

VALTER T. MOTTA

BIOQUÍMICA BÁSICA

Ciclo do Ácido Cítrico

7

Ciclo do Ácido Cítrico

Objetivos

1. Descrever a obtenção de acetil-CoA pela descarboxilação oxidativa do piruvato nas mitocôndrias.
2. Reconhecer que o ciclo do ácido cítrico é a via de oxidação do grupo acetila da acetil-CoA com formação de três NADH e de um FADH₂ além da formação de um ATP (ou GTP) por fosforilação ao nível do substrato.
3. Identificar a reação catalisada pela citrato-sintase como a primeira reação do ciclo do ácido cítrico e reconhecer as substâncias participantes.
4. Identificar as substâncias participantes das reações do ciclo do ácido cítrico catalisadas por: isocitrato-desidrogenase, complexo do α -cetoglutarato, succinil-CoA-sintetase (succinato-tiocinase), succinato desidrogenase e malato-desidrogenase.
5. Explicar a reação catalisada succinil-CoA-sintetase (succinato tiocinase) na formação de ATP ao nível do substrato.
6. Calcular o número de compostos de "alta energia" (ATP) sintetizados pela oxidação de um mol acetil-CoA no ciclo do ácido cítrico.
7. Descrever os mecanismos de regulação do ciclo do ácido cítrico.
8. Descrever a entrada e saída de intermediários do ciclo do ácido cítrico.

O ciclo do ácido cítrico (também chamado de *ciclo de Krebs* ou *ciclo dos ácidos tricarboxílicos*) é o estágio final da oxidação dos combustíveis metabólicos. Os átomos de carbono entram no ciclo na forma de grupos acetila derivados dos carboidratos, ácidos graxos e aminoácidos. O grupo acetila ligado a coenzima A (acetil-CoA) é oxidado em oito reações mitocondriais para formar duas moléculas de CO₂ com a conservação da energia livre liberada em três moléculas de NADH, uma de FADH₂ e um composto de "alta energia" (GTP ou ATP). O NADH e o FADH₂ são oxidados e os elétrons são conduzidos pela *cadeia mitocondrial transportadora de elétrons* com a liberação de energia conservada na forma de ATP sintetizado a partir de ADP e P_i por meio de processo denominado *fosforilação oxidativa* (ver Capítulo 8). A reação líquida para o ciclo do ácido cítrico é:

Quadro 7.1 Descoberta do ciclo do ácido cítrico

A operação do ciclo do ácido cítrico foi deduzida por *Hans Krebs* em 1937 a partir de observações sobre a velocidade de consumo de oxigênio durante a oxidação do piruvato por suspensões de músculos peitorais de pombos. Esses músculos ativos no voo, exibem uma velocidade de respiração muito alta e são apropriados para as investigações metabólicas. O consumo de oxigênio foi monitorado com o auxílio de um manômetro, um aparelho que permite a medida das alterações no volume de um sistema fechado a pressão e temperatura constantes.

Estudos anteriores, principalmente os realizados por *Albert Szent-Györgyi* (1935), mostraram que o succinato, o fumarato, o malato e o oxaloacetato estimulavam o consumo de oxigênio por esses músculos. Krebs mostrou que o piruvato também aumentava o consumo de oxigênio.

Além disso, ele também observou que a oxidação do piruvato podia ser grandemente estimulada pelo oxaloacetato, *cis*-aconitato, isocitrato e α -cetogluturato. Os efeitos dessas substâncias eram completamente suprimidos pela adição de *malonato*, um inibidor competitivo da succinato-desidrogenase. A adição do malonato também acumulava citrato, α -cetogluturato e succinato. Pelo fato da adição do piruvato e oxaloacetato à suspensão ter resultado no acúmulo de citrato, Krebs concluiu que a via operava como um ciclo. Somente em 1951 foi demonstrado que a acetil-CoA é o intermediário que condensa com o oxaloacetato para formar citrato.

Krebs publicou sua descoberta no periódico *Enzimologia* já que a revista *Nature* recusou o artigo original.



Além do papel na geração de energia, o ciclo do ácido cítrico também é fonte de unidades monoméricas para a biossíntese de carboidratos, lipídeos e aminoácidos não-essenciais.

Nesse contexto será examinado como o piruvato, derivado da glicose e outros açúcares através da via glicolítica, é oxidado à acetil-CoA e CO_2 para entrar no ciclo do ácido cítrico (Figura 7.1).

O piruvato atravessa a membrana externa da mitocôndria via canais aquosos de proteínas transmembranas chamados porinas (ver Seção 9.4). A piruvato-translocase, uma proteína da membrana mitocondrial interna, transporta especificamente o piruvato do espaço intermembrana para a matriz mitocondrial em simporte com o H^+ (ver Seção 9.4.B).

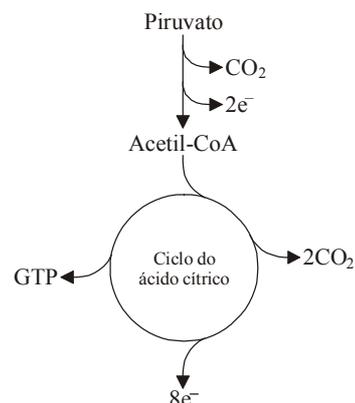


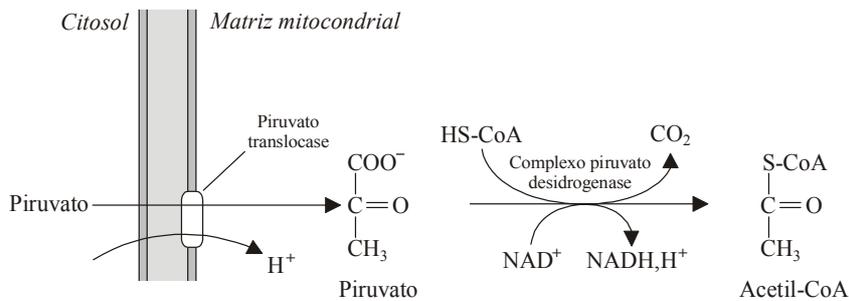
Figura 7.1

Associação da glicólise e o ciclo do ácido cítrico. O piruvato produzido na glicólise é convertido em acetil-CoA, o combustível do ciclo do ácido cítrico. Os elétrons removidos são transportados pelo NADH e FADH_2 para a cadeia mitocondrial transportadora de elétrons no interior das mitocôndrias

que fornece energia para a síntese de ATP.

