

VALTER T. MOTTA

BIOQUÍMICA BÁSICA

Metabolismo dos Lipídeos

10

Metabolismo dos Lipídeos

Objetivos

1. Descrever a digestão e absorção dos lipídeos.
2. Descrever o transporte intracelular de ácidos graxos através da membrana mitocondrial.
3. Descrever a β -oxidação dos ácidos graxos usando um esquema metabólico.
4. Calcular o balanço energético da oxidação total de um mol de ácido graxo.
5. Descrever a regulação da oxidação dos ácidos graxos.
6. Descrever a formação e degradação de corpos cetônicos e seu papel na inanição e diabete melito.
7. Descrever o transporte de grupos acetil da mitocôndria para o citosol.
8. Descrever as reações de biossíntese de ácidos graxos pelo complexo ácido graxo sintase.
9. Descrever o controle da biossíntese dos ácidos graxos.
10. Reconhecer que a glicose é a principal fonte de acetil-CoA, de oxaloacetato e de NADPH para a biossíntese dos ácidos graxos.
11. Identificar os processos de formação de ácidos graxos de mais de 16 átomos de carbono e de obtenção de ácidos graxos insaturados.
12. Descrever a síntese de triglicerídeos.
13. Descrever o metabolismo dos lipídeos de membrana.
14. Descrever o metabolismo do colesterol.
15. Descrever a formação de eicosanóides.

A acetil-CoA, uma molécula de “alta energia” composta de coenzima A e um grupo acetil, exerce papel fundamental no metabolismo dos lipídeos. Em muitos processos metabólicos relacionados aos lipídeos, a acetil-CoA atua como substrato ou produto. Por exemplo, a acetil-CoA não usada imediatamente para a geração de energia celular é empregada na síntese dos ácidos graxos. Quando os ácidos graxos de cadeia longa são oxidados para liberar energia, forma-se acetil-CoA. Três moléculas de acetil-CoA são combinadas para formar isopentenil pirofosfato, a molécula construtora de isoprenóides nas reações sintéticas. Assim, moléculas tão diversas como terpenos e esteróides encontrados em animais e plantas são sintetizadas a partir de acetil-CoA. Pelo papel importante dos lipídeos na geração de energia e na formação de materiais

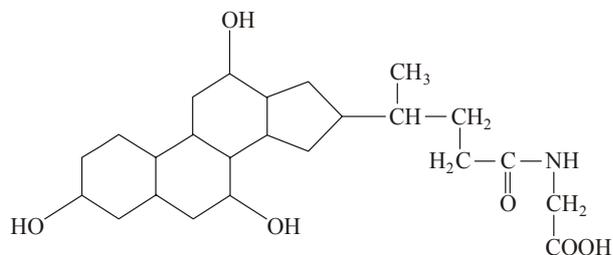
estruturais para as células vivas, o seu metabolismo e os seus mecanismos de controle são descritos nesse capítulo.

10.1 Digestão e absorção dos lipídeos

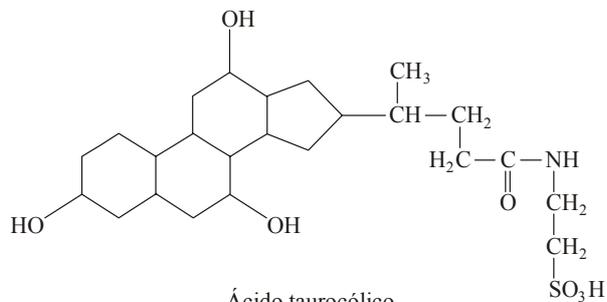
Os lipídeos ingeridos são constituídos principalmente por triacilgliceróis (90% do total) e, em menor grau, glicerofosfolipídeos, colesterol, ésteres de colesteril e ácidos graxos livres. No trato gastrointestinal, os lipídeos são emulsificados, digeridos por enzimas hidrolíticas e absorvidos pelas células da mucosa intestinal.

Em razão da pouca solubilidade em meio aquoso, os lipídeos se agregam em grandes complexos dificultando a hidrólise enzimática e a absorção intestinal. Esses obstáculos são contornados pelo emprego de agentes emulsificantes que aumentam a interface lipídio-água permitindo a ação das enzimas intestinais hidrossolúveis, também como a “solubilização” dos produtos de hidrólise.

