estão saturados. Na presença de uma concentração infinitamente alta de substrato, a reação continuaria em sua velocidade máxima.

A partir dessa relação, o modelo de Michaelis e Menten permite que uma outra constante possa ser estabelecida. Ela representa a concentração de substrato na qual a reação ocorre com a metade da sua velocidade máxima. Essa constante é chamada de constante de Michaelis-Menten, K_M . Em outras palavras, quando a velocidade da reação é igual à metade do seu valor máximo, a concentração de substrato é igual à constante de Michaelis-Menten. Essa é a base da determinação gráfica de K_M .

A constante K_M pode ser considerada como o inverso da medida da afinidade entre a enzima e o seu substrato. Em outras palavras, quanto menor for o K_M , maior a afinidade da enzima pelo substrato. Assim, podemos utilizar o valor de K_M para comparar enzimas quanto à afinidade por um substrato. Podemos utilizar como exemplo a comparação entre duas enzimas que catalisam a fixação de CO_2 (incorporação de CO_2 em uma biomolécula) na fotossíntese: a ribulose 1,5 bi-fosfato carboxilase, RUBISCO, e a fosfoenolpiruvato carboxilase, PEP-carboxilase. Enquanto o K_M da RUBISCO é 20, o da PEP-carboxilase é 5, esta apresenta uma maior afinidade pelo substrato, no caso o CO_2 .



Figuras 7.4 – Leonor Michaelis (1875-1949) e Maud Menten (1879-1960).

Lembre-se de que a constante K_M é expressa em unidades de concentração.

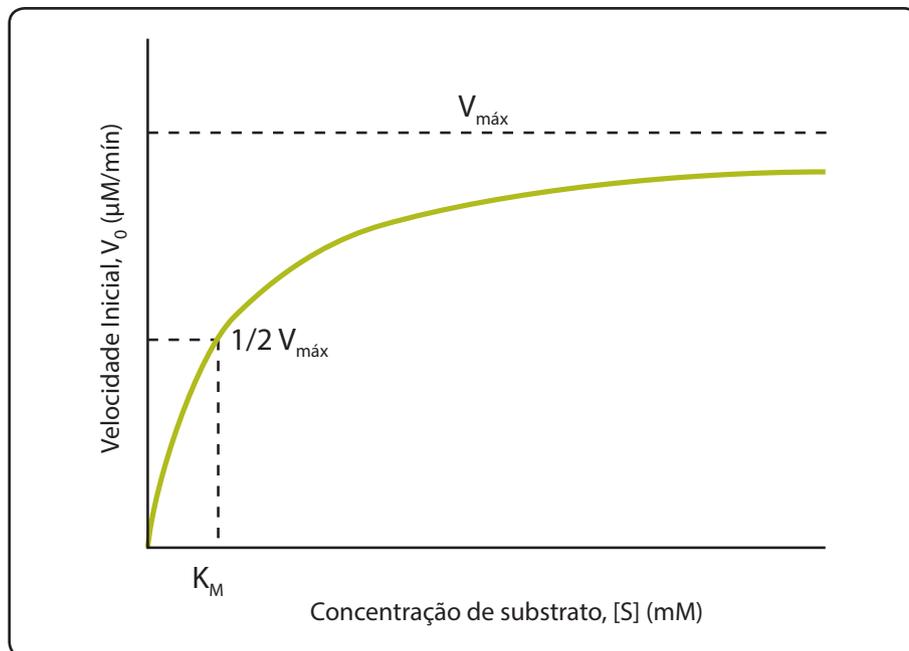


Figura 7.5 – Curva hiperbólica da velocidade de uma reação catalisada por enzima, em função da concentração de substrato.

A partir da curva que descreve a velocidade de uma reação enzimática, é bastante difícil estimar $V_{\text{máx}}$, porque ela é uma curva assintótica, e o valor nunca é atingido com qualquer concentração finita de substrato. Conseqüentemente, isso dificulta a determinação do K_M da enzima. Comparativamente, é mais fácil trabalhar com uma linha reta do que com uma curva. Dessa forma, a equação que define a hipérbole (Figura 7.6) pode ser transformada em uma equação para uma linha reta, tomando-se as recíprocas dos dois lados da mesma.

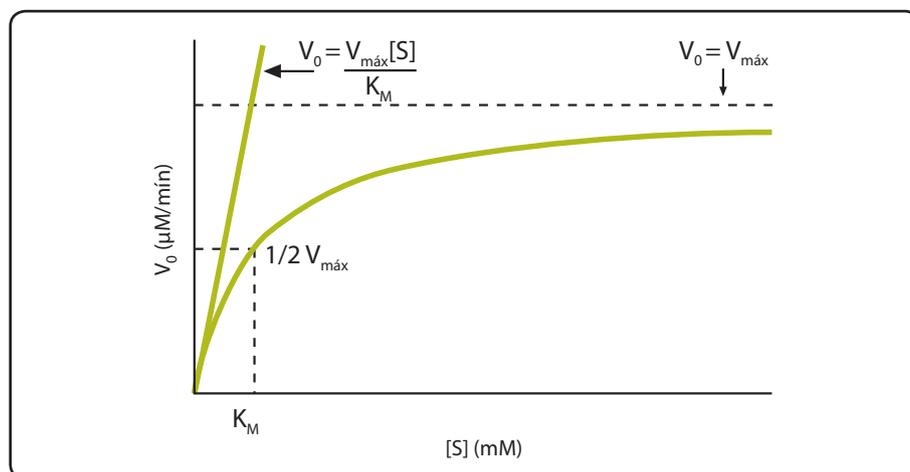


Figura 7.6 – Reta derivada da hipérbole da velocidade de uma reação enzimática em função da concentração de substrato.

A equação passa a ser a de uma linha reta ($y = ax + b$), em que a coordenada y corresponde ao inverso da velocidade, ou seja, $1/V$,

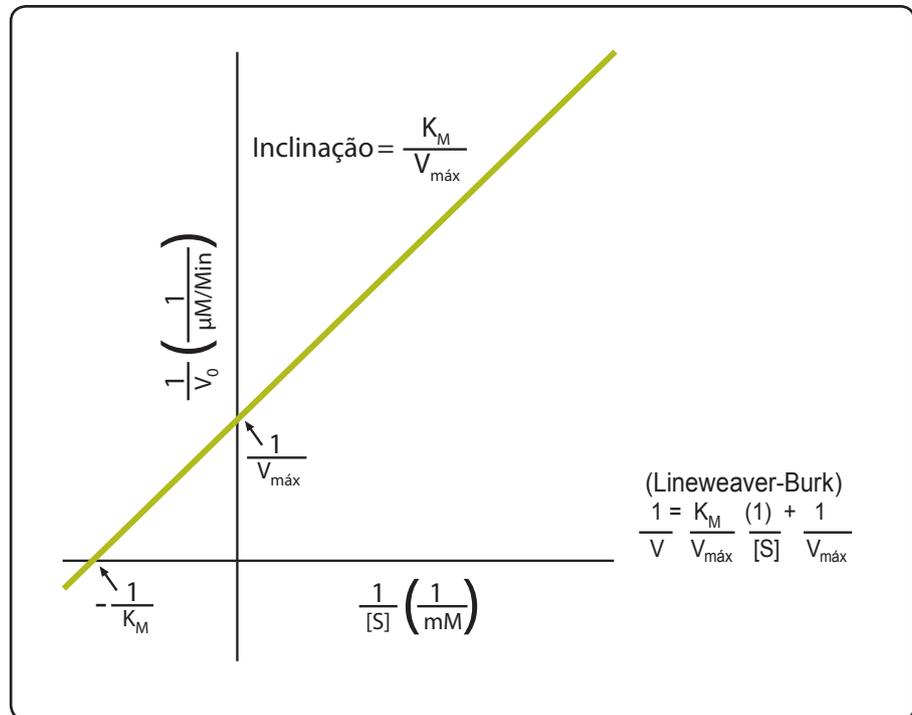


Figura 7.7 – Representação gráfica e equação de Lineweaver-Burk, para K_M e $V_{\text{máx}}$.

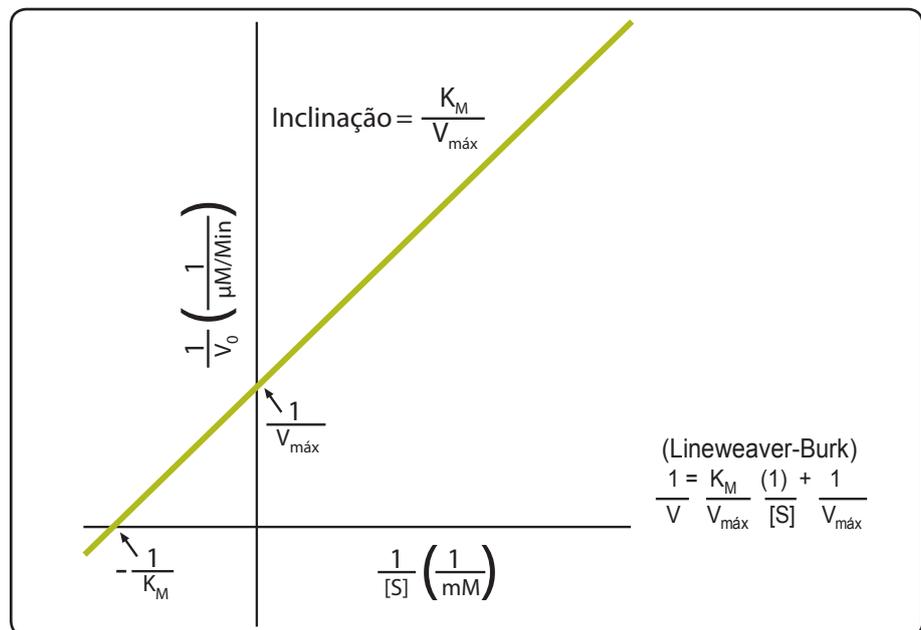


Figura 7.8 – Curva sigmoide de uma reação catalisada por uma enzima alostérica.

O comportamento das enzimas alostéricas exibe efeitos cooperativos, em função de mudanças sutis na sua estrutura quaternária. Dessa forma, essas mudanças acabam por modular a sua atividade. Em geral, as enzimas alostéricas possuem, além do seu sítio ativo, um ou mais de um outro sítio, onde outras moléculas podem se ligar. Esse(s) outro(s) sítio(s) é(são) chamado(s) de **sítio(s) alostérico(s)**.

As enzimas alostéricas parecem apresentar duas conformações ou duas formas ligeiramente diferentes, uma ativa e outra inativa. Algumas enzimas alostéricas são normalmente ativas, e a ligação de uma dada molécula no seu sítio “extra” (o sítio alostérico) “desliga” a sua atividade. A ligação dessa molécula causa uma mudança sutil na conformação da proteína e, como consequência, do sítio ativo, o que leva a uma maior ou menor atividade da enzima, ou seja, o comportamento da enzima é afetado. Resumindo, a ligação do substrato, inibidores ou ativadores muda a estrutura quaternária de proteínas alostéricas, e essas mudanças na conformação são refletidas no seu comportamento. Uma molécula que modifica a estrutura quaternária e, assim, o comportamento de uma proteína alostérica ao se ligar a ela é chamada de **efetor alostérico**. O termo “efetor” pode ser aplicado tanto a substratos, como a inibidores e ativadores. Em geral, eles podem ser classificados como **efetor positivo** ou **efetor negativo**, dependendo do seu efeito sobre a atividade da enzima. Esse efeito pode ser acompanhado pelo deslocamento da curva da atividade da enzima, conforme pode ser visto na Figura 7.9. O termo “modulador” muitas vezes é utilizado como sinônimo de efetor.

Dentro dessa análise, ainda podemos classificar os efeitos das interações sobre a atividade da enzima em dois tipos: **efeitos homotrópicos** e **efeitos heterotrópicos**. Os efeitos homotrópicos são interações

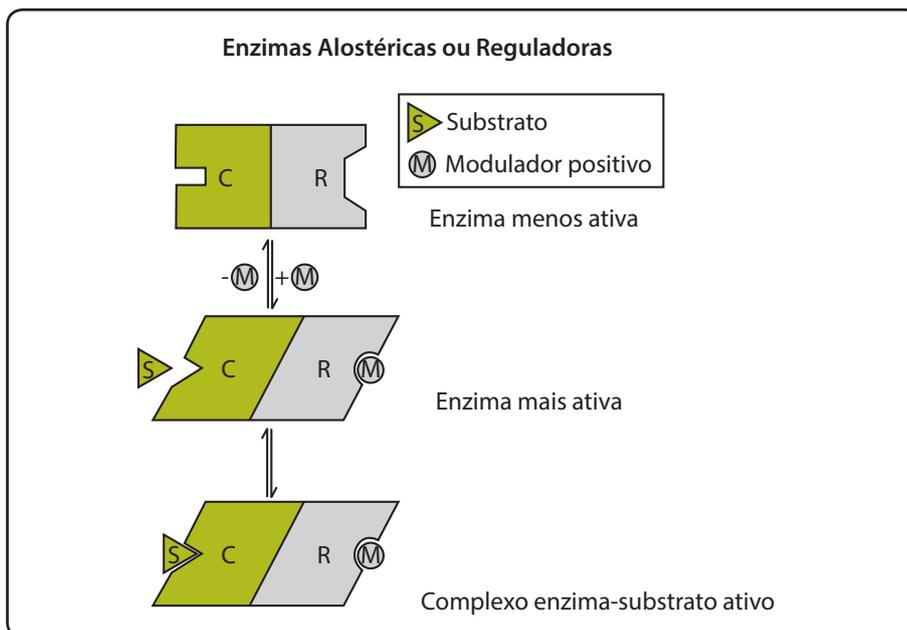


Figura 7.9 - Efeitos dos efetores alostéricos sobre o deslocamento da curva da atividade da enzima

alostéricas que ocorrem quando diversas moléculas idênticas são ligadas a uma proteína. A ligação de moléculas de substrato a sítios diferentes em uma enzima é um exemplo de efeito homotrópico. Já os efeitos heterotrópicos são interações alostéricas que ocorrem quando substâncias diferentes (como inibidor e substrato) se ligam à proteína.