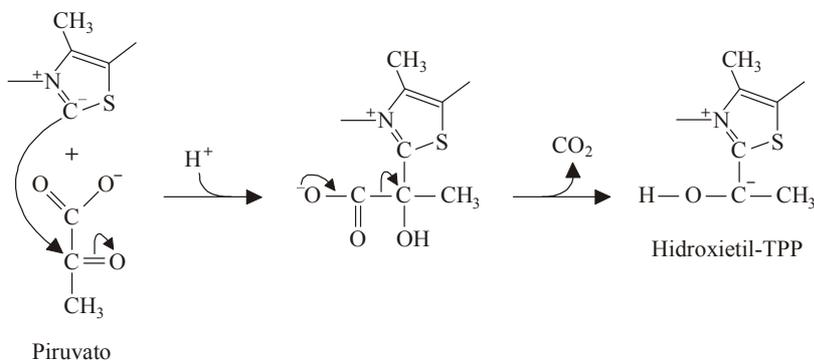
7.1 Oxidação do piruvato a acetil-CoA e CO₂

Sob condições aeróbicas, o piruvato presente na matriz mitocondrial é convertido em CO₂ e um fragmento de dois carbonos, a acetil-CoA em reação de descarboxilação oxidativa. A reação é catalisada pelo *complexo da piruvato-desidrogenase* constituído por três enzimas distintas: a *piruvato-desidrogenase* (E1), a *diidrolipoi-transacetilase* (E2) e a *diidrolipoi-desidrogenase* (E3) associadas de modo não-covalente e cinco diferentes coenzimas. O complexo está localizado exclusivamente na mitocôndria das células eucarióticas. Devido a grande energia livre padrão negativa dessa reação sob condições fisiológicas, o processo é irreversível o que impede a reação inversa de formação do piruvato a partir do acetil-CoA.



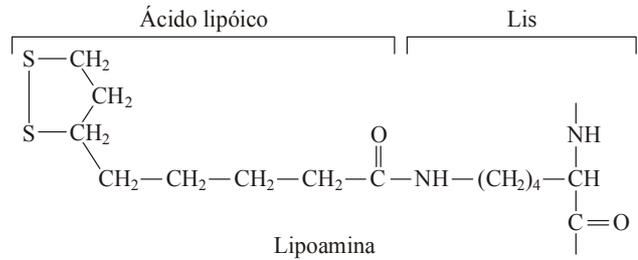
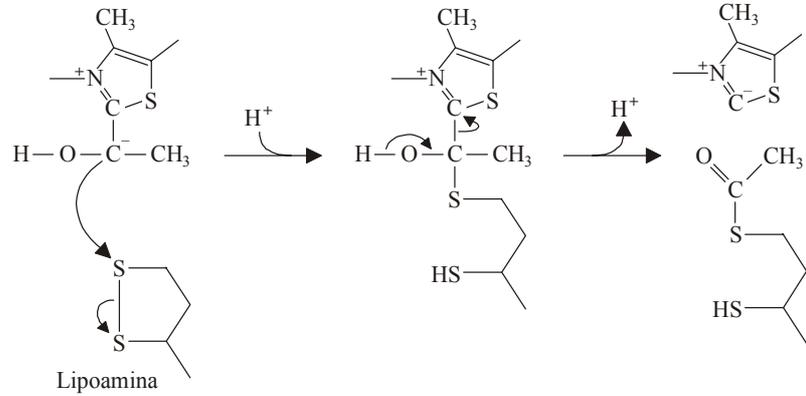
A operação do complexo da piruvato desidrogenase requer cinco coenzimas cujos papéis funcionais são descritos a seguir.

1. Descarboxilação oxidativa do piruvato. A reação requer o co-fator *pirofosfato de tiamina* (TPP) ligado à enzima *piruvato-desidrogenase* (E1). O TPP ataca o carbono da carbonila do piruvato e libera o CO_2 deixando o grupo hidroxietil ligado ao TPP para formar o hidroxietil-TPP (HETTP).

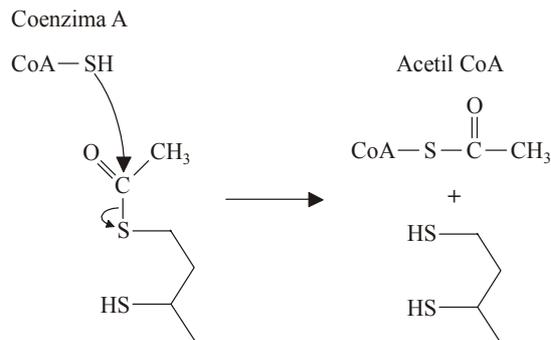


2. Transferência do grupo hidroxietil do HETTP para a *diidrolipoi-transacetilase* (E2). O receptor do hidroxietil é o

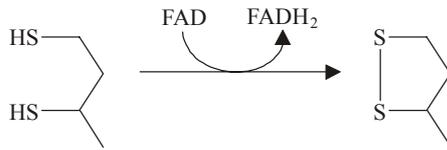
grupo prostético *lipoamida*. A reação de transferência regenera o TPP da E1 e oxida o grupo hidroetil a um grupo acetila.



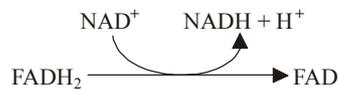
3. Transferência do grupo acetila para a *coenzima A*, em reação catalisada pela *diidrolipoil-transacetilase*.