Os lipídeos da dieta são emulsificados no duodeno pela ação detergente dos *sais biliares*. Os sais biliares são moléculas anfipáticas sintetizadas pelo fígado a partir do colesterol e temporariamente armazenados na vesícula biliar e liberados no intestino delgado após a ingestão de gorduras. Os principais são o *glicocolato de sódio* e o *taurocolato de sódio* derivados dos ácidos glicocólico e taurocólico, respectivamente (ver Seção 10.7.C). A emulsificação é possível pela natureza anfipática dos sais biliares. A porção polar das moléculas de sais biliares, interage com a água, enquanto o grupo não-polar interage com os lipídeos hidrofóbicos. Desse modo, os lipídeos são finamente dispersos no meio aquoso.



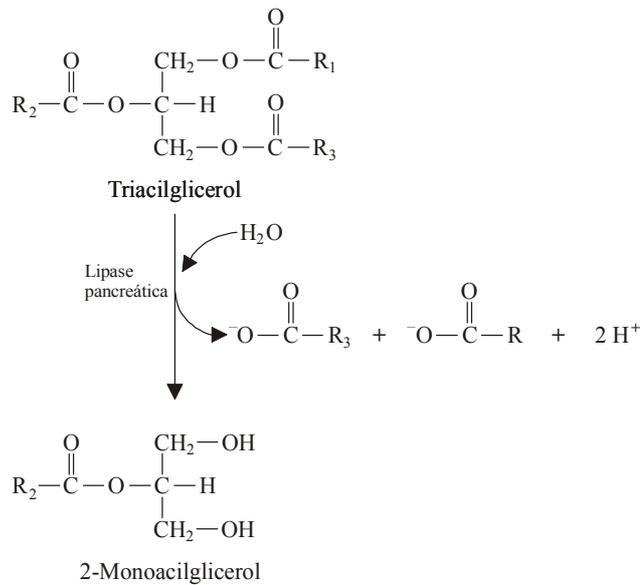
Ácido glicocólico



Ácido taurocólico

Três enzimas hidrolíticas são encontradas no suco pancreático secretado no duodeno: *lipase-pancreática*, *colesterol-esterase* e *fosfolipase A₂*.

A *lipase-pancreática* catalisa a hidrólise dos triacilgliceróis com a formação de 2-monoglicerol e 2 ácidos graxos:



A *colipase*, um co-fator protéico também produzido pelo pâncreas, é essencial na estabilização da lipase, não permitindo sua desnaturação ou inibição pelos sais biliares.

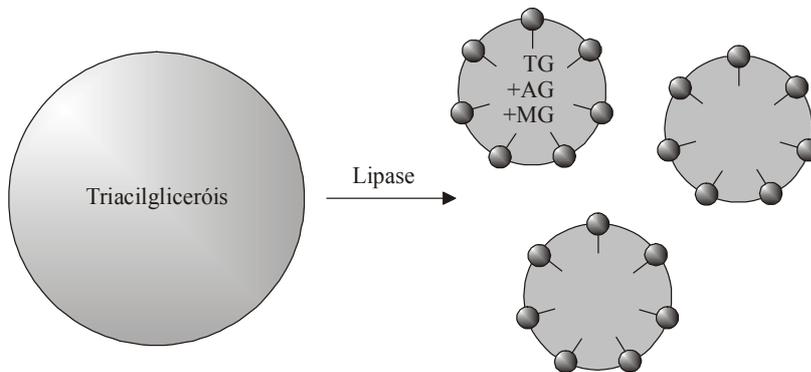
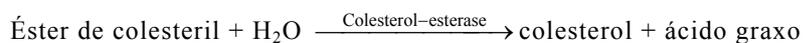