Existe uma variedade de compostos que podem modular a atividade das enzimas, “ligando-as” ou “desligando-as”. Comumente, a maioria desses compostos é feita de compostos intermediários de uma dada via bioquímica ou via metabólica (formada por uma sequência de reações). Na verdade, uma forma maneira comum de controle de uma via metabólica envolve o controle de uma enzima alostérica e é chamada de **retroinibição** ou **feedback negativo**. Nesse caso, o produto final de uma sequência de reações metabólicas catalisadas por enzimas inibe alostericamente a primeira enzima da via, conforme mostrado na Figura 7.10. A via somente se tornará ativa novamente quando a concentração do produto final diminuir. Nesse ponto, a enzima se tornará novamente ativa. Muitos exemplos desse tipo de mecanismo são conhecidos e operam na célula, o que possibilita um controle sensível do metabolismo celular, representado por uma miríade de reações enzimáticas.

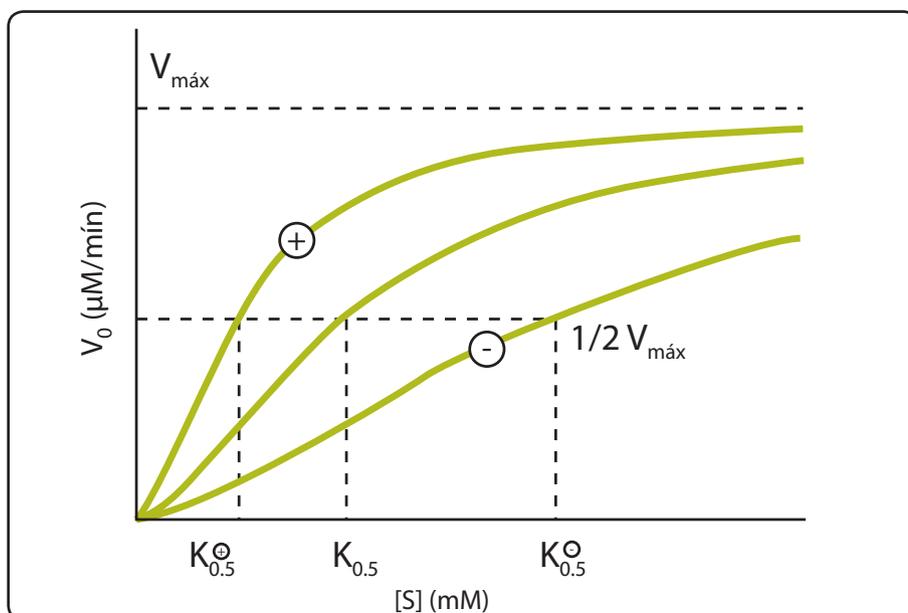


Figura 7.10 – Controle positivo ou negativo de uma enzima alostérica.

7.6 Inibição da atividade enzimática

Com base no que discutimos até agora, podemos facilmente considerar que qualquer alteração da estrutura tridimensional de uma enzima e, conseqüentemente, de seu sítio ativo, deve afetar sua atividade catalítica. Em outras palavras, a atividade de uma enzima pode ser inibida.

Realmente, diversas substâncias podem inibir a atividade catalítica das enzimas de formas distintas, por exemplo, muitos fármacos, toxinas, pesticidas e herbicidas. Além de entender como esses compostos atuam, o estudo desse efeito inibitório permite entender a base molecular de um determinado processo catalítico e conhecer a estrutura do sítio ativo de uma dada enzima. O conhecimento, tanto da forma do sítio ativo de uma determinada enzima, como dos seus respectivos inibidores, pode ter aplicações importantes. Entre essas aplicações podemos destacar o desenho de fármacos mais eficientes. Um exemplo seria o desenho de um fármaco que inibisse de forma efetiva a ação de uma determinada enzima do patógeno, mas que não tivesse efeito sobre o seu hospedeiro.

A inibição da atividade enzimática pode ser consequência da ação de inibidores reversíveis. Um tipo de **inibição reversível** envolve a ação de inibidores que apresentam uma semelhança estrutural com o substrato. Esse tipo de inibidor é denominado de **inibidor competitivo**, uma vez que ele compete com o substrato pelo sítio ativo da enzima, ou seja, ele ocupa o sítio ativo (Figura 7.11 a e b).

Ligando-se ao sítio ativo da enzima, o inibidor competitivo impede a ligação do substrato e, naturalmente, a catálise não ocorre. Em outras palavras, existe uma competição entre o substrato (S) e o inibidor (I) pelo sítio ativo da enzima (E), podendo ocorrer ou a formação do complexo ES ou do complexo EI (Figura 7.12).

O resultado dessa competição depende da concentração relativa de substrato e inibidor. O efeito do inibidor pode ser minimizado na presença de altas concentrações de substrato,

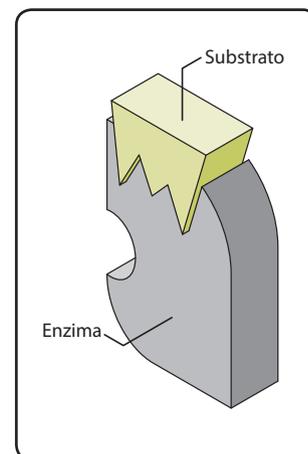


Figura 7.11a – Ligação enzima-substrato.

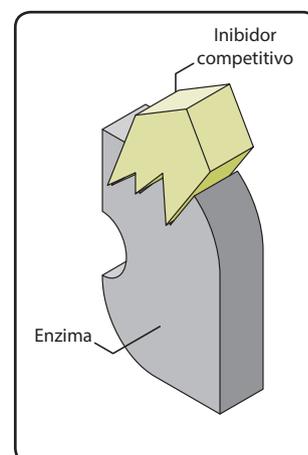


Figura 7.11b – Ligação enzima-inibidor competitivo.

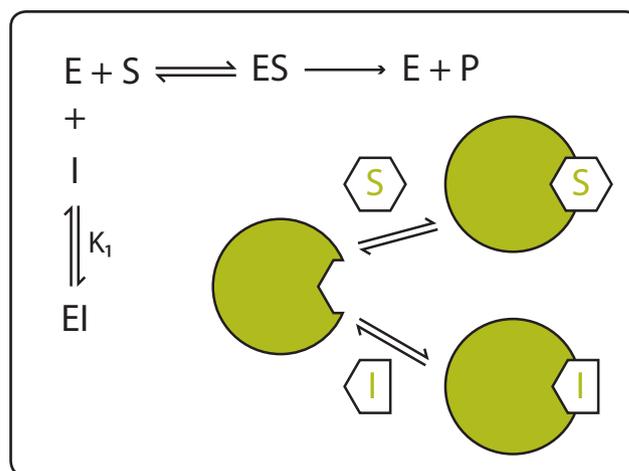


Figura 7.12 – Competição entre substrato (S) e inibidor (I) por uma ligação com o sítio ativo da enzima.

ou seja, altas concentrações de substrato podem deslocar o inibidor. Em altas concentrações de substrato, a reação pode, ainda, atingir a sua $V_{máx}$. Esse efeito pode ser avaliado estudando-se a velocidade da reação na presença de diferentes concentrações de substrato e inibidor. A análise dos parâmetros cinéticos descritos pelo modelo de Michaelis-Menten fornece uma ferramenta importante para a avaliação do efeito de um inibidor competitivo, uma vez que, na sua presença, o K_M da reação é alterado, ou seja, aumenta (Figura 7.13).

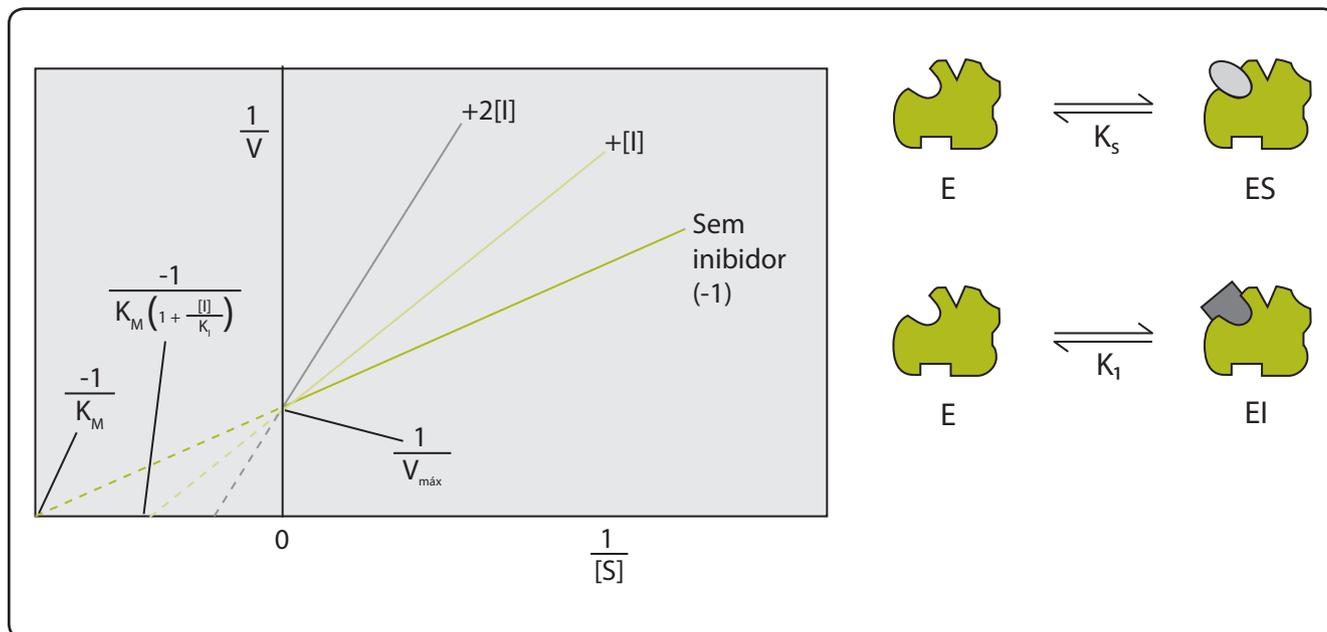


Figura 7.13 – Alteração da reta da equação de Lineweaver-Burk em função da presença de diferentes concentrações de um inibidor.

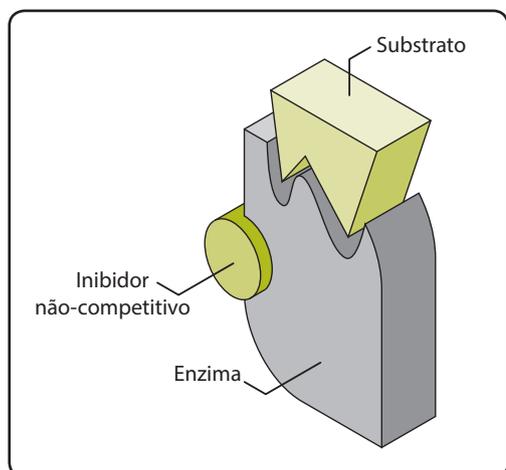


Figura 7.14 – Ligação de um inibidor não competitivo modifica a conformação da enzima e inibe a ligação do substrato.

O segundo tipo de inibição reversível é denominada de **inibição não-competitiva**. Nesse caso, o inibidor se liga à enzima em uma região da molécula distinta do sítio ativo. Essa ligação ou impede que o substrato tenha acesso ao sítio ativo ou altera a conformação da enzima, o que, conseqüentemente, muda também a conformação do sítio ativo, impedindo a interação enzima-substrato (Figura 7.14).

Os inibidores não competitivos não apresentam semelhança estrutural com o substrato e não se estabelece uma relação de competição entre ambos. Tanto o inibidor pode se ligar ao complexo ES, quanto o substrato pode potencialmente se ligar ao complexo EI (Figura 7.15).