4. Regeneração do complexo da piruvato-desidrogenase original. O grupo diidrolipoato da E2 é reduzido pela flavina adenina dinucleotídeo (FAD) em presença de *diidrolipoil-desidrogenase* com a regeneração do lipoato.



5. A FADH_2 é reoxidada pela transferência dos elétrons para o NAD^+ para formar NADH . O NADH transfere os elétrons para a cadeia mitocondrial transportadora de elétrons que está acoplada à síntese de 2,5 moléculas de ATP por meio da fosforilação oxidativa. A reação total de conversão de piruvato a acetil-CoA é altamente exergônica $\Delta G^{\circ'} = -33,5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. Como para cada molécula de glicose, 2 piruvato são formados pela glicólise, são sintetizadas 5 moléculas de ATP.

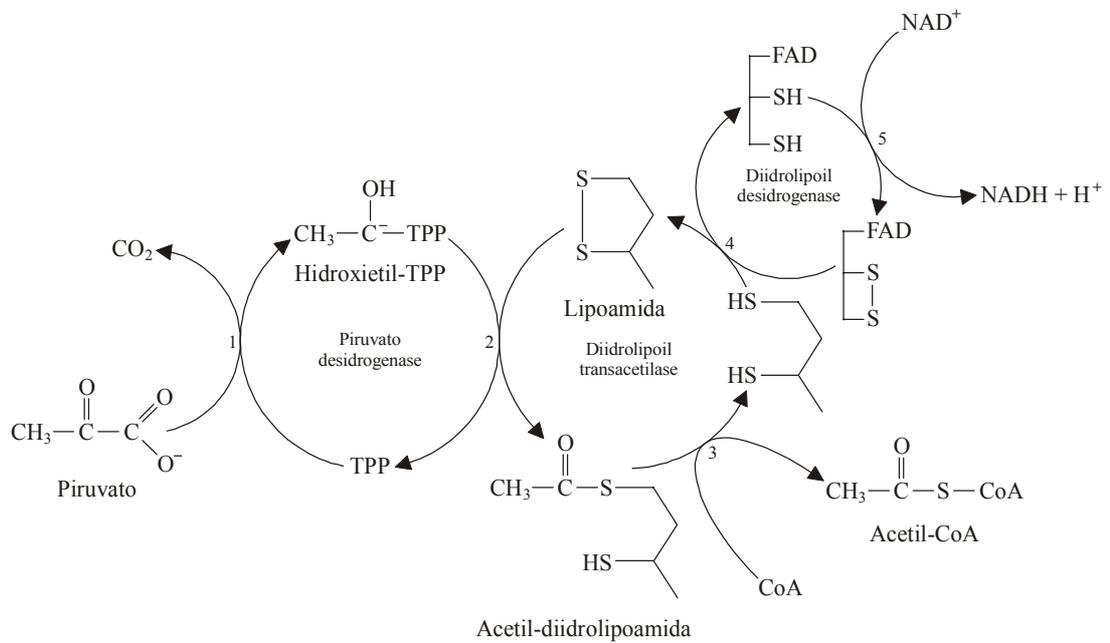


A representação esquemática da operação do complexo da piruvato-desidrogenase está resumida na Figura 7.2.

A atividade do complexo da piruvato-desidrogenase é regulada por mecanismos alostéricos e covalentes. O complexo é ativado e inibido alostericamente pelos efetores mostrados no Quadro 7.1.

Quadro 7.1 – Principais efetores alostéricos do complexo da piruvato-desidrogenase.

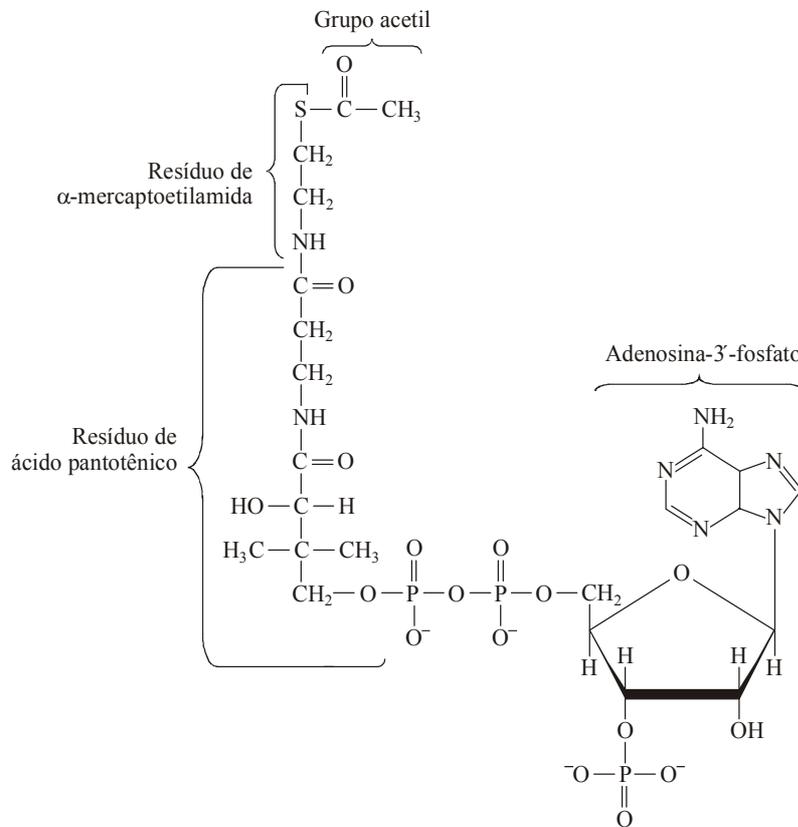
| Efetores positivos (ativadores) | Efetores negativos (inibidores) |
|---------------------------------|---------------------------------|
| Coenzima A | ATP |
| NAD^+ | NADH |
| AMP | Acetil-CoA |
| Ca^{2+} | Ácidos graxos de cadeia longa |

**Figura 7.2**

Operação do complexo da piruvato-desidrogenase. TPP = pirofosfato de tiamina. O lipoato tem dois grupos tióis ($-\text{SH}$) que formam uma ligação dissulfeto ($-\text{S}-\text{S}-$) por oxidação.