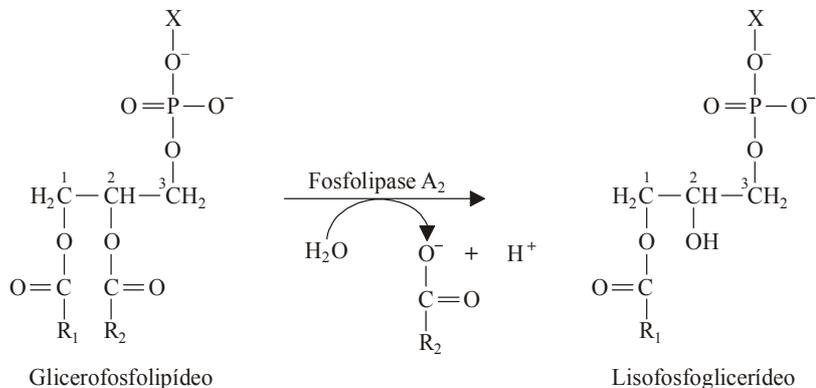
Figura 10.1. Alterações no estado físico durante a digestão dos triacilgliceróis. (TG = triacilgliceróis, AG = ácidos graxos, MG = monoacilgliceróis).

Os ésteres de colesterol ingeridos na dieta são emulsificados pelos sais biliares e, então, hidrolisados pela *colesterol-esterase* a colesterol e ácidos graxos livres:



A *fosfolipase A₂*, secretada na forma de pró-enzima e ativada pela tripsina, catalisa a hidrólise dos resíduos de ácidos graxos presentes

na posição 2 dos fosfoglicerídeos, formando 1-acil lisofosfoglicerídeos:



O suco pancreático contém outras esterases menos específicas que atuam sobre monoacilgliceróis e outros ésteres lipídicos, como os de vitamina A com ácidos carboxílicos.

Os produtos da lipólise são incorporados a *miscelas mistas* com sais biliares conjugados. As miscelas são os principais veículos no movimento dos ácidos graxos, monoacilgliceróis e glicerol da luz para a superfície das células da mucosa intestinal onde ocorre a absorção. Na ausência de sais biliares, a absorção dos lipídeos é drasticamente reduzida com a presença excessiva de gorduras nas fezes (esteatorréia). A esteatorréia ocorre também por deficiência de lipase pancreática ou defeitos de absorção ao nível da mucosa intestinal e outras condições que comprometem a absorção das gorduras.

Na célula da mucosa intestinal, o destino dos ácidos graxos absorvidos é determinado pelo comprimento de suas cadeias carbonadas. Ácidos graxos de cadeia curta (2-10 átomos de carbono) são hidrossolúveis, sendo diretamente liberados para o sangue portal sem alterações e transportados ao fígado unidos à albumina. Os ácidos graxos de cadeia longa são convertidos novamente em triacilgliceróis e agrupados com o colesterol, fosfolípídeos e proteínas específicas (apolipoproteínas) que os tornam hidrossolúveis. Esses agregados lipoprotéicos são denominados *quilomícrons* e são liberados para os vasos linfáticos intestinais e a seguir para o sangue.

A *lipoproteína-lipase* (sintetizada pelo músculo esquelético e cardíaco, glândula mamária de lactantes e tecido adiposo) ligada à superfície endotelial dos capilares sanguíneos, converte os triacilgliceróis dos quilomícrons em ácidos graxos e glicerol. Esses compostos são captados por vários tecidos, principalmente, o adiposo e o muscular. A lipoproteína-lipase é ativada por ligação a uma proteína componente dos quilomícrons, a apoproteína C-II.

A concentração de ácidos graxos livres no organismo é baixa, pois suas moléculas são detergentes (formam micelas) e podem romper as membranas celulares. Após entrar nas células, provavelmente com o auxílio de proteínas, os ácidos graxos podem ser (1) oxidados para gerar energia, (2) armazenados como triacilgliceróis ou (3) usados para a síntese de membranas.

Muitos ácidos graxos são empregados pelo fígado e células musculares, especialmente no músculo cardíaco, que prefere utilizar ácidos graxos mesmo quando houver disponibilidade de carboidratos.

10.2 Mobilização dos triacilgliceróis (lipólise)

Os ácidos graxos de fontes alimentares e sintetizados no organismo, são esterificados a triacilgliceróis, transportados via corrente circulatória e armazenados como gotículas líquidas no citoplasma das células do tecido adiposo. Os triacilgliceróis constituem a fonte mais concentrada de energia química do corpo. Durante o jejum, exercício vigoroso e em resposta ao estresse, os triacilgliceróis armazenados nos adipócitos são hidrolisados em ácidos graxos e glicerol pela ação da *lipase hormônio-sensível*.