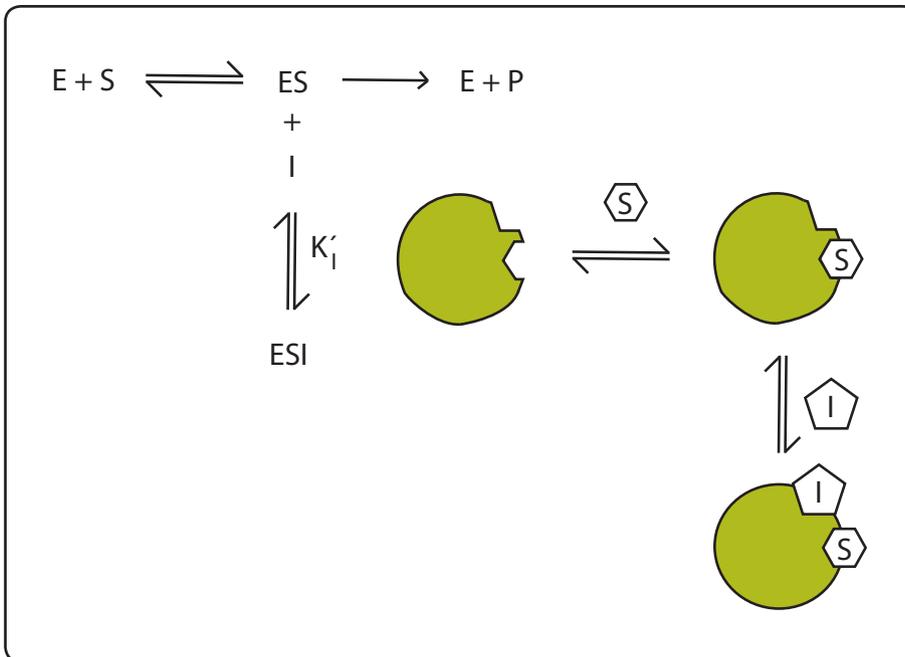


Figura 7.15 – Substrato e inibidor não competitivo não competem pela ligação com o sítio ativo da enzima.

A adição de mais substrato (alta concentração de substrato) à reação não reverte à inibição, ou seja, o efeito do inibidor permanece. Novamente, a cinética enzimática pode nos auxiliar a entender o efeito do inibidor, uma vez que pode ser observada uma diminuição da $V_{máx}$, dado que uma parte das moléculas de enzima está inibida (Figura 7.16).

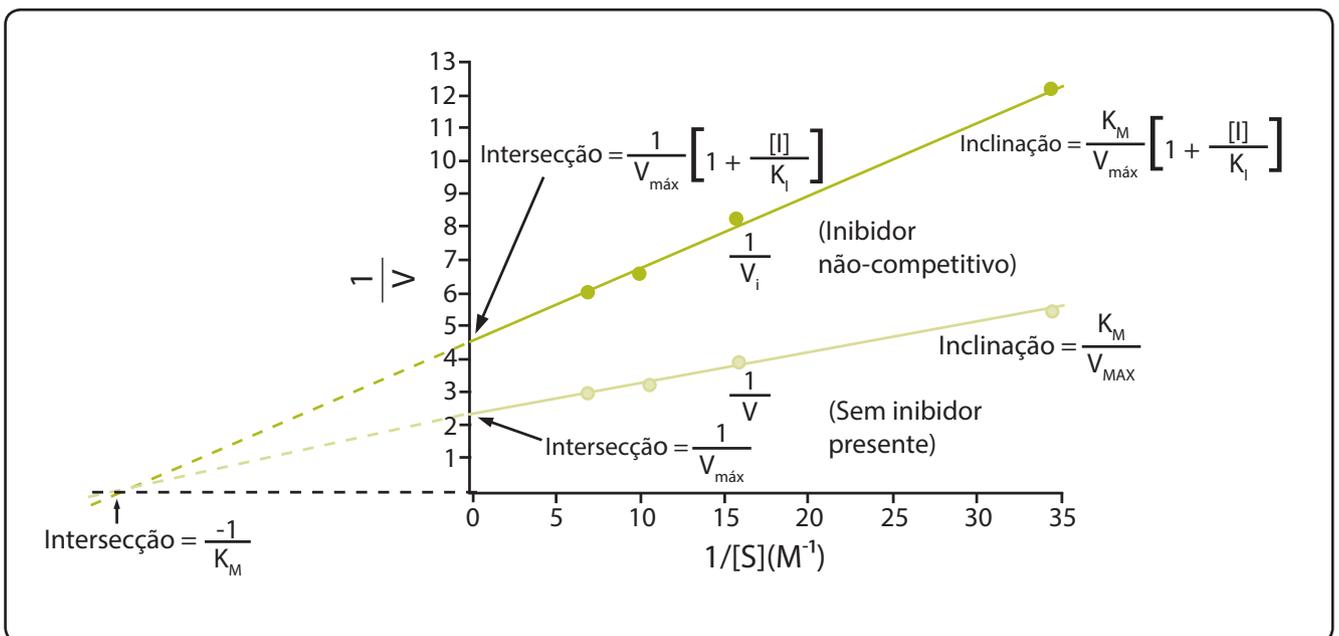


Figura 7.16– Presença de inibidor não competitivo diminui o $V_{máx}$ e também altera a equação da reta de Lineweaver-Burk.

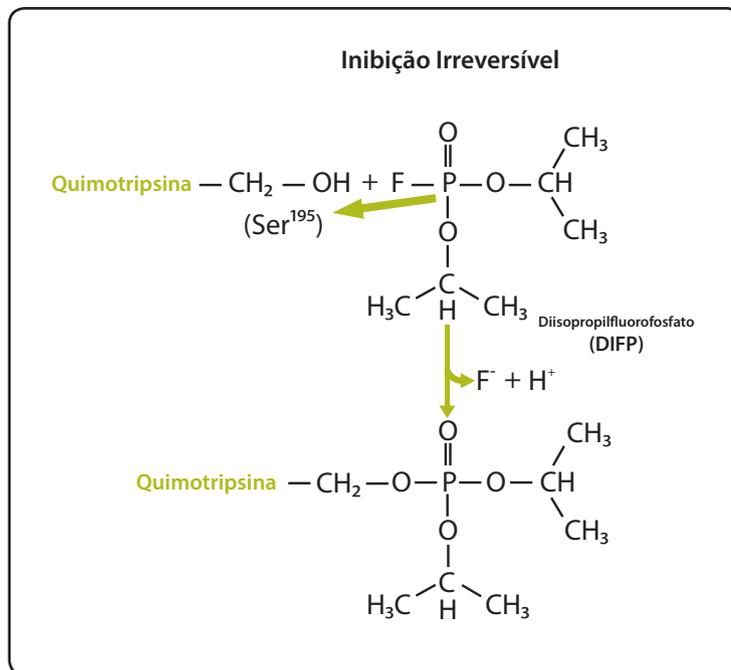


Figura 7.17 – Inibição irreversível da quimotripsina pelo DIFP.

Muitos inibidores podem se ligar covalentemente à cadeia lateral de um resíduo de aminoácido essencial ao sítio ativo da enzima. Nesse caso, a ligação covalente do inibidor ao sítio ativo da enzima causa uma **inibição irreversível**. Assim, a conformação da enzima é afetada de forma permanente. Um exemplo está mostrado na Figura 7.17, com a ligação covalente do composto diisopropilfluorofosfato (DIFP) a um resíduo de serina (Ser¹⁹⁵) do sítio ativo de uma serino-protease, a quimotripsina. Esse composto pode também se ligar à serina presente no sítio ativo da enzima acetilcolinesterase,

sendo, por isso, chamado de gás dos nervos, extremamente tóxico. Muitos inseticidas, como o malation e o paration, foram desenvolvidos a partir do DIFP. Eles matam os insetos pelo mesmo mecanismo, ou seja, pela inibição da acetilcolinesterase. Os insetos são bastante sensíveis à ação desses compostos, mas devemos lembrar que eles são tóxicos também para os seres humanos.

Entre as substâncias naturais ou sintéticas que podem causar uma inibição enzimática irreversível, podemos citar o ácido acetil-salicílico, a aspirina. Nesse caso, o composto tem propriedades farmacológicas, atuando como anti-inflamatório, antipirético e analgésico. A aspirina transfere de forma irreversível seu grupo acetil para o grupo OH de um resíduo de serina da enzima ciclooxigenase, causando a inibição de sua atividade. Essa enzima está envolvida na primeira reação da síntese de prostaglandinas (PGAs), substâncias com atividade biológica derivadas do ácido graxo poli-insaturado, ácido araquidônico (20:4) (veja o capítulo sobre lipídeos). As PGAs têm vários efeitos fisiológicos, entre eles, a indução da resposta inflamatória e da febre. O efeito anti-inflamatório e antifebril da aspirina está relacionado à inibição que ela causa sobre a síntese das PGAs.

Outro exemplo importante de inibição enzimática irreversível envolve a ação da penicilina, um antibiótico largamente empregado,

cuja descoberta, nos anos 1940, teve um grande impacto na saúde humana. A penicilina atua como um inibidor irreversível ao se ligar covalentemente à enzima envolvida na síntese da parede bacteriana, ou seja, da peptidoglicana. Seu efeito inibitório se dá sobre a formação do *cross-linking* ou rede de peptídeos que une as cadeias polisacarídicas da peptidoglicana (veja o capítulo sobre carboidratos).

7.7 Regulação enzimática por modificação covalente

A atividade de algumas enzimas também pode ser regulada através de modificações covalentes. A modificação covalente da enzima pode resultar na ativação ou na inibição de sua atividade. Um tipo de modificação covalente importante envolve a adição ou a remoção de grupos fosfato em um determinado resíduo de aminoácido, como a serina, ou seja, implica na fosforilação e na desfosforilação da enzima. A fosforilação depende da ação de enzimas que transferem grupos fosfatos, as proteínas-quinases, enquanto a remoção desses grupos está a cargo das proteínas-fosfatases. Um exemplo bem conhecido de regulação da atividade enzimática dependente da modificação covalente da enzima por fosforilação é o da enzima glicogênio fosforilase que catalisa a hidrólise do glicogênio. Nesse caso, a forma ativa da enzima é a forma fosforilada, enquanto a forma desfosforilada é inativa. As duas formas (fosforilada e desfosforilada) podem ser interconvertidas uma na outra pela ação de quinases e fosfatases. Essa regulação da atividade enzimática e, conseqüentemente, de uma dada via metabólica, através de modificação covalente de uma enzima da via envolve a ação de hormônios.

7.8 Enzimas na indústria

As enzimas têm várias aplicações industriais. Uma delas é na obtenção de xarope de milho. Os animais não podem absorver a sacarose: para ser aproveitada, ela precisa sofrer a ação da enzima **sacarase**, também chamada **invertase**, existente nas células que recobrem o intestino delgado. Essa enzima catalisa a hidrólise da

Inibição Enzimática no Tratamento de Doenças

Um exemplo da utilização prática da inibição enzimática foi, durante muito tempo, a principal arma no tratamento de doenças de origem bacteriana. Os compostos denominados genericamente de sulfas são um potente agente antimicrobiano, pois competem com o ácido p -aminobenzoico, o qual é necessário para a síntese de um metabólito essencial para os agentes bacterianos, o ácido fólico. Um outro exemplo de aplicação da base bioquímica da inibição enzimática pode ser encontrado no tratamento da síndrome da imunodeficiência adquirida, AIDS. A estratégia utilizada tem sido desenvolver inibidores que bloqueiam seletivamente as ações de enzimas exclusivas do vírus da imunodeficiência humana (HIV), que causa a AIDS.

Um das mais importantes enzimas-alvo para o desenvolvimento de agentes terapêuticos é a HIV protease, essencial para a produção de novas partículas desse vírus. Ela catalisa o processamento de proteínas virais dentro de uma célula infectada. Sem essas proteínas, partículas viáveis do vírus não podem ser liberadas para infectar novas células. A estrutura da HIV protease, incluindo seu sítio ativo, foi conhecida a partir de resultados de cristalografia por raios X. Com essa estrutura em mente, foram desenvolvidos e sintetizados compostos que se ligam ao sítio ativo da enzima. Vários desses com-

postos foram aprimorados e são hoje comercializados por diversas empresas farmacêuticas. Esses inibidores da protease do HIV incluem o Saquinavir, da Hoffman-LaRoche; o Ritonavir, da Abbott Laboratories; o Indinavir, da Merck; o Viracept, da Pfizer; e o Amprenavir, da Vertex Pharmaceuticals.

Outros medicamentos voltados para a inibição de proteases têm sido desenhados, sintetizados e clinicamente testados para o tratamento de doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer (AD). Essa doença é caracterizada pela presença de placas cerebrais, as placas senis, formadas pela deposição de uma proteína, a β -amiloide ($A\beta$), nesse tecido. Pesquisas recentes identificaram a enzima responsável pela clivagem de uma proteína denominada proteína precursora da β -amiloide – APP. Essa enzima é uma protease, chamada de γ -secretase. Ela gera, a partir da APP, o fragmento correspondente a $A\beta$, o qual forma os depósitos ou placas no cérebro dos pacientes com AD. Moléculas de $A\beta$ são normalmente formadas, contendo 40 ou 42 resíduos de aminoácidos. Nos indivíduos com AD, a produção da segunda forma, a qual gera os depósitos ou placas cerebrais, é favorecida. A inibição da enzima poderia diminuir a produção de $A\beta$. Um dos primeiros compostos testados como inibidor da enzima γ -secretase foi o L-685, 458, desenvolvido pela Merck Research Laboratories.

sacarose a *D*-glicose e *D*-frutose, que são rapidamente absorvidas e lançadas na corrente sanguínea.