Os mecanismos de regulação alostérica do complexo são complementados por modificações covalentes de proteínas. O complexo é inibido por fosforilação pela ação de proteína-cinase (altos teores de piruvato, CoASH e NAD^+ inibem a cinase) e ativado por desfosforilação pela ação de fosfatases quando os níveis de [ATP] mitocondrial declinam.

A seguir a fórmula da coenzima A (CoA):



Acetil-coenzima A (acetyl-CoA)

A. Destinos metabólicos do acetyl-CoA

Os principais destinos metabólicos do acetyl-CoA produzido na mitocôndria incluem: (1) completa oxidação do grupo acetila no ciclo do ácido cítrico para a geração de energia; (2) conversão do excesso de acetyl-CoA em corpos cetônicos (acetoacetato, β -hidroxibutirato e acetona) no fígado; (3) transferência de unidades acetila para o citosol com a subsequente biossíntese de moléculas complexas como os esteróis e ácidos graxos de cadeia longa.

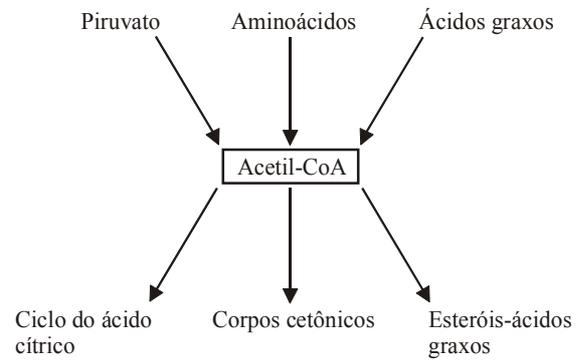
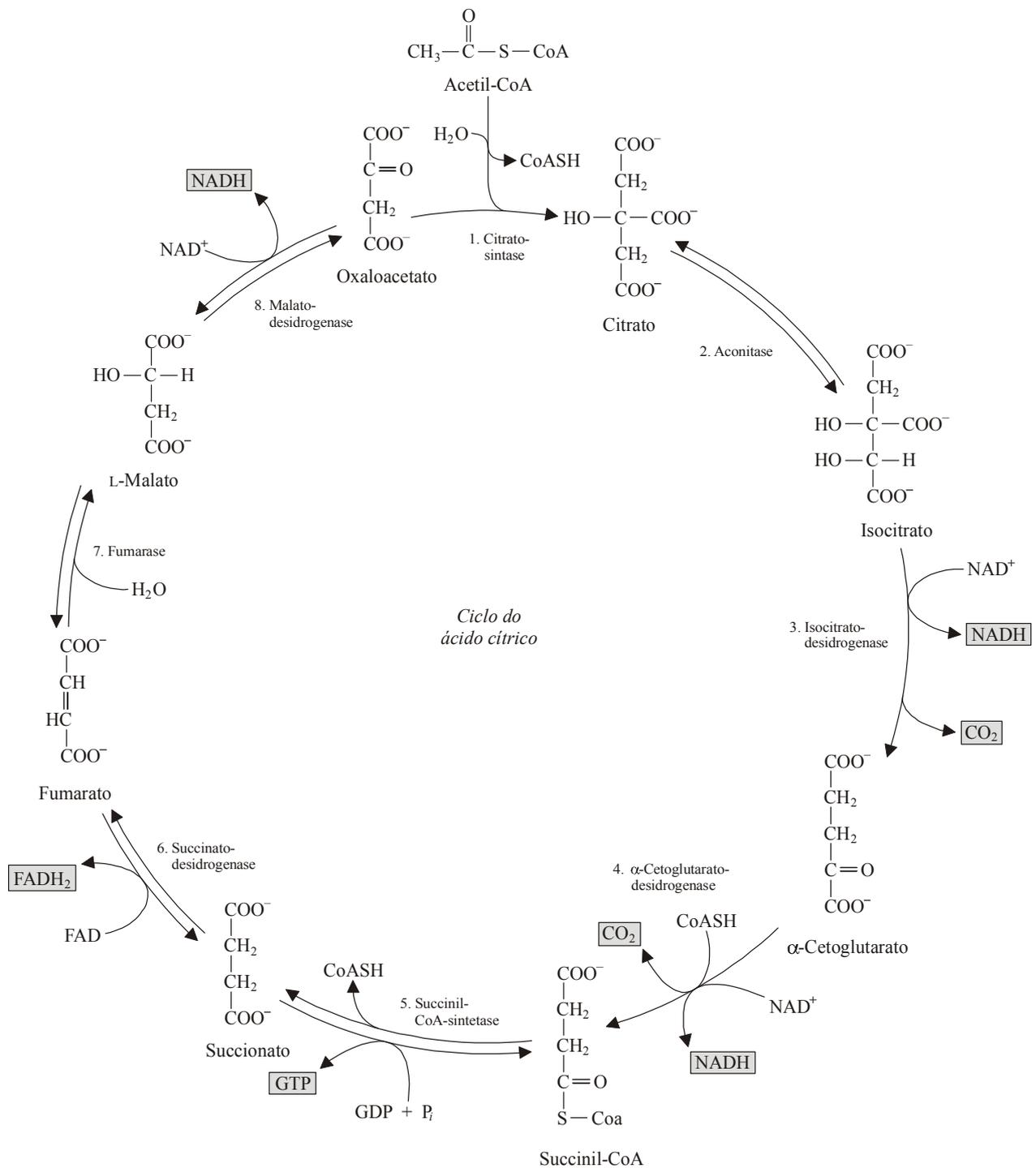


Figura 7.3
Destinos do acetil-CoA

7.2 Reações do ciclo do ácido cítrico

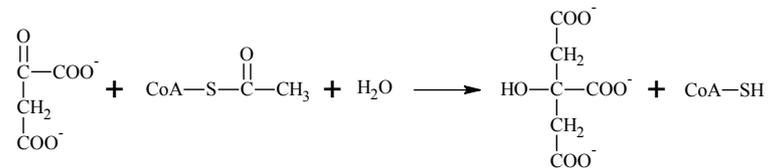
A oxidação de acetil-CoA é realizada pelo ciclo do ácido cítrico em oito reações sucessivas onde entra o grupo acetila (dois carbonos) e saem duas moléculas de CO₂. (Figura 7.4).