Os hormônios *adrenalina* (epinefrina) e *glucagon* secretados em resposta a baixos teores de glicemia, ativam a adenilil-ciclase na membrana plasmática dos adipócitos (Figura 10.2). A *adenilil-ciclase* transforma ATP em AMPc (AMP cíclico) (ver Capítulo 12). A *proteína-cinase dependente de AMPc*, fosforila e, assim, ativa a lipase. Os triacilgliceróis são hidrolisados em ácidos graxos e glicerol. Elevados teores de glicose e de insulina sanguínea exercem atividades opostas, acumulando triacilgliceróis no tecido adiposo.

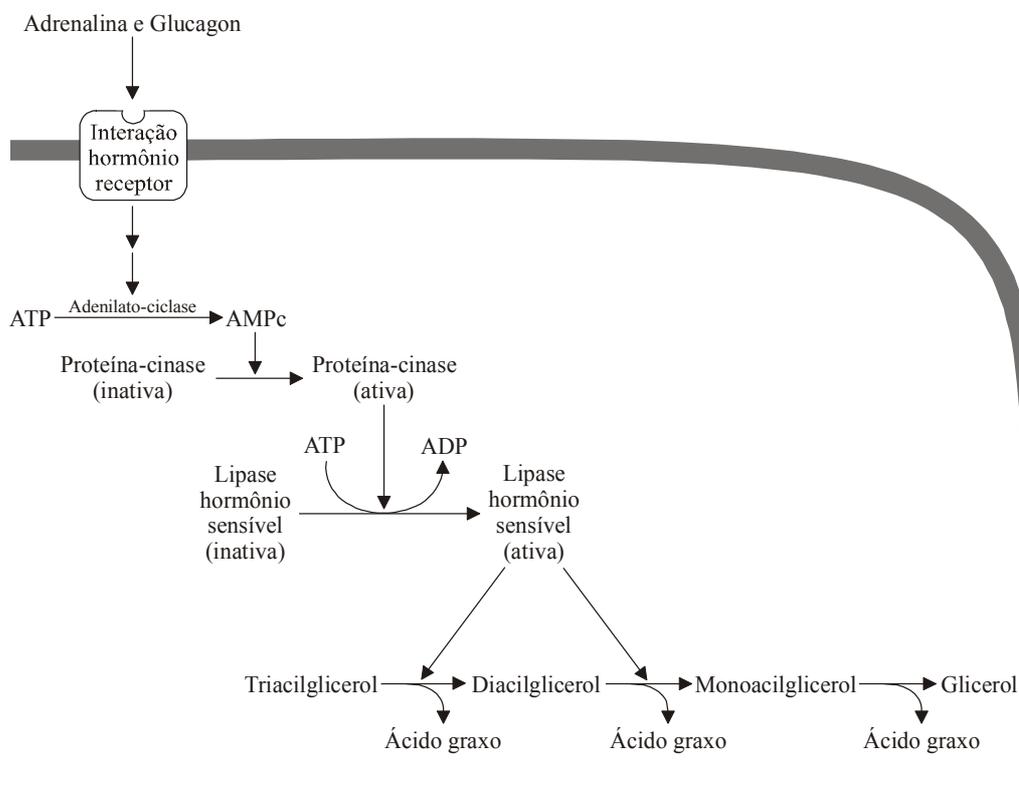


Figura 10.2
Mobilização de ácidos graxos dos adipócitos

O glicerol é conduzido ao fígado e fosforilado a glicerol-6-fosfato pela *glicerol-cinase* (ver seção 10.5.F). A glicerol-3-fosfato é oxidada pela via glicolítica ou usada na síntese de triacilgliceróis, fosfolípidos ou glicose (gliconeogênese).