Entre os três dissacarídeos comuns, a sacarose apresenta o sabor mais doce. Ela é também mais doce que a glicose (tabela 7.4). Nos Estados Unidos, devido ao custo sempre maior do açúcar importado, obtido quer da cana, quer da beterraba, e devido à existência naquele país de grandes quantidades de *D*-glicose obtida pelo hidrólise do amido de milho, foi desenvolvido um novo processo industrial de produção de um adoçante mais eficaz a partir da *D*-glicose. Ele consiste na hidrólise do amido com a obtenção de *D*-glicose na forma de xarope de milho, uma solução neutra e

concentrada de *D*-glicose; esta é passada por uma coluna contendo um suporte inerte ao qual a enzima **glicose isomerase** foi ligada covalentemente. Mesmo imobilizada no suporte inerte, a enzima catalisa a reação *D*-glicose \leftrightarrow *D*-frutose e se obtém uma mistura equimolecular de *D*-glicose e *D*-frutose a partir do xarope de milho. Como a *D*-frutose é 2,5 vezes mais doce que a glicose, o poder adoçante do xarope de milho é muito aumentado. Esse produto, mais barato que a sacarose e tão nutritivo quanto ela, está sendo empregado nas indústrias de alimentos, refrigerantes e sorvetes. Recentemente, um novo produto constituído de 90% de frutose, obtido também pelo emprego da glicose isomerase, foi colocado no mercado como adoçante doméstico, mas, levando-se em conta o peso, ele é duas vezes mais caro. Embora mais doce que a sacarose, e, portanto, obrigando à ingestão de menor número de calorias para o mesmo efeito adoçante, ele não apresenta nenhuma vantagem nutricional para justificar seu preço muito maior.

Obtida de vegetais.

Tabela 7.4 – Sabor doce relativo de alguns açúcares e da sacarina.

Açúcar	Sabor Doce Relativo
Sacarose	100
Glicose	70
Frutose	170
Maltose	30
Lactose	16
Sacarina	40.000

Para uso por pacientes diabéticos ou obesos, foram desenvolvidos adoçantes artificiais sem nenhum valor calórico alimentar, pois, para eles, a ingestão de excesso de açúcar é muito perigosa. Os adoçantes artificiais estimulam as mesmas estruturas linguais estimuladas pelos açúcares, mas não são usados como alimentos pelo organismo. O adoçante artificial de mais largo emprego é a **sacarina** (Figura 7.18), que é 400 vezes mais doce que a sacarose.

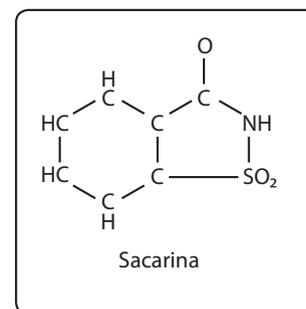


Figura 7.18 – Estrutura da sacarina.

Resumo

Enzimas são biomoléculas que catalisam e regulam as milhares de reações químicas que ocorrem nos organismos. As enzimas são majoritariamente proteínas, mas algumas formas de RNA apresentam atividade catalítica. A base da atividade catalítica das enzimas envolve a diminuição da energia de ativação da reação e a formação de um complexo enzima-substrato.

Algumas enzimas requerem um cofator, o qual pode ser um íon metálico ou uma molécula orgânica. No último caso, essa molécula é denominada coenzima.

A cinética de uma reação catalisada por uma enzima é explicada pela equação de Michaelis-Menten, a partir da qual são definidos dois importantes parâmetros cinéticos: a constante de Michaelis-Menten, K_M , e a velocidade máxima, $V_{máx}$.

A catálise enzimática envolve a ligação do substrato ao sítio ativo da enzima. As enzimas apresentam uma cinética de saturação, porque existe um número limitado de sítios ativos.

As enzimas alostéricas são influenciadas pela ligação reversível, não covalente, de moléculas chamadas de efetores positivos ou negativos, o que modula a atividade delas.

A ação ou atividade de uma dada enzima pode ser inibida pela presença de compostos que podem se ligar à enzima. Esses compostos, denominados inibidores, podem causar uma inibição reversível ou irreversível. A inibição reversível pode ser de dois tipos: competitiva ou não competitiva.

Bibliografia

CAMPBELL, M. K., FARRELL, S.O. **Bioquímica**: Bioquímica básica. 5. ed. São Paulo: Thomson Learning, 2007. v. 1.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 5. ed. Porto Alegre: Sarvier/Artmed, 2011.

Bibliografia comentada

Bioquímica

Nesse CD, o material sobre cinética enzimática é interativo e permite trabalhar os conceitos dentro de uma simulação de um experimento de laboratório. Além disso, há a possibilidade de realizar algumas das atividades de modo a se avaliar a fixação e o entendimento correto dos conceitos sobre o assunto.

GALEMBECK, E.; TORRES, B. B. **Bioquímica** – Softwares educacionais. Cinética Enzimática. Campinas: Funcamp, 2003.

Vias Metabólicas e Energia Celular

Neste capítulo, estudaremos a classificação e os principais tipos de metabolismo celular, bem como entenderemos o papel do ATP e do NADPH no metabolismo celular. Descreveremos, também, em linhas gerais, a obtenção de energia a partir de biomoléculas.

Células autotróficas

Que se alimentam por si mesmas



Os organismos vivos podem ser divididos em dois grandes grupos de acordo com a forma química do carbono que eles requerem do meio ambiente. As **células autotróficas** podem usar o dióxido de carbono da atmosfera como única fonte de carbono e construir todas as suas biomoléculas a partir dele. São exemplos desse grupo de organismos as bactérias fotossintetizantes e as células das folhas verdes das plantas. Alguns organismos autotróficos, como as cianobactérias, podem usar, também, o nitrogênio atmosférico para gerar seus componentes nitrogenados. Por outro lado, as **células heterotróficas** não podem utilizar o dióxido de carbono atmosférico e necessitam obter os átomos de carbono do meio ambiente na forma de moléculas orgânicas relativamente complexas, tais como a glicose. As células dos animais superiores e da maioria dos microrganismos são heterotróficas. As células autotróficas são relativamente autossuficientes, enquanto as células heterotróficas, devido as suas necessidades de carbono em formas mais elaboradas, dependem de produtos formados por outras células.

Células heterotróficas

Que se alimentam de outras



Muitos organismos autotróficos são fotossintetizantes e obtêm energia da luz solar, enquanto as células heterotróficas obtêm a energia que necessitam através da degradação dos nutrientes orgânicos sintetizados pelos organismos autotróficos. Seres autotróficos e heterotróficos vivem juntos na biosfera, participando de um ciclo vasto e interdependente, no qual os organismos autotróficos empregam o CO_2 atmosférico para constituir suas biomoléculas e, neste processo, alguns deles geram oxigênio gasoso, o qual é liberado na atmosfera. Por sua vez, os heterotróficos utilizam os produtos orgânicos dos

autotróficos como nutrientes e devolvem o CO_2 à atmosfera. Assim, o carbono e o oxigênio são constantemente reciclados na biosfera, um processo que envolve enormes quantidades de matéria e cuja força condutora é provida pela energia solar (Figura 8.1).

Muitas células, como as leveduras, podem viver de forma quer aeróbica (na presença de oxigênio), quer anaeróbica (na ausência de oxigênio): tais organismos são chamados facultativos. A maioria das células heterotróficas, particularmente aquelas dos organismos superiores, é facultativa, entretanto, sempre que o oxigênio está presente no meio, elas utilizarão suas vias aeróbicas para oxidar os nutrientes.

Nem todas as células de um dado organismo são da mesma classe. Por exemplo, nas plantas superiores, as células verdes que contêm clorofilas são células autotróficas fotossintetizantes, porém as células das raízes, que não contêm clorofila, são heterotróficas. Ainda existem as células verdes das folhas, que são autotróficas apenas durante o período luminoso do dia, e no escuro funcionam como heterotróficas e obtêm energia pela oxidação dos carboidratos sintetizados à luz do dia.

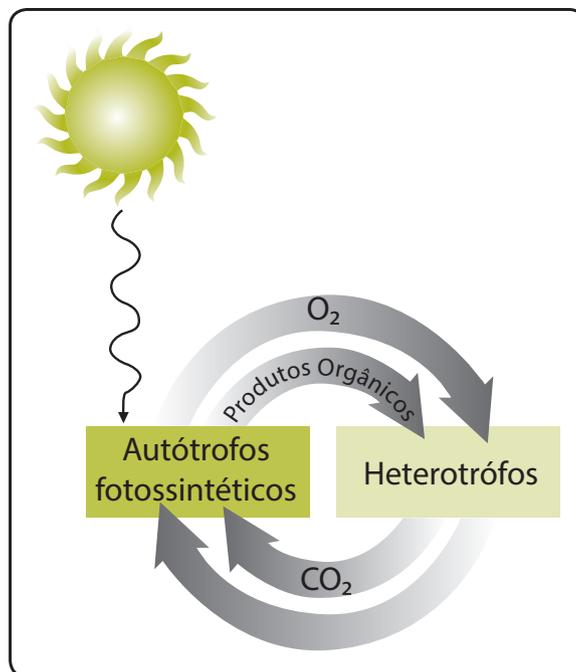


Figura 8.1 – Ciclagem de moléculas entre organismos autotróficos e heterotróficos.

8.1 Metabolismo: vias catabólicas e vias anabólicas

O metabolismo envolve uma série de reações bioquímicas que ocorrem de forma coordenada.

Esse metabolismo tem duas fases: **catabolismo** e **anabolismo** (Figura 8.2). O catabolismo é a fase degradativa do metabolismo, na qual as moléculas orgânicas, carboidratos, lipídeos e proteínas provenientes do meio ambiente ou dos reservatórios de nutrientes da própria célula são degradados por reações que ocorrem de forma consecutiva, de modo a originar produtos finais menores e mais simples, como o ácido láctico, o CO_2 e a amônia. O catabolismo é acompanhado pela

liberação da energia livre inerente à estrutura complexa das grandes moléculas orgânicas. Em certos passos de uma dada via catabólica, a maior parte de energia livre é conservada na forma de uma molécula transportadora de energia química, a adenosina trifosfato (ATP), o que é feito através do acoplamento de reações enzimáticas. Esse acoplamento permite que a energia livre de uma dada reação exergônica resulte na fosforilação da adenosina difosfato (ADP) e na consequente formação de ATP. Assim, o ATP é a forma de armazenamento de energia química na célula e pode ser usada quando necessário, como veremos abaixo (anabolismo). Alguma energia também pode ser conservada na forma de átomos de hidrogênio ricos em energia (poder redutor), os quais são transportados pela coenzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato, em sua forma reduzida (NADPH).

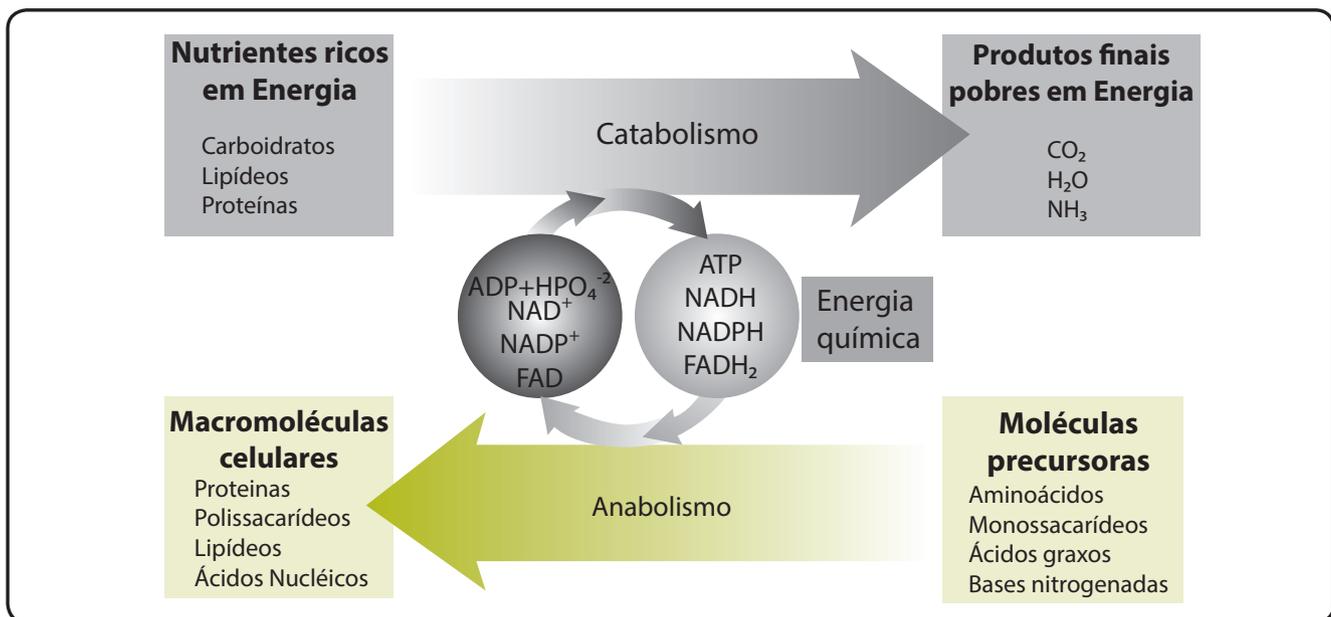


Figura 8.2 – Catabolismo e anabolismo: as vias de degradação e síntese, respectivamente, do metabolismo celular.

O anabolismo é também chamado de reações de biossíntese ou fase biossintetizadora do metabolismo. No anabolismo, as pequenas moléculas precursoras, ou unidades fundamentais, são reunidas para formar polímeros, ou seja, as macromoléculas componentes das células, tais como as proteínas e os ácidos nucleicos. Como a biossíntese resulta em uma maior complexidade em termos de tamanho e de estrutura molecular, ela requer átomos de hidrogênio ricos em energia, os quais são fornecidos pelo NADPH.