**Figura 7.4**

Reações do ciclo do ácido cítrico. O ciclo oxida duas unidades de carbono com a produção de duas moléculas de CO_2 , uma molécula de GTP , três moléculas de NADH e uma molécula de FADH_2 .

1. Condensação da acetil-CoA com o oxaloacetato. A etapa inicial do ciclo do ácido cítrico é a condensação do acetil-CoA com o

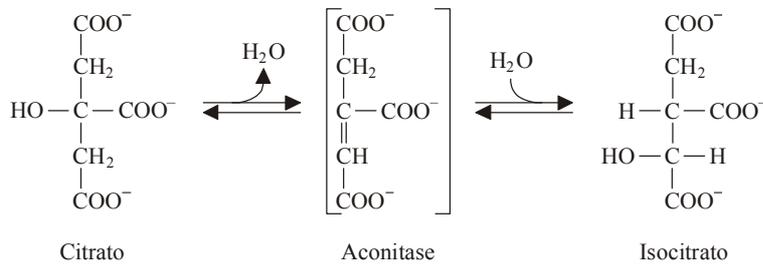
oxaloacetato para formar *citrato* e *CoA* livre, em reação irreversível catalisada pela *citrato-sintase*. A condensação aldólica ocorre entre o grupo metílico da acetil-CoA e o grupo carboxílico do oxaloacetato, com hidrólise da ligação tioéster e a produção de coenzima A livre. A reação é altamente exergônica ($\Delta G^{\circ} = -31,5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$).



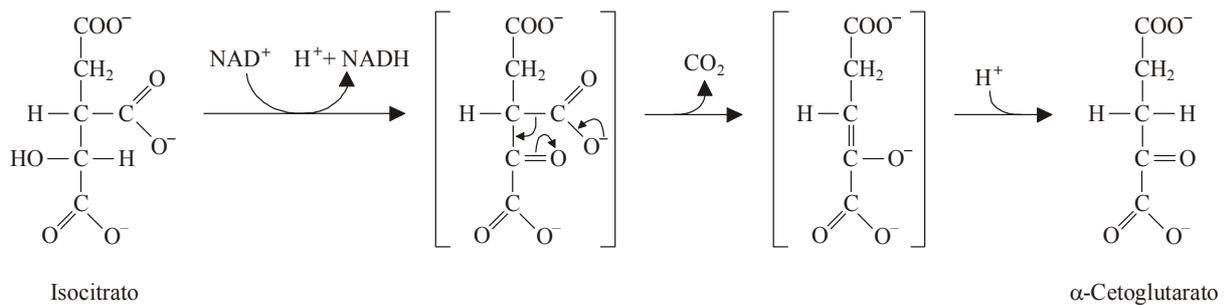
A citrato-sintase é inibida pelo ATP, NADH, succinil-CoA e ésteres acil-CoA graxos. A velocidade de reação é determinada pela disponibilidade de acetil-CoA e do oxaloacetato. O citrato também está envolvido na regulação de outras vias metabólicas (inibe a *fosfofrutocinase* na glicólise e ativa a *acetil-CoA-carboxilase* na síntese dos ácidos graxos) e como fonte de carbono e equivalentes redutores para vários processos de síntese.

Além da condensação com o acetil-CoA para formar citrato, o oxaloacetato pode ser transformado em piruvato, glicose (gliconeogênese) e aspartato.

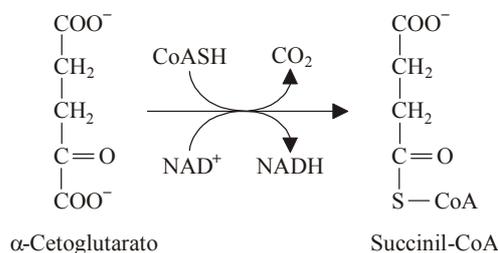
2. Isomerização do citrato em isocitrato via *cis*-aconitato. A *aconitase* catalisa a isomerização reversível do citrato e do isocitrato, por meio do intermediário *cis*-aconitato. A mistura em equilíbrio contém 90% de citrato, 4% de *cis*-aconitato e 6% de isocitrato. No meio celular, a reação é deslocada para a direita, porque o isocitrato é rapidamente removido na etapa seguinte do ciclo. A aconitase contém um centro ferro-enzôfre que atua tanto na ligação do substrato como na catálise da reação.



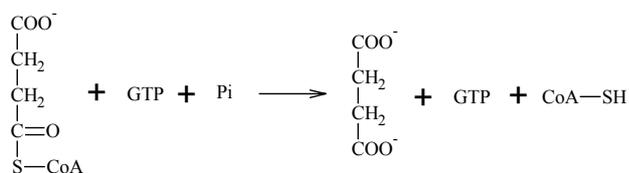
3. Descarboxilação oxidativa do isocitrato para formar α -cetogluturato, o primeiro NADH e CO_2 . Na etapa seguinte, o isocitrato é oxidado a α -cetogluturato pela enzima alostérica *isocitrato-desidrogenase-NAD⁺-dependente*. Junto à oxidação ocorre a perda simultânea de CO_2 (remoção do grupo β -carboxílico). A enzima necessita Mg^{2+} ou Mn^{2+} e é ativada pelo ADP e inibida pelo ATP e NADH.