Os ácidos graxos liberados dos adipócitos são transportados pelo sangue ligados à albumina sérica para diferentes tecidos nos quais servirão como combustíveis. Difundem-se para o interior das células por uma proteína transportadora de ácidos graxos presente na membrana plasmática em processo associado ao transporte ativo do sódio. As células variam grandemente em suas capacidades de transporte e utilização dos ácidos graxos.

10.3 Oxidação dos ácidos graxos

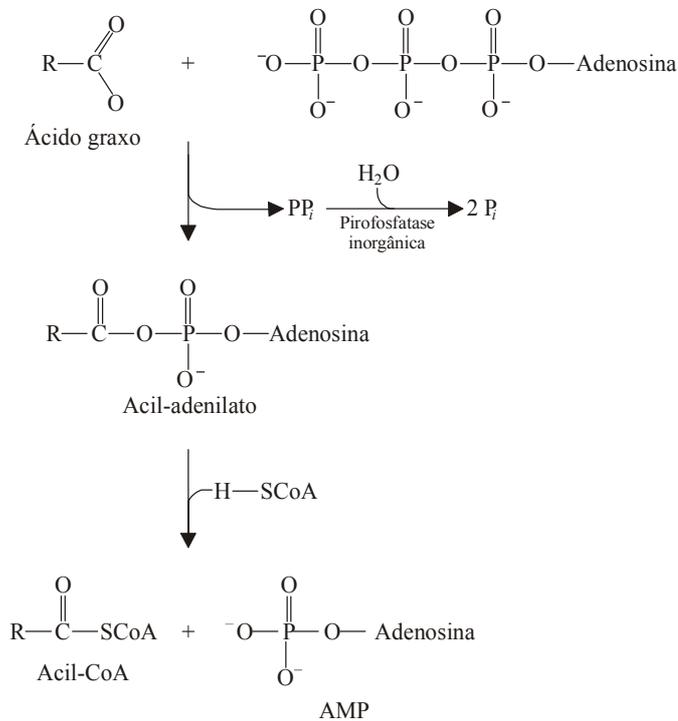
Os ácidos graxos são degradados por oxidação em uma seqüência repetitiva de reações que produzem moléculas de acetil-CoA e liberam energia. O mecanismo ocorre principalmente na matriz mitocondrial das células animais, sendo conhecido como β -oxidação (existe também a β -oxidação nos peroxissomos) na qual os ácidos graxos são degradados pela remoção de unidades de dois carbonos (acetil-CoA).

O grau de utilização dos ácidos graxos varia de acordo de tecido para tecido e depende do estado metabólico do organismo (condição absorviva, pós-prandial, alimentado, jejum prolongado, inanição, exercício, repouso, etc). Durante o jejum prolongado, a maioria dos tecidos é capaz de utilizar os ácidos graxos como fonte de energia. O tecido nervoso e os eritrócitos não empregam os ácidos graxos como combustível.

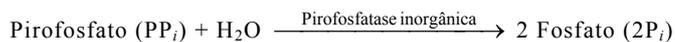
Nas mitocôndrias, os ácidos graxos são degradados pela oxidação no β -carbono (C3) em um grupo ceto (C=O) com a remoção sucessiva de fragmentos de dois carbonos na forma de acetil-CoA, posteriormente oxidada a CO₂ no ciclo do ácido cítrico. Em cada ciclo da β -oxidação, forma-se um mol de acetil-CoA, um de FADH₂ e um de NADH. No fígado, a energia liberada pela β -oxidação é empregada para dirigir a gliconeogênese.

A. Ativação de ácidos graxos

Antes de serem oxidados, os ácidos graxos são ativados pela adição de CoA para formar acil-CoA graxo. O grupo carboxila dos ácidos graxos de cadeia longa reage com o grupo sulfidrílico da CoA em presença de ATP para produzir acil-CoA, AMP e pirofosfato inorgânico (PP_i) em reação catalisada por uma família de enzimas, as *acil-CoA-sintases* (*tiocinases*) que estão associadas ao retículo endoplasmático ou com a membrana mitocondrial externa.