O catabolismo e o anabolismo ocorrem simultaneamente nas células e a velocidade de cada um é regulada independentemente.

8.1.1 Catabolismo

A degradação enzimática de cada um dos principais tipos de biomoléculas (carboidratos, lipídios e proteínas) ocorre passo a passo, através de reações enzimáticas consecutivas, e libera energia (Figura 8.3). Existem três estágios principais no catabolismo aeróbico. No estágio I, as macromoléculas celulares são degradadas em suas unidades fundamentais. Assim, por exemplo, os polissacarídeos são degradados a hexoses e pentoses, enquanto os lipídeos são degradados em ácidos graxos e glicerol, e as proteínas são hidrolisadas em seus 20 aminoácidos primários.

No estágio II do catabolismo, os vários produtos formados no estágio I são reunidos e convertidos em um número menor de moléculas ainda mais simples. Desse modo, as hexoses, as pentoses e o glicerol do estágio I são degradados a um intermediário mais simples, com três carbonos, o piruvato. O piruvato, por sua vez, é

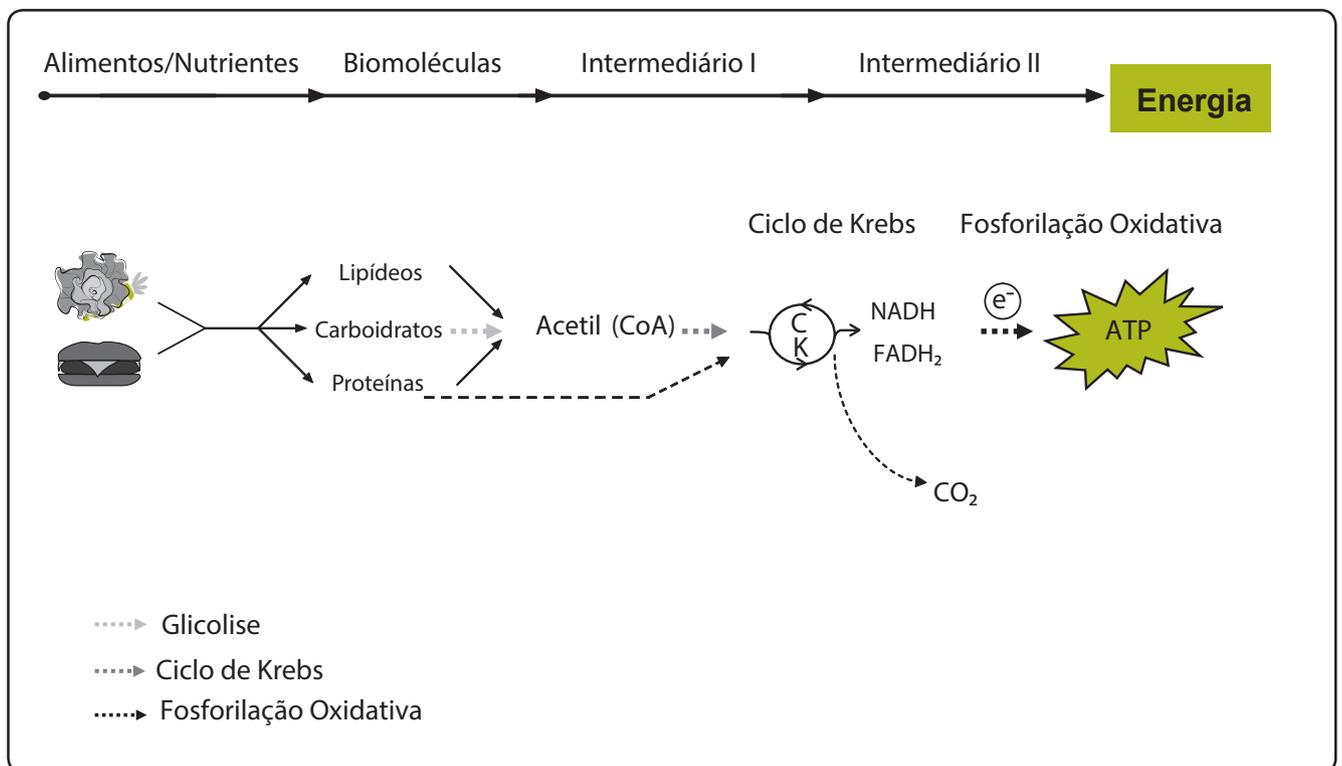


Figura 8.3 – Esquema simplificado do catabolismo de diferentes moléculas e seus estágios.

Hans Krebs

Hans Krebs, trabalhando na Universidade de Sheffield, em 1937, propôs a série de reações em um mecanismo cíclico para a oxidação completa do piruvato, proveniente da quebra de carboidratos. Inicialmente, ele chamou essa via cíclica de ciclo do ácido cítrico, o primeiro intermediário formado. Mais tarde, a via ficou conhecida como ciclo dos ácidos tricarboxílicos (TCA), em função da natureza de vários dos seus intermediários. Muitas vezes, no entanto, essa via é denominada de ciclo de Krebs, em homenagem ao pesquisador que a descreveu.

convertido em uma unidade de dois carbonos (C2), o grupo acetil, o qual é transportado dentro da célula, ligado a uma coenzima, a coenzima A, ou seja, na forma de acetil-coenzima A (acetil-CoA).

De forma similar, os ácidos graxos e o esqueleto carbônico dos aminoácidos são quebrados em grupos acetil para formar o acetil-CoA. Dessa forma, o acetil-CoA é o produto final comum do estágio II do catabolismo.

No estágio III, o grupo acetil do acetil-CoA é introduzido no Ciclo dos Ácidos Tricarboxílicos (TCA) ou Ciclo de Krebs (CK). O TCA pode ser considerado como uma via final comum de degradação de biomoléculas, através da qual a maioria das moléculas fornecedoras de energia são finalmente oxidadas a dióxido de carbono.

É importante notar que as vias catabólicas convergem em direção ao TCA, o qual constitui o estágio III do catabolismo. Por isso, as vias catabólicas são chamadas de vias convergentes.

Durante o estágio I do catabolismo, centenas de proteínas diferentes são degradadas a apenas 20 aminoácidos; no estágio II, esses 20 aminoácidos são degradados principalmente em acetil-CoA e amônia (NH_3); e no estágio III, os grupos acetil (do acetil-CoA formado) são oxidados via TCA a CO_2 . De maneira semelhante, no estágio I, muitos polissacarídeos diferentes são degradados a alguns açúcares simples, e estes são convertidos em acetil-CoA no estágio II e, finalmente, em CO_2 no estágio III.

Ainda no estágio III do catabolismo, os elétrons gerados no TCA (na forma de duas coenzimas reduzidas, NADH e FADH_2) são finalmente oxidados na cadeia transportadora de elétrons na mitocôndria. A esse fluxo de elétrons está acoplada a fosforilação do ADP para a produção de ATP. Esse fluxo de elétrons na cadeia transportadora reduz, ao final, o oxigênio molecular (o acceptor final de elétrons na cadeia), produzindo H_2O .

Assim, ATP e H_2O são dois produtos finais do catabolismo celular, além do CO_2 e da amônia (ou outros produtos nitrogenados).

Dessa maneira, podemos fazer uma analogia entre o catabolismo e seu conjunto de vias metabólicas convergentes com um grande funil (Figura 8.4). O funil representaria, na nossa analogia, o estágio II e o estágio III do catabolismo. Apesar da natureza distinta dos vários tipos de biomoléculas e das diversas vias catabólicas para cada uma delas no estágio I, a porta de entrada para o grande funil são os grupos acetil carregados pela coenzima A (acetil-CoA). Desse modo, como mencionamos anteriormente, o acetil-CoA é o produto final comum do estágio II do catabolismo e também a porta de entrada comum para o funil. Ao entrar no funil, os grupos acetil-CoA vão ser metabolizados através das reações em cadeia (desidrogenações e descarboxilação oxidativa, entre outras) da via que ocupa o corpo do funil, ou seja, o ciclo dos ácidos tricarbóxicos (TCA) ou ciclo de Krebs (CK). Como já vimos, essas reações levam à produção de CO_2 e elétrons, os quais são transferidos para as coenzimas transportadoras de elétrons, o NAD^+ e o FAD^+ , que passam ao seu estado reduzido, ou seja, $\text{NADH} + \text{H}^+$ e FADH_2 . Outro produto gerado no corpo do funil (CK) é a guanosina trifosfato (GTP), a partir da fosforilação da guanosina difosfato ($\text{GDP} + \text{Pi} = \text{GTP}$), aproveitando a energia livre de uma das reações do CK. Vemos aqui um outro nucleotídeo trifosfato que não o ATP como forma de armazenamento de energia química celular.

A abertura da porta de entrada para o funil, fornecendo matéria prima na forma de acetil-CoA para o seu corpo, ou seja, o CK, compromete o metabolismo celular com uma estratégia aeróbica. Assim, a parte final do funil representa a Cadeia Respiratória (CR), para a qual fluem as coenzimas reduzidas $\text{NADH} + \text{H}^+$ e FADH_2 geradas no corpo do funil. As coenzimas vão doar seus elétrons para os vários componentes da CR, em uma série de reações de óxido-redução em cadeia, sendo o acceptor final desses elétrons o oxigênio molecular. Com a redução do oxigênio forma-se H_2O , a água metabólica. Como pode ser observada na Figura 8.4, na parte final do funil (saída), o transporte de elétrons na CR, está acoplado à fosforilação do ADP, de forma a conservar energia química na forma de ATP. Essa produção de ATP está associada a três pontos específicos ao longo do trajeto destes elétrons nas reações de oxidorredução em cadeia que ocorrem na CR.

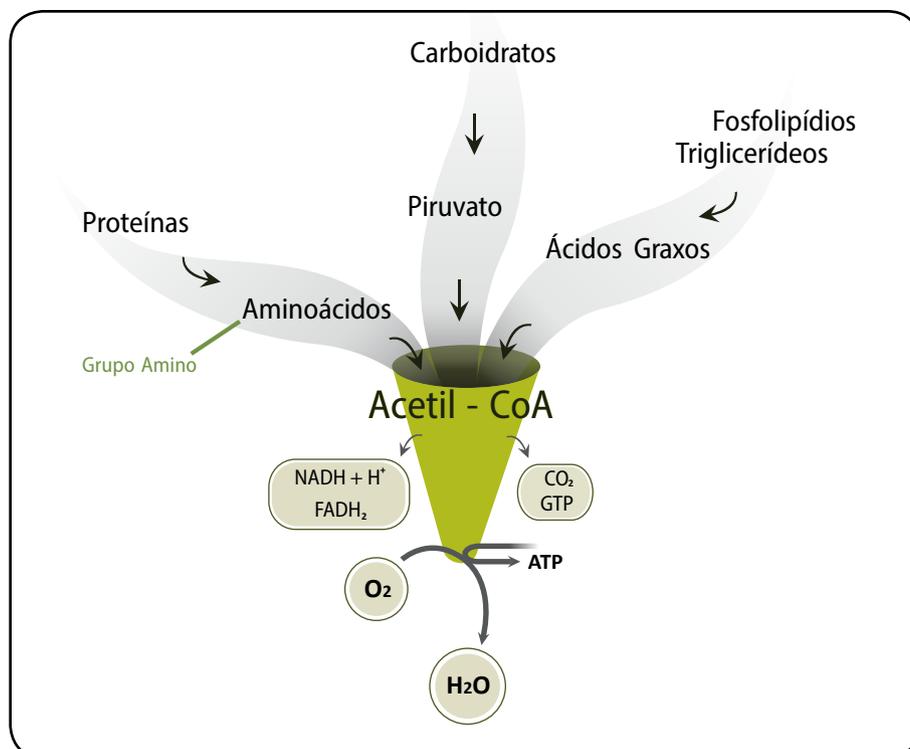


Figura 8.4 – Analogia entre as vias metabólicas convergentes do catabolismo e o funil representado pelo ciclo de Krebs.

8.1.2 Anabolismo

O anabolismo (biossíntese) também ocorre em três estágios e começa com moléculas precursoras pequenas. Por exemplo, a biossíntese de proteínas inicia-se com a formação de α -cetoácidos. No estágio seguinte, os α -cetoácidos são aminados. Na fase final do anabolismo, esses aminoácidos são reunidos de forma ordenada em cadeias polipeptídicas, formando-se, assim, um grande número de proteínas diferentes.

De maneira semelhante, grupos acetil são reunidos em moléculas de ácidos graxos e estes, por sua vez, ordenadamente reunidos em moléculas para a produção de lipídeos variados. No caso da síntese de glicose (carboidrato), o piruvato e o lactato estão entre as moléculas precursoras utilizadas. O anabolismo é um processo divergente, ou seja, tem início com poucas moléculas precursoras pequenas e, a partir delas, constrói-se uma grande variedade de macromoléculas. As vias anabólicas centrais têm muitas ramificações que levam à formação de centenas de componentes celulares diferentes, ou seja, as vias anabólicas são ditas vias divergentes.

Cada um dos estágios principais, tanto no catabolismo, como no anabolismo de uma dada biomolécula, é catalisado por um sistema multienzimático. As transformações químicas consecutivas que ocorrem em cada uma das rotas metabólicas centrais do metabolismo são virtualmente idênticas em todas as formas de vida.