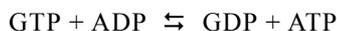
4. Oxidação e descarboxilação do α -cetogluturato para formar succinil-CoA, o segundo NADH e CO_2 . A conversão do α -cetogluturato em um composto de “alta energia”, a succinil-CoA, é catalisada pelo complexo enzimático *α -cetogluturato-desidrogenase*. A reação é semelhante à reação do complexo da piruvato-desidrogenase utilizada na transformação do piruvato em acetil-CoA. Participam da reação a *tiamina pirofosfato*, *lipoato*, *coenzima A*, *FAD* e *NAD⁺*. O complexo multienzimático consiste da *α -cetogluturato-desidrogenase*, *diidrolipoil-transsuccinilase* e *diidrolipoil-desidrogenase* como três unidades catalíticas. A reação produz a segunda molécula de CO_2 e o segundo NADH do ciclo. O complexo é inibido pelo ATP, GTP, NADH, succinil-CoA e Ca^{2+} .



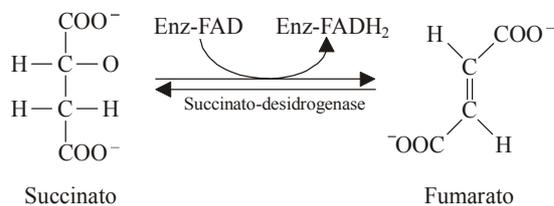
5. Clivagem da succinil-CoA com formação de GTP. A *succinil-CoA-sintetase* (succinato-tiocinase) hidrolisa a ligação tioéster de “alta energia” da succinil-CoA ($\Delta G^{\circ'} = -32,6 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) para formar succinato. A energia liberada é conservada como *trifosfato de guanosina* (GTP) produzida a partir de GDP + P_i ($\Delta G^{\circ'} = -30,5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), em uma fosforilação ao nível do substrato. O teor energético do GTP é equivalente ao do ATP.



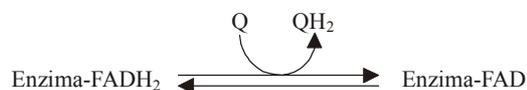
Em presença da *nucleosídio-difosfato-cinase* e Mg^{2+} , o GTP é convertido reversivelmente em ATP:



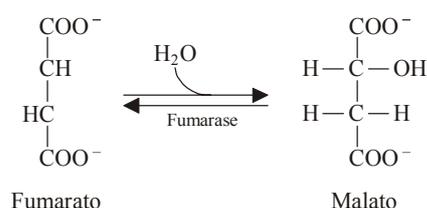
6. Oxidação do succinato para formar fumarato e FADH_2 . O succinato é oxidado a fumarato pela *succinato-desidrogenase*. Essa enzima necessita de flavina adenina dinucleotídio (FAD) ligada covalentemente. Nas células dos mamíferos, a enzima está firmemente ligada à membrana mitocondrial interna sendo um componente da succinato-ubiquinona, um complexo multiprotéico que participa da cadeia mitocondrial transportadora de elétrons. A succinato-desidrogenase é fortemente inibida competitivamente pelo malonato e ativada pelo ATP, fósforo inorgânico e succinato.



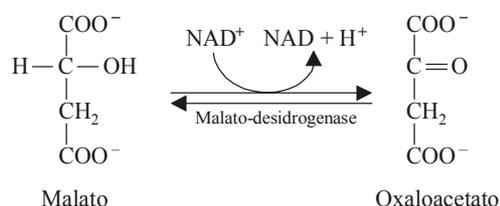
Os co-fatores participam da transferência de elétrons do succinato para a ubiquinona.



7. Hidratação da liga dupla do fumarato para formar malato e o terceiro NADH. O fumarato é hidratado a L-malato pela enzima *fumarase*. A enzima é estereoespecífica e catalisa a hidratação da dupla ligação *trans* do fumarato.



8. Oxidação do malato a oxaloacetato. A reação final do ciclo é catalisada pela *malato-desidrogenase* com a formação de oxaloacetato e NADH. A posição de equilíbrio dessa reação está deslocada quase totalmente para a síntese do L-malato ($\Delta G^{\circ'} = +29,7 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$). Entretanto, a rápida remoção do oxaloacetato pela citrato sintase para a formação de citrato, possibilita a oxidação do malato.



Além da condensação com a acetil-CoA para formar citrato, o oxaloacetato pode ser transformado em piruvato, glicose (neoglicogênese) e aspartato (*ver* Metabolismo dos aminoácidos).

A. Energia no ciclo do ácido cítrico

O ciclo do ácido cítrico é a via oxidativa terminal para a maioria dos combustíveis metabólicos (piruvato, aminoácidos e ácidos graxos). Os dois carbonos do grupo acetila que participam do ciclo são oxidados completamente a CO_2 e H_2O . A energia liberada por essas oxidações é conservada na forma de três NADH, um FADH_2 e uma molécula de GTP (ou ATP). Para cada NADH que transfere seus elétrons para a cadeia mitocondrial transportadora de elétrons (*ver* Capítulo 8: Fosforilação oxidativa), aproximadamente 2,5 ATP são produzidos a partir de $\text{ADP} + \text{P}_i$. Para cada FADH_2 , cerca de 1,5 ATP são produzidos. Assim, a completa oxidação do grupo acetila da acetil-CoA no ciclo do ácido cítrico produz 10 ATP.

B. Regulação do ciclo do ácido cítrico

O ciclo do ácido cítrico possui vários níveis de controle para que as necessidades energéticas e biossintéticas das células sejam constantemente atingidas. A disponibilidade de substratos (acetil-CoA, NAD^+ , FAD e ADP), a demanda por precursores biossintéticos provenientes do ciclo do ácido cítrico e a necessidade de ATP determinam a velocidade de operação do ciclo.

O suprimento de grupos acetil derivados do piruvato (carboidratos) ou de ácidos graxos (lipídios) é fundamental para a velocidade do ciclo. A velocidade é influenciada por controles exercidos sobre o complexo da piruvato-desidrogenase (inibido por acetil-CoA, ATP e NADH e ativado por CoA, ADP e NAD^+) e pela regulação dos processos de transporte e β -oxidação dos ácidos graxos.

Relação $[\text{NADH}]/[\text{NAD}^+]$. Elevadas concentrações de NADH inibem alostericamente as três enzimas controladoras do ciclo: a citrato-sintase, a isocitrato-desidrogenase e a α -cetoglutarato-desidrogenase. A isocitrato-desidrogenase pode também ser inibida pelo ATP.

Os intermediários do ciclo podem afetar a atividade de algumas enzimas. A succinil-CoA inibe o complexo α -cetoglutarato-desidrogenase e a citrato-sintase. O oxaloacetato inibe a succinato-desidrogenase. Teores de Ca^{2+} intramitocondrial também são importantes na regulação do ciclo do ácido cítrico. A piruvato-desidrogenase é ativada pelo cálcio através da ação do cátion sobre a fosfatase regulatória. A isocitrato-desidrogenase e a α -cetoglutarato-desidrogenase são estimuladas mais diretamente pelos íons Ca^{2+} .

Alguns intermediários do ciclo do ácido cítrico podem influenciar o fluxo em outras vias, por exemplo, as enzimas glicolíticas fosfofrutocinase e piruvato-cinase, são inibidas pelo citrato e succinil-CoA, respectivamente.

A Figura 7.5 mostra a regulação do fluxo metabólico no ciclo do ácido cítrico.

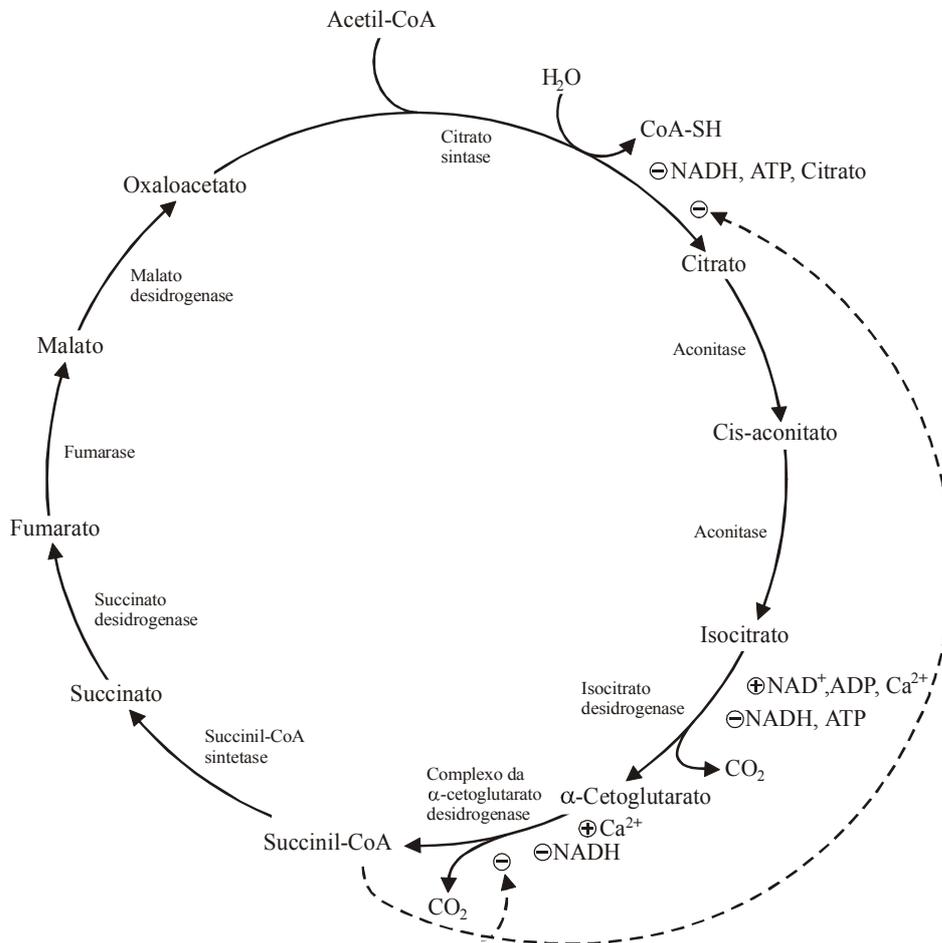


Figura 7.5
Regulação do fluxo metabólico do ciclo do ácido cítrico

7.3 Entrada e saída de intermediários do ciclo do ácido cítrico

O ciclo do ácido cítrico tem papel central no catabolismo de carboidratos, ácidos graxos e aminoácidos, com liberação e conservação de energia. Entretanto, o ciclo também está envolvido no fornecimento de precursores para muitas vias biossintéticas. O ciclo do ácido cítrico é, portanto, *anfibólico* (anabólico e catabólico). Os intermediários do ciclo (exceto o isocitrato e o succinato) são precursores ou produtos de várias moléculas biológicas. Por exemplo, a succinil-CoA é precursora da maioria dos átomos de carbono das porfirinas. Os aminoácidos aspartato e glutamato podem ser provenientes do oxaloacetato e α-cetogluturato, respectivamente, via reações de transaminação. A síntese de ácidos graxos e colesterol no citosol necessita de acetil-CoA gerada a partir do citrato que

atravessa a membrana mitocondrial (ver Capítulo 10: Metabolismo dos lipídeos).

Quadro 7.2 Ciclo do glioxilato

Nos vegetais, em certos microrganismos e em levedura é possível sintetizar carboidratos a partir de *substratos de dois carbonos* como o acetato e etanol, por meio de uma via alternativa chamada *ciclo do glioxilato*. A via emprega as enzimas do ciclo do ácido cítrico, além de duas enzimas ausentes nos tecidos animais: a *isocitrato-liase* e a *malato-sintase*. Pela ação da isocitrato-liase, o isocitrato é clivado em succinato e glioxilato. O glioxilato condensa com uma segunda molécula de acetil-CoA sob a ação da malato-sintase (em reação análoga àquela catalisada pela citrato-sintase no ciclo do ácido cítrico) para formar malato.

O malato passa para o citosol, onde é oxidado a oxaloacetato, que pode ser transformado em glicose pelas reações da gliconeogênese ou se condensar com outra molécula de acetil-CoA e iniciar outra volta do ciclo.