Cabe salientar que o anabolismo (biossíntese), além de consumir energia química na forma de ATP e ser no seu conjunto divergente, as vias que o integram não são simplesmente o inverso da via catabólica correspondente. Mesmo quando semelhanças ocorrem, sempre há entre as reações aquela(s) que, sendo irreversível(veis), são substituídas por outras, termodinamicamente mais favoráveis, sendo denominadas de desvios.

8.1.3 Via anfibólica

O ciclo dos ácidos tricarboxílicos ou ciclo de Krebs é uma via metabólica especial.

O ciclo dos ácidos tricarboxílicos (TCA) consiste em uma série de reações, cada uma delas catalisada por uma enzima, que ocorre na mitocôndria das células eucarióticas e na parte interna da membrana plasmática de procariotos. Através dessas reações, uma unidade de dois carbonos (C2) unida a uma molécula de coenzima A, ou seja, o acetil-CoA, o qual é resultante da quebra de metabólitos, é adicionada a um composto de quatro átomos de carbono (C4), o oxaloacetato, para produzir um composto de seis átomos de carbono (C6), o ácido cítrico (ou citrato). Posteriormente, durante a evolução do ciclo, dois desses carbonos são sucessivamente removidos como CO_2 , e o oxaloacetato é regenerado. Além disso, em quatro reações do ciclo são gerados elétrons que, na forma de coenzimas reduzidas (NADH e FADH_2), são transportados para a cadeia transportadora de elétrons.

Esse conjunto de reações é fundamental para o catabolismo, pois é a porta de entrada para a oxidação completa de grupos acetil (C2) provenientes da degradação de diferentes biomoléculas. Esses grupos acetil entram no TCA ligados a uma coenzima, a coenzima A, ou seja, como grupos acetil-CoA. Algumas moléculas, como alguns aminoácidos, podem também entrar na via diretamente, na

forma de intermediários da mesma. O TCA é a via fundamental no caminho da oxidação de biomoléculas em condições aeróbicas, pois fornece, também, matéria-prima para a etapa final do catabolismo, ou seja, a cadeia transportadora de elétrons. Esse transporte de elétrons, por sua vez, tem acoplado a si a produção de ATP.

Por outro lado, intermediários do TCA podem também ser desviados para reações de biossíntese, ou seja, para o anabolismo celular. Dessa forma, o TCA pode ser considerado como uma **via anfibólica**, atuando tanto no catabolismo como no anabolismo.

8.2 O ATP transporta energia das reações catabólicas até as reações anabólicas

Moléculas nutrientes complexas, como a glicose, contêm muita energia potencial devido ao seu alto grau de organização estrutural. Quando a molécula de glicose é degradada, por oxidação, a seus produtos finais simples e pequenos, CO_2 e H_2O , uma grande quantidade de energia livre torna-se disponível. A energia livre é a forma de energia capaz de produzir trabalho sob condições de pressão e temperatura constantes. Entretanto, se não houver alguma forma de capturar ou conservar a energia livre liberada na ocasião da oxidação da glicose, ela se dissipará na forma de calor. Embora a energia calorífica seja útil na manutenção da temperatura corporal nos animais superiores, ela não pode ser usada para realizar o trabalho mecânico da contração muscular e nem o trabalho químico necessário para a biossíntese de moléculas.

Dessa forma, uma grande parte de energia livre liberada da glicose e de outros combustíveis celulares durante seu catabolismo é conservada pelo acoplamento da síntese de adenosina trifosfato (ATP) a partir de adenosina difosfato (ADP) e fosfato inorgânico. Essas substâncias, ATP, ADP e fosfato, estão presentes em todas as células vivas e atuam como sistema transmissor de energia universal. A energia química assim conservada na forma de ATP pode realizar trabalho de quatro formas diferentes. Ela pode prover a energia necessária para o trabalho químico de biossíntese. Nesse processo, o grupo, ou grupos, fosfato terminal do ATP é transfe-

rido enzimaticamente para moléculas ou unidades fundamentais precursoras, que se tornam, assim, “energizadas” ou “ativadas” e preparadas para serem reunidas em macromoléculas. O ATP é também a fonte de energia para a motilidade celular ou para a contração muscular. O ATP é o fornecedor de energia para o transporte de nutrientes através de membranas e contra gradientes de concentração. A energia do ATP é também usada para assegurar a transferência de informação genética durante a biossíntese do DNA, do RNA e de proteínas.

Sempre que a energia química do ATP é empregada para realizar trabalho celular, o seu grupo fosfato terminal é perdido e aparece como fosfato inorgânico livre, o ADP restante é a forma descarregada do sistema transportador de energia. O ADP pode ser recarregado com um grupo fosfato, regenerando o ATP, em reações que são acopladas àquelas que liberam energia e que ocorrem durante a degradação de biomoléculas na célula. Temos assim, nas células, um ciclo de energia em que o ATP serve como um elo de transporte de energia, unindo os processos celulares que liberam ou fornecem energia àqueles que a consomem. O ATP pode ser produzido a partir de diferentes estratégias metabólicas.

8.2.1 Onde e quando o ATP é formado?

O ATP é sintetizado nas células a partir de ADP e fosfato inorgânico (Pi). De longe, a maior proporção da produção de ATP ocorre na mitocôndria e nos cloroplastos, estes presentes nas plantas verdes. Essas organelas, as quais apresentam uma membrana dupla (uma membrana externa e uma interna), possuem uma estrutura especial necessária para a síntese de ATP. Os organismos procarióticos produzem ATP de forma semelhante, mas, nesse caso, essa produção ocorre nas dobras da membrana plasmática.

Em ambos os processos, a produção de ATP depende de um fluxo ou transporte de elétrons através de uma cadeia transportadora de elétrons. Na produção de ATP na mitocôndria, durante a respiração celular, os elétrons provenientes do catabolismo das biomoléculas fluem por esses transportadores até o aceptor final, o oxigênio, que é reduzido, formando H_2O . Esse fluxo de elétrons

através de uma série de transportadores na mitocôndria é denominado de cadeia respiratória. Esse transporte de elétrons tem a fosforilação do ADP acoplada a ele. A produção de ATP, acoplada ao transporte de elétrons na cadeia respiratória, é chamada de **fosforilação oxidativa**.

De modo semelhante, o fluxo de elétrons em uma cadeia transportadora de elétrons ocorre no cloroplasto. Nesse processo, os elétrons são oriundos da excitação do pigmento clorofila pela luz solar, na fase clara da fotossíntese, o que gera, também, a produção de ATP. A produção de ATP dependente de luz é denominada **fotofosforilação**.

Uma vez que praticamente toda a vida na Terra é dependente da energia luminosa do Sol, os cloroplastos das plantas verdes e as estruturas análogas nas cianobactérias e nas bactérias fotossintetizantes são os sítios-chave para a produção de ATP. Assim, essa produção de ATP está diretamente ligada à fase clara da fotossíntese.

A fotossíntese é o processo que captura a energia luminosa solar e a converte em energia química, na forma de ATP, e poder redutor, na forma de NADPH. A primeira parte do processo fotossintético envolve reações fotoquímicas, ou seja, reações dependentes de luz. Essas reações perfazem a **fase clara** ou fase dependente de luz da fotossíntese. A captura de fótons e a conversão de energia luminosa em energia química, na forma de ATP e NADPH, é usada para a síntese de todas as moléculas orgânicas que formam a planta. Essa síntese utiliza o CO_2 atmosférico em uma série de reações, denominadas de **fase escura** da fotossíntese. Em outras palavras, o CO_2 é fixado em uma molécula orgânica, a glicose, às custas do ATP e do NADPH, gerados na fase clara. O resultado final da absorção da energia luminosa é que o organismo fotossintetizante pode combinar moléculas muito simples, CO_2 , H_2O e NH_3 , para sintetizar as biomoléculas que necessita.

Além desses dois mecanismos principais de produção de ATP, uma pequena quantidade de ATP é produzida no citoplasma celular. Esse tipo de produção de ATP ocorre normalmente em algumas vias metabólicas, como a via glicolítica, a partir de modificações químicas sutis em uma molécula intermediária da via. Nesse caso, a produção de ATP independe da presença de oxigênio ou da luz solar. Tal

mecanismo de produção de ATP é chamado de **fosforilação ao nível do substrato**. Essa produção de ATP é importante quando células, como as células musculares, por exemplo, estão operando em condições anaeróbicas. Em condições normais, essa produção de ATP representa somente uma pequena proporção da energia total requerida pela célula eucariótica. O ATP pode ser produzido a partir de diferentes estratégias metabólicas, conforme mostrado na Figura 8.5.

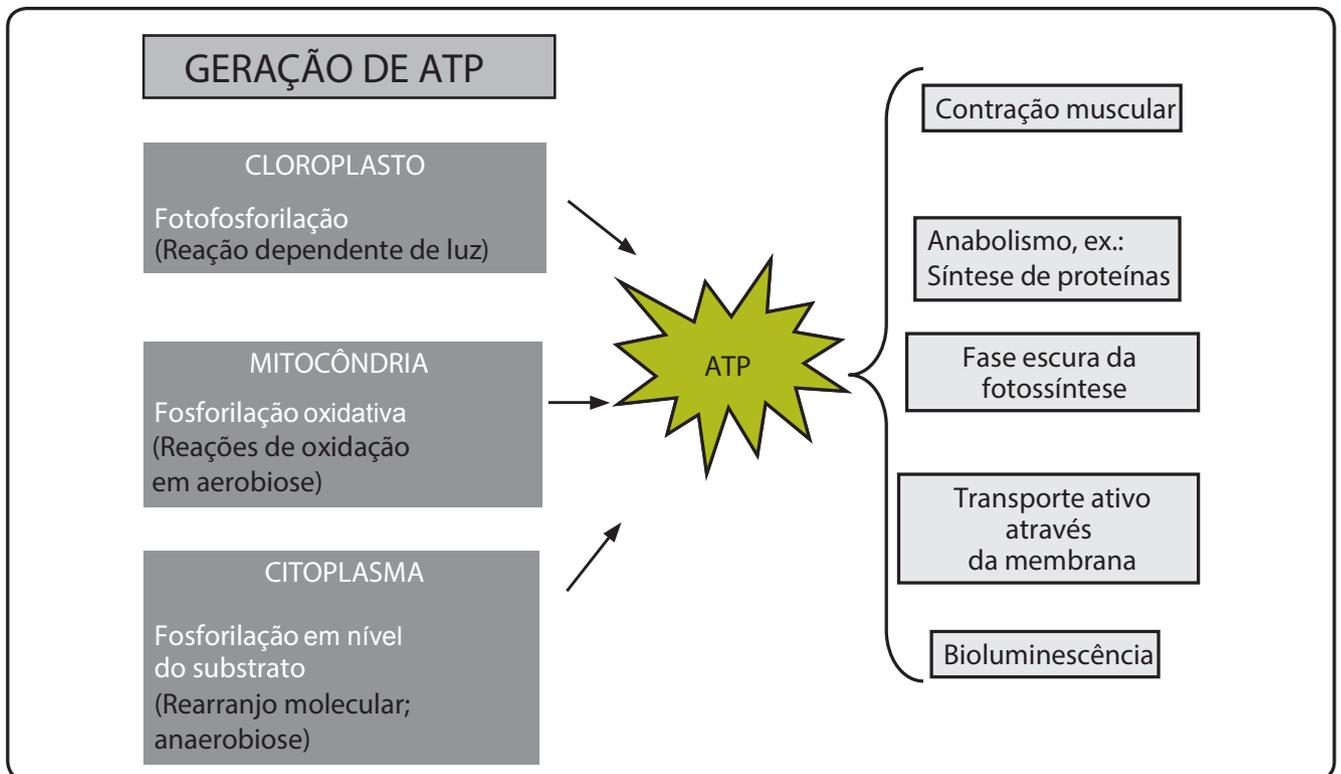


Figura 8.5 – Diferentes estratégias de produção de ATP nas células.

8.2.2 O NADPH transporta energia na forma de força redutora

Uma segunda maneira de transporte de energia química das reações catabólicas até as reações de biossíntese que requerem energia é na forma de átomos de hidrogênio ou, então, de elétrons.

Quando a glicose é formada a partir de CO_2 durante a fotossíntese, ou quando os ácidos graxos são sintetizados a partir de grupos acetil (acetato) no fígado de um animal, é necessária a atuação de uma força redutora na forma de átomos de hidrogênio para a redução das duplas ligações a ligações simples. Para serem efetivos como

agentes redutores, os átomos de hidrogênio devem possuir uma energia livre considerável. Tais átomos de hidrogênio ricos em energia são obtidos dos compostos celulares pela ação das desidrogenases, que catalisam a remoção de átomos de hidrogênio das moléculas combustíveis e sua transferência para a forma oxidada de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP⁺). Essa transferência de elétrons, conseqüentemente, reduz a NADP⁺. A forma reduzida, ou transportadora de hidrogênio, dessa coenzima é designada NADPH, e é um transportador de elétrons rico em energia para as reações biossintéticas que requerem esses elétrons (Figura 8.5). Nesse sentido, a atuação da NADPH é semelhante àquela do ATP, como transportador de grupos fosfato ricos em energia.