Nas plantas, o ciclo do glioxalato está localizado em organelas chamadas *glioxissomos*.

Os animais vertebrados não apresentam o ciclo do glioxilato e não podem sintetizar glicose a partir de acetil-CoA. Nas sementes em germinação, as enzimas do ciclo do glioxilato degradam os ácidos graxos que são convertidos em glicose, precursor da celulose.

Os intermediários do ciclo do ácido cítrico desviados para a biossíntese de novos compostos devem ser repostos por reações que permitam restabelecer seus níveis apropriados. Além disso, as flutuações nas condições celulares podem necessitar de aumento na atividade do ciclo, o que requer a suplementação de intermediários. O processo de reposição de intermediários do ciclo é chamado *anaplerose* (do grego, preencher completamente). A produção de oxaloacetato permite a entrada do grupo acetila no ciclo do ácido cítrico (oxaloacetato + acetil-CoA → citrato) e é a mais importante reação anaplerótica.

Em deficiências de qualquer dos intermediários do ciclo, o oxaloacetato é formado pela carboxilação reversível do piruvato por CO₂, em reação catalisada pela *piruvato-carboxilase* que contém *biotina* como coenzima. O excesso de acetil-CoA ativa alostericamente a enzima.



As reações do ciclo convertem o oxaloacetato nos intermediários deficientes para que se restabeleça sua concentração apropriada.

A síntese do oxaloacetato ocorre também a partir do fosfoenolpiruvato e é catalisada pela *fosfoenolpiruvato-carboxicinase* presente tanto no citosol como na matriz mitocondrial. A enzima é ativada pelo intermediário glicolítico frutose-1,6-bifosfato, cuja concentração aumenta quando o ciclo do ácido cítrico atua lentamente.



Pela ação conjunta das duas enzimas malato-desidrogenase (“enzima málica”), o malato (e o oxaloacetato) pode ser produzido a partir do piruvato:



Outras reações que abastecem o ciclo do ácido cítrico incluem a succinil-CoA, um produto do catabolismo de ácidos graxos de cadeia ímpar, e os α-cetoácidos a partir do α-cetoglutarato e oxaloacetato

provenientes dos aminoácidos glutamato e aspartato, respectivamente, via reações de transaminação.

Por reversão de reações anapleróticas, os intermediários do ciclo do ácido cítrico servem como precursores de glicose. Essa função é demonstrada em certas espécies de microrganismos e plantas que utilizam o *ciclo do glioxilato* na síntese de carboidratos a partir da acetil-CoA.

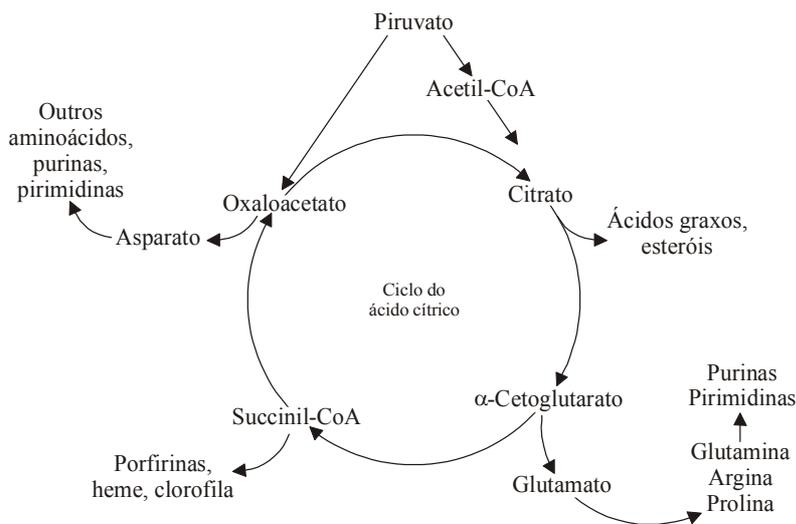


Figura 7.6
Papel biossintético do ciclo do ácido cítrico. Os intermediários do ciclo do ácido cítrico são precursores biossintéticos de vários compostos.

Resumo

1. Os organismos aeróbicos empregam o oxigênio para gerar energia a partir de combustíveis metabólicos por vias bioquímicas: ciclo do ácido cítrico, cadeia mitocondrial transportadora de elétrons e fosforilação oxidativa.
2. O ciclo do ácido cítrico é uma série de oito reações sucessivas que oxidam completamente substratos orgânicos, como carboidratos, ácidos graxos e aminoácidos para formar CO_2 , H_2O e coenzimas reduzidas NADH e FADH_2 . O piruvato, o produto da via glicolítica, é convertido a acetil-CoA, o substrato para o ciclo do ácido cítrico.
3. Os grupos acetila entram no ciclo do ácido cítrico como acetil-CoA produzidos a partir do piruvato por meio do complexo multienzimático da piruvato-desidrogenase que contém três enzimas e cinco coenzimas.
4. Além do papel gerador de energia, o ciclo do ácido cítrico também exerce importantes papéis, biossíntese de glicose (gliconeogênese), de aminoácidos, de bases nucleotídicas e de grupos heme.
5. O ciclo do glioxilato, encontrado em alguns vegetais e em alguns fungos, é uma versão modificada do ácido cítrico no qual as moléculas de dois carbonos, como o acetato, são convertidos em precursores da glicose.

Referências

- BLACKSTOCK, J. C. **Biochemistry**. Oxford: Butterworth, 1998. p. 47-75.
- CAMPBELL, M. K. **Bioquímica**. 3 ed. Porto Alegre: ArtMed, 2000. p. 492-519.
- NELSON, D. L., COX, M. M. **Lehninger: Princípios de bioquímica**. 3 ed. São Paulo: Sarvier, 2002. p. 441-64.
- MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica para o laboratório: princípios e interpretações**. 4 ed. Porto Alegre: Editora Médica Missau, 2003. p. 75-103.