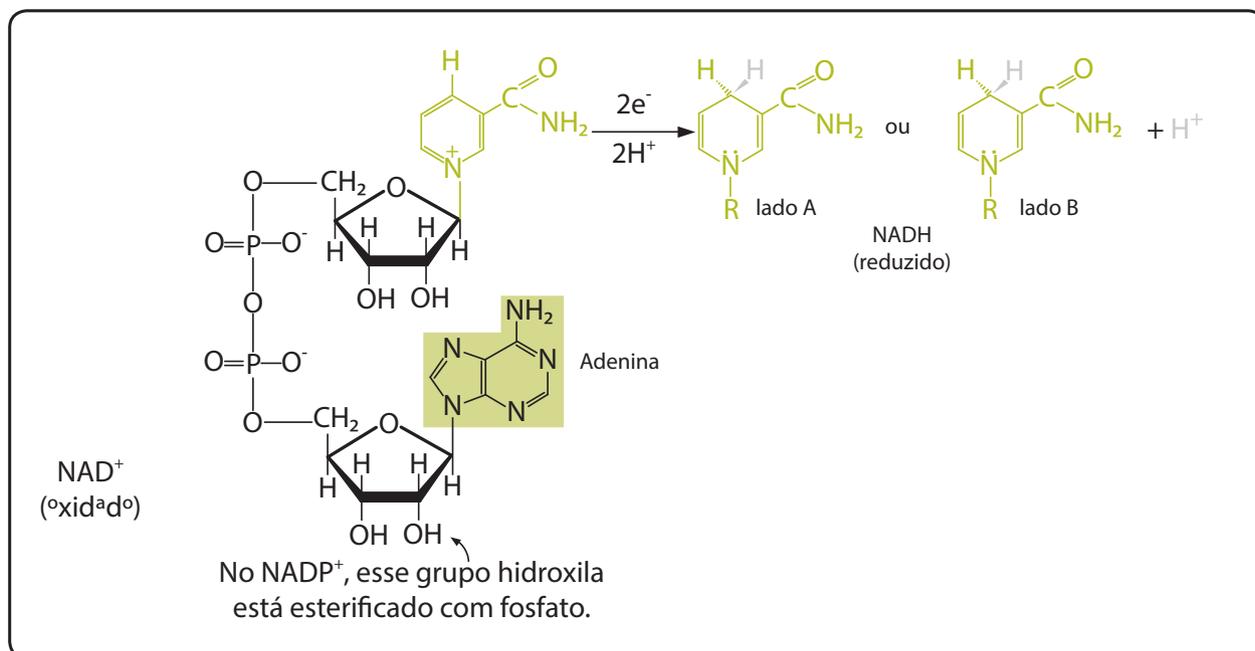


Figura 8.5 – Transporte de energia química na forma de átomos de hidrogênio, através da NADP⁺ e da NAD⁺ (oxidadas), e da NADPH e da NADP (reduzidas).

8.3 Energia a partir de carboidratos

O principal combustível para muitas células eucarióticas, senão todas, é a glicose. Nos animais, esse combustível é comumente fornecido na circulação sanguínea ou encontra-se armazenado dentro da célula, na forma de um polissacarídeo de reserva, o glicogênio. A origem da glicose na dieta é constituída comumente por dissacarídeos (como a sacarose e lactose) ou polissacarídeos

(o amido, por exemplo). Os dissacarídeos e os polissacarídeos são hidrolisados pelas **enzimas digestivas** no intestino delgado e os monossacarídeos resultantes são absorvidos e distribuídos através da corrente sanguínea.

No escuro (ou seja, na ausência de luz), as células vegetais também demandam energia constantemente. Nesse caso, os carboidratos, oriundos da fotossíntese, são, também, a fonte principal de energia celular, sejam distribuídos como sacarose ou armazenados na forma de amido.

A via metabólica para a degradação da glicose é denominada **via glicolítica ou glicólise** (lise = “quebra”). Essa via catabólica é de fundamental importância para todas as células eucarióticas, mas, para algumas delas, constitui a principal via de produção de energia. Esse é o caso das células musculares esqueléticas quando funcionam anaerobicamente (na ausência de oxigênio) e nas hemácias maduras (as quais não apresentam mitocôndria). A importância da via glicolítica nessas circunstâncias é que a glicólise pode produzir energia na forma de ATP em condições anaeróbicas. As leveduras, por exemplo, também podem utilizar essa estratégia para a produção de energia quando elas crescem em condições anaeróbicas. Esse processo bioquímico sempre teve uma importância muito grande na história da humanidade e é chamado de **fermentação**. Mais recentemente, a fermentação ganhou destaque econômico com a produção de etanol em larga escala como combustível alternativo.

A glicólise é uma via catabólica que ocorre através de uma série de reações sucessivas, nas quais um monossacarídeo de seis átomos de carbono (glicose) é clivado em duas moléculas de um composto de três carbonos, o piruvato. Ao longo dessas reações, a modificação e a clivagem de alguns intermediários permitem a produção de duas moléculas de ATP por molécula de glicose que entra na via. Na verdade, essa produção de ATP requer, inicialmente, um gasto de ATP. O ATP gasto é utilizado para fosforilar a glicose e um outro intermediário da via, produzido a partir dela. De fato, a maioria dos compostos intermediários da via contém grupos fosfato ligados à sua estrutura molecular, ou seja, são intermediários fosforilados. Mas, apesar desse gasto de ATP inicial, uma quantidade maior do

A digestão do amido pela amilase salivar na boca é limitada.

que aquela gasta é produzida, de modo que o balanço líquido final de produção de ATP pela degradação da glicose na via é positivo.

Um problema com a glicólise é que em um dos passos da via ocorre uma reação de oxidação, na qual, conseqüentemente, um NAD^+ (forma oxidada) dá origem a um NADH (forma reduzida) (Figura 8.5). Esse é um evento comum em várias reações catalisadas por enzimas que utilizam o NAD^+ como coenzima. Então, qual seria o problema? O problema está no fato de que não há muito NAD^+ no citoplasma celular e, dessa forma, o NADH formado deve ser reciclado para repor o NAD^+ e permitir, desse modo, que a glicólise continue a ocorrer.

Em condições aeróbicas, isso não constitui um problema, pois o NADH pode ser reciclado em NAD^+ através da fosforilação oxidativa na mitocôndria. Mas, na ausência de oxigênio, isso não é possível.

Por outro lado, os organismos vivos desenvolveram diferentes estratégias para resolver esse problema quando em condições anaeróbicas. Alguns organismos, como muitas bactérias, transformam o piruvato em lactato pela ação da enzima lactato desidrogenase e, nessa reação, reciclam o NADH formado em NAD^+ . Esse tipo de estratégia é conhecida por **fermentação láctica**. Essa reação é explorada comercialmente na indústria alimentícia, na produção de queijos, iogurtes, chucrute, entre outros produtos. Tal processo também ocorre nas células musculares durante um exercício intenso. Outros organismos, como as leveduras, realizam a reciclagem através de outra enzima, a álcool desidrogenase, com a transformação do piruvato em etanol. Esse tipo de estratégia é denominado **fermentação alcoólica**. Essa reação tem sido explorada pelo homem na produção de bebidas alcoólicas e na panificação.

Para a reciclagem em condições aeróbicas (mencionada acima), o piruvato sofre uma reação de descarboxilação oxidativa (reação irreversível), a qual é catalisada pela piruvato desidrogenase. Essa reação produz CO_2 e acetil, que é ligado à coenzima A, formando acetil-coenzima A (acetil-CoA). O CO_2 é liberado e o acetil-CoA entra no ciclo de Krebs. Essa reação é o elo entre a glicólise e o ciclo de Krebs, permitindo, em condições aeróbicas, ou seja, com a fosforilação oxidativa, a produção de uma maior quantidade de

ATP a partir de uma molécula de glicose, quando comparada com a produção em condições anaeróbicas.

Resumindo, o produto final da glicólise é realmente o piruvato (C3):



Esse piruvato pode ser convertido ou em lactato ou em etanol, anaerobicamente, ou, ainda, em condições aeróbicas, em acetil-CoA (C2).

8.4 Energia a partir de lipídeos

Os lipídeos utilizados na produção de energia são os triacilgliceróis (ou triglicerídeos), os quais estão armazenados no tecido adiposo ou são fornecidos pela dieta. No último caso, os triacilgliceróis são hidrolisados pela ação de lipases no intestino delgado, com a liberação de glicerol e ácidos graxos.

O glicerol pode ser modificado de modo a produzir um intermediário da via glicolítica, na qual é, então, utilizado. Os ácidos graxos resultantes da hidrólise (bem como os ácidos graxos liberados dos triacilgliceróis das células do tecido adiposo) são inicialmente ativados às custas de ATP e ligados a uma molécula de coenzima A, através da sua extremidade carboxila, formando o derivado acil-coenzima A. Dessa forma, eles podem ser degradados em uma via catabólica na qual sua cadeia vai sendo clivada sucessivamente em unidades de dois em dois carbonos (C2), produzindo acetil-coenzima A (acetil-CoA). Essa série de reações envolvidas na quebra da cadeia de ácidos graxos de dois em dois carbonos é denominada de **β -oxidação**. A cada unidade de C2 (acetil-CoA) liberada da cadeia do ácido graxo, são produzidas uma molécula de NADH e uma de FADH_2 , as quais, através da fosforilação oxidativa na mitocôndria, vão produzir o equivalente a cinco moléculas de ATP. Paralelamente, o acetil-CoA pode entrar no ciclo de Krebs, gerando mais NADH e FADH_2 , que, também através da fosforilação oxidativa na mitocôndria, vão dar origem a mais ATP. Consequentemente, a quebra de lipídeos pode produzir uma quantidade considerável de energia química na célula, na forma de

ATP na mitocôndria e, comparativamente, uma quantidade muito maior de ATP em termos de uma mesma quantidade de carboidrato. Entretanto, essa produção vinculada a lipídeos somente ocorre aerobicamente. Na ausência de oxigênio, não há liberação de energia a partir de ácidos graxos.

De modo geral, a glicose é o combustível preferencial para as células. Os lipídeos são utilizados menos prontamente, apesar do seu potencial maior de suprir a célula energeticamente, através da produção de ATP. Em uma corrida de 100m (corrida rápida, de velocidade), os atletas estarão utilizando a reserva de glicogênio muscular de forma anaeróbica. Por outro lado, em uma maratona (corrida longa), a energia necessária para o exercício é proveniente da oxidação tanto do glicogênio como dos lipídeos armazenados. A reserva de glicogênio não seria suficiente para esse tipo de corrida, e a reserva de lipídeos deve ser mobilizada.

8.5 Energia a partir de proteínas

As proteínas da dieta são digeridas pelas enzimas (proteases) no estômago e no intestino delgado, liberando aminoácidos. Assim, os aminoácidos provenientes das proteínas são absorvidos e podem ser utilizados para a síntese das proteínas necessárias ao organismo. Outra fonte de aminoácidos para a síntese de proteínas pelo organismo vem da renovação das proteínas celulares, as quais, em maior ou menor velocidade, dependendo da proteína, são constantemente degradadas e sintetizadas.

Se a dieta fornece um excesso de aminoácidos em relação às necessidades do organismo, eles passam a ser catabolizados para fornecer energia. Diferentemente do que ocorre com os carboidratos e os lipídeos, as proteínas e os aminoácidos não são armazenados. Parte do esqueleto de alguns aminoácidos pode ser convertido em glicose. Outros aminoácidos têm parte do seu esqueleto convertido em acetil-CoA (acetil-coenzima A), o qual pode ser convertido em ácidos graxos (lipídeos). Por outro lado, se há necessidade de energia, o acetil-CoA proveniente da degradação de aminoácidos é utilizado no ciclo de Krebs. Essa não é a única

forma pela qual os aminoácidos são utilizados nessa via metabólica. Vários aminoácidos que não são convertidos em acetil-CoA podem também alimentar o ciclo de Krebs, entrando na via diretamente como alguns de seus intermediários.

Em casos extremos de jejum, quando todas as reservas de glicogênio e lipídeos já foram consumidas, as proteínas dos tecidos podem ser degradadas para fornecer aminoácidos que serão catabolizados para o fornecimento de energia. Entretanto, essa estratégia metabólica é drástica, uma vez que proteínas estruturais valiosas, como as musculares, passam a ser utilizadas catabolicamente, situação que não pode perdurar indefinidamente sem trazer prejuízos permanentes ao organismo.

Devido à variedade das estruturas das cadeias laterais dos 20 aminoácidos primários ou proteicos, existem diferentes vias catabólicas que possibilitam a sua oxidação, envolvendo o ciclo de Krebs. Mas, antes que os esqueletos carbônicos dos aminoácidos sigam esse destino, ocorre uma primeira etapa do processo degradativo, a qual é comum a todos eles. Essa etapa envolve a remoção do grupo amina, através de uma reação denominada de deaminação ou transaminação, com a consequente produção de amônia. A amônia, tóxica para a célula, é rapidamente convertida em ureia, não tóxica, a qual é excretada na urina. Esse processo constitui a via denominada de ciclo da ureia. Essa via foi descrita por Krebs e Henseleit, em 1931, bem antes da descoberta do ciclo de Krebs ou do ciclo dos ácidos tricarboxílicos.

Enquanto a ureia é a forma de excreção nitrogenada nos mamíferos, nas aves e nos insetos, o produto de excreção nitrogenada é o ácido úrico. Nos peixes, a excreção nitrogenada pode ser realizada diretamente como amônia, cujo efeito tóxico é diluído no ambiente aquoso circundante.

As plantas e muitos microrganismos podem sintetizar seus próprios aminoácidos a partir de amônia ou de nitratos e dióxido de carbono, não necessitando, dessa forma, de aminoácidos pré-formados. Por outro lado, os animais necessitam do fornecimento de alguns aminoácidos via dieta, ou seja, alguns aminoácidos são considerados essenciais para os animais.

Alguns microrganismos são vitais para o ciclo de nitrogênio e, conseqüentemente, para a vida na Terra, uma vez que eles têm a capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico, ou seja, incorporá-lo em uma molécula orgânica, a partir da qual outras biomoléculas nitrogenadas podem ser sintetizadas.

8.6 Alguns aspectos gerais sobre a integração das vias metabólicas e a obtenção de energia

Um dos melhores e mais constantes exemplos de situação utilizada na discussão sobre a dinâmica das respostas e alterações metabólicas é o jejum. Assim, assumindo que o suprimento alimentar do organismo foi suspenso por muitos dias, vamos tentar delinear de modo simplificado as estratégias metabólicas que são desencadeadas em resposta a esse tipo de estresse. Para tal, vamos considerar as características dos principais tecidos e órgãos no que se refere às suas reservas e ao tipo de “combustível” metabólico utilizado por cada um (Tabela 8.1).

A primeira linha de resposta envolve o uso das reservas metabólicas, ou seja, das biomoléculas armazenadas como reserva de “combustível” metabólico. Conforme mostrado no exemplo para o ser humano na Tabela 8.2, há uma diferença entre a quantidade de reserva disponível para os principais tipos de biomoléculas, como triacilgliceróis e glicogênio. Além disso, a intensidade da atividade diária vai influenciar diretamente no quanto dessa reserva será mobilizada e, conseqüentemente, quanto tempo potencialmente ela durará. A dinâmica de mobilização das reservas metabólicas e sua futura utilização podem ser mais bem compreendidas quando as alterações da concentração dos principais metabólitos são monitoradas na corrente sanguínea durante um período longo de jejum.

A reserva de triacilgliceróis em um homem adulto saudável é em média suficiente para um ou dois meses, dependendo do nível (ou intensidade) de atividades. A hidrólise ou degradação dos ácidos graxos provenientes dos triacilgliceróis gera um aumento considerável dos níveis de acetil-CoA, o que, por sua vez, leva à produção de corpos cetônicos.

Tabela 8.1 - Armazenamento e utilização de “combustível” metabólico pelos principais tecidos e órgãos

Tecido/Orgão	Combustível armazenado	Combustível utilizado	Combustível exportado ²
Cérebro	Nenhum	Glicose (preferencialmente) Corpos cetônicos ³	Nenhum
Fígado	Glicogênio; Triacilgliceróis	Glicose, Ácidos Graxos, Glicerol, Lactato, Aminoácidos ⁴	Glicose, Corpos cetônicos
Coração (músculo cardíaco)	Nenhum	Ácidos graxos, Glicose, Corpos cetônicos, Lactato	Nenhum
Músculo esquelético (em repouso)	Glicogênio	Glicose, Ácidos graxos	Nenhum
Músculo esquelético (em atividade)	Nenhum	Glicose, Ácidos graxos	Lactato, Alanina
Tecido Adiposo	Triacilgliceróis	Ácidos graxos, Glicose	Ácidos graxos, Glicerol

¹ Combustível metabólico é utilizado aqui como sinônimo de biomoléculas armazenadas e/ou utilizadas no catabolismo para a produção de energia na forma de ATP;

² Combustível exportado é utilizado aqui como sinônimo de biomoléculas enviadas através da circulação para suprir a demanda por “combustível” metabólico de outro órgão e/ou tecido.

³ No caso dos corpos cetônicos, esta denominação engloba moléculas (acetoacetato, β -hidroxibutirato e acetona) provenientes do catabolismo de ácidos graxos, ou seja, moléculas que são produzidas como consequência da degradação excessiva de ácidos graxos (AG). A degradação excessiva de AG gera a produção de grande quantidade de acetil-CoA, o qual é utilizado para a produção dos corpos cetônicos. Os corpos cetônicos sendo solúveis podem ser facilmente exportados, de modo a suprir a necessidade energética de um dado órgão, como o cérebro, por exemplo, em situações de baixa disponibilidade de glicose, o que ocorre, por exemplo, durante o jejum. Outra situação onde há grande produção de corpos cetônicos é na diabete.

A acetona, sendo volátil, é liberada na respiração e na transpiração, sendo o odor característico produzido muitas vezes confundido com aquele do etanol.

Entre os corpos cetônicos, o acetoacetato e o β -hidroxibutirato, são ácidos relativamente fortes, podendo causar, quando em alta concentração, a diminuição do pH sanguíneo. Esta condição é conhecida como Cetose ou Acidose e, caso seja severa, deve ser tratada, pois pode levar à coma e à morte. Certas dietas alimentares de baixa ingestão de carboidratos e lipídeos induzem um estado de cetose leve. Apesar de um estado de cetose leve não ser tão perigoso (mesmo indivíduos em dieta normal podem apresentar um nível baixo de corpos cetônicos no sangue em torno de 10-25 micromolar, em comparação com o nível elevado em torno de até 5000-7000 micromolar em casos de cetose severa), recomenda-se que os níveis de cetose sejam monitorados, pois outras consequências estão a ela associadas, como a desidratação, causada pela eliminação excessiva de urina (para a excreção do excesso de corpos cetônicos), e o desequilíbrio eletrolítico (pela perda de Na^+ e K^+ na urina). Cetose também pode ser observada em indivíduos com diabete, devendo este estado metabólico merecer atenção especial neste caso.

⁴ Somente o esqueleto carbônico dos aminoácidos é utilizado para a produção de energia metabólica.

8.2 RESERVAS METABÓLICAS NO SER HUMANO

Tipo de Reserva (biomolécula)/Tecido ou Órgão	Reserva Aproximada em kJ ¹	Jejum (dias) ²
Tracilgliceróis (Tecido adiposo)	336.000	34
Glicogênio (Fígado)	1.500	0.15
Glicogênio (Tecido muscular)	6.000	0.6
Glicose sanguínea	320	0.03
Proteína corpórea total	150.000	15

¹Considerando uma Caloria nutricional (01 kcal) como equivalente a 4.184 kJ por dia

²Considerando um gasto energético de aproximadamente 10.000 kJ por dia

Adaptado de Stipanuk, M.H. Biochemistry and Physiological Aspects of Human Nutrition. WB Saunders Co. Philadelphia, USA. 2000. 944 p.

Por outro lado, o total de glicogênio (muscular e hepático) é suficiente para aproximadamente um período de 12 a 18 horas, dependendo do nível (ou intensidade) de atividades. Quando esse estoque e, por consequência, os níveis de glicose disponível declinam, alguns tecidos (músculo, coração e fígado) passam a usar ácidos graxos. Frente a essa situação, o cérebro, por sua vez, passa a depender dos corpos cetônicos oriundos do fígado, cuja concentração na corrente sanguínea aumenta de forma considerável. Após três dias de jejum, aproximadamente um terço da demanda energética do cérebro é proveniente da oxidação dos corpos cetônicos de origem hepática.

As proteínas musculares podem ser potencialmente uma fonte considerável de energia em momentos de necessidade, através da oxidação dos aminoácidos (esqueleto carbônico) que as compõem. No entanto, a hidrólise ou degradação intensa de proteínas musculares pode ter consequências sérias para o organismo (ver item 8.5). Quando as células musculares usam a oxidação de corpos cetônicos para a produção de energia, essa situação pode ser minimizada, e o uso de proteínas após 72 horas de jejum pode cair de 150 g para 20 g por dia. Deve ser lembrado, ainda, que alguns aminoácidos (glicogênicos) podem fornecer esqueletos carbônicos para a produção de glicose “nova”, contribuindo para a manutenção do nível de glicose, ao longo do período de jejum.

Essas repostas refletem a modulação integrada das vias metabólicas, a qual depende do controle da atividade de enzimas regulatórias, exercida por efetores positivos ou negativos, no caso de enzimas alostéricas, bem como pela modificação covalente (geralmente a fosforilação de resíduos de aminoácidos específicos) de enzimas-chave de várias vias. Essa regulação enzimática depende ou é consequência, em última instância, da ação de hormônios (Tabela 8.3).

Resumo

Os organismos vivos podem ser divididos em dois grandes grupos, de acordo com a forma química do carbono que eles requerem do meio ambiente.

O carbono e o oxigênio são constantemente reciclados entre os reinos animal e vegetal, um processo que envolve enormes quantidades de matéria e cuja força condutora é provida pela energia solar.

O metabolismo intermediário envolve uma série de reações bioquímicas que ocorrem de forma coordenada. Esse metabolismo tem duas fases: catabolismo e anabolismo.

A maior parte de energia livre é conservada na forma da molécula transportadora de energia adenosina trifosfato (ATP). Isso é conseguido através do acoplamento de reações enzimáticas.

O ATP pode ser produzido a partir de diferentes estratégias metabólicas.

Alguma energia também pode ser conservada na forma de átomos de hidrogênio ricos em energia, transportados pela coenzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato, na sua forma reduzida NADPH.

O catabolismo e o anabolismo ocorrem simultaneamente nas células, e a velocidade de cada um é regulada independentemente.

A integração, a regulação e a modulação metabólica, dependentes em grande parte da ação hormonal, permitem ao organismo não só produzir a energia química necessária para o seu desenvolvimento e para a manutenção de sua homeostase, mas também para responder a situações de estresse.

8.3 Hormônios que atuam na regulação enzimática do armazenamento e utilização de combustível metabólico

Hormônio	Aumento ou Estimulação	Diminuição ou Inibição
Insulina ¹	Permeabilidade à glicose no músculo esquelético e no tecido adiposo	Síntese de glicose nova (Gliconeogênese) (através de diferentes precursores, como lactato e aminoácidos glicogênicos)
	Quebra da glicose (Glicólise)	Catabolismo de Triacilgliceróis
	Síntese do glicogênio (Glicogênese)	Quebra do glicogênio (Glicogenólise)
	Síntese de Triacilgliceróis	Níveis de glicose sanguínea
Glucagon ²	Quebra do glicogênio (Glicogenólise)	Síntese do glicogênio (Glicogênese)
	Níveis de glicose sanguínea	Quebra da glicose (Glicólise)
	cAMP ⁴ no fígado e tecido adiposo	
Epinefrina ³	Níveis de glicose sanguínea	Síntese do glicogênio (Glicogênese)
	Quebra do glicogênio (Glicogenólise)	
	cAMP no músculo esquelético	
	Quebra de Triacilgliceróis	

¹ Hormônio de natureza peptídica, formado por 51 resíduos de aminoácidos, com uma massa molecular de 5,8 kDa. Sintetizado nas células beta do pâncreas e liberado na corrente sanguínea em resposta ao aumento do nível da glicose sanguínea. De modo geral, sua ação pode ser considerada como um sinal para o estado de “saciedade”, funcionando na regulação dos níveis de glicose sanguínea.

² Hormônio de natureza peptídica, formado por 29 resíduos de aminoácidos, com uma massa molecular de 3,5 kDa. Sintetizado e secretado pelas células alfa das ilhotas de Langerhans no pâncreas. De forma oposta à ação da insulina, o glucagon atua como um sinal do estado de “jejum”, aumentando os níveis de glicose sanguínea e, sendo liberado quando os níveis de glicose caem abaixo da faixa “normal”. Seu órgão alvo na regulação metabólica é o fígado, onde estimula a quebra do glicogênio armazenado com vistas à liberação de glicose na corrente sanguínea.

³ Hormônio também designado como adrenalina. É uma catecolamina que funciona na regulação do metabolismo tanto de carboidratos, como de lipídeos (ácidos graxos). Liberada pela medula da glândula adrenal em resposta ao estresse metabólico ou ambiental. Por isso, é conhecido como o hormônio da “fuga”. Sua ação no tecido muscular envolve sua interação com receptores específicos e a consequente produção de cAMP (segundo mensageiro).

⁴ cAMP = AMP cíclico

Bibliografia

CAMPBELL, M. K.; FARRELL, S.O. **Bioquímica**: Bioquímica metabólica. 5. ed. São Paulo: Thomson Learning, 2008. v. 3.

GARRET, R. H.; GRISHAM, C. M. **Biochemistry**. 2. ed. Fort Worth: Saunders College Publishing. Harcourt Brace College Publishers, 1999.

NELSON, D. L.; COX, M. M. L. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Savier, 2005.

_____. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 5. ed. Porto Alegre: Sarvier/Artmed, 2011.

Nelson, D L & Cox M M Princípios de Bioquímica de Lehninger. Sarvier/Artmed. 5ª edição. Porto Alegre. 2011.1274 p.

Bibliografia comentada

A mitocôndria em 3 atos

Nesse CD, você encontrará uma animação interessante sobre uma via fundamental do metabolismo celular: o Ciclo de Krebs. É um trabalho pioneiro no Brasil em termos de animação em bioquímica e inclui abordagens distintas sobre a estrutura e o funcionamento da mitocôndria.

MEIS, L. **Mitocôndria em 3 atos**. Rio de Janeiro: UFRJ - Departamento de Bioquímica Médica, s/d.