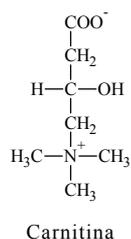
O processo envolve a clivagem do ATP em pirofosfato inorgânico (PP_i) e AMP, em lugar de ADP e P_i . A formação de acil-CoA é favorecida pela hidrólise de duas ligações de “alta energia” do ATP, pois o pirofosfato inorgânico é hidrolisado subsequentemente pela *pirofosfatase inorgânica*:

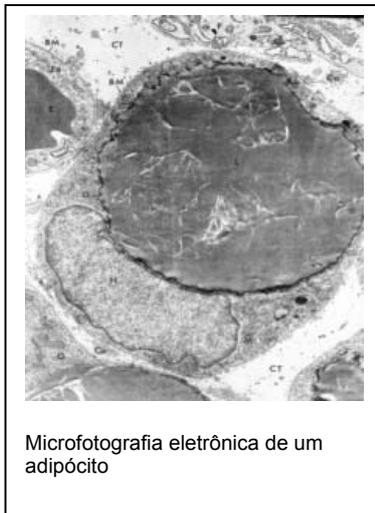


Na reação total duas ligações fosfato de “alta energia” são consumidas (hidrólise do ATP e do pirofosfato), enquanto somente uma é formada (acil-CoA), tornando o processo espontâneo e irreversível.

B. Transporte do grupo acil para as mitocôndrias

Os ácidos graxos são ativados no citosol, mas a oxidação ocorre na mitocôndria. Como a membrana mitocondrial interna é impermeável aos acil-CoA graxos de cadeia longa, os grupos acil entram na mitocôndria por um sistema de lançadeira que emprega a *carnitina* (4-trimetilamino-3-hidroxi-butirato) como transportador. A carnitina é um composto dipolar derivado do aminoácido lisina.





Duas enzimas participam das reações: a carnitina–acil-transferase I e a carnitina–acil-transferase II. A *carnitina–acil-transferase I* localizada na superfície externa da membrana mitocondrial interna, catalisa a transferência do grupo acil da CoA para o grupo hidroxila da carnitina, formando acil-carnitina.

A reação é reversível com pequena variação de energia livre-padrão, indicando que a energia contida na acil–CoA não é dissipada pela formação da acil-carnitina. Essa última atravessa a membrana e o grupo acil é transferido da carnitina para a CoA presente na matriz mitocondrial em reação catalisada pela *carnitina–acil-transferase II* encontrada na superfície interna da membrana mitocondrial interna:

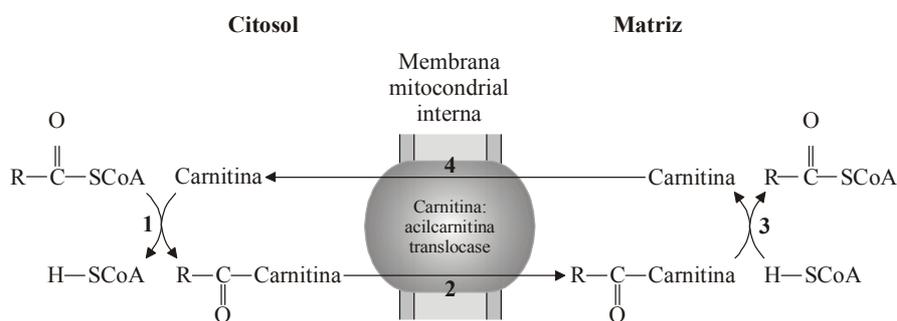


Figura 10.3

Transporte dos ácidos graxos para a matriz mitocondrial. (1) O grupo acila da acil–CoA citosólica é transferido para a carnitina, liberando CoA. (2) A acil–carnitina é transportada para a matriz com a subsequente transferência do grupo acil para a molécula de CoA intramitocondrial. (3) O grupo acil é transferido para a molécula de CoA do conjunto mitocondrial. (4) A carnitina retorna ao citosol.

A acil-carnitina é lançada para o interior da mitocôndria por um transportador protéico específico chamado *carnitina: acilcarnitina–translocase*. A carnitina retorna ao espaço intermembranas também pela translocase.

C. Reações da β -oxidação dos ácidos graxos

Na β -oxidação, a acil–CoA graxo é oxidado em um ciclo repetido de quatro reações enzimáticas: (1) formação de ligação dupla *trans*– α,β . (2) Hidratação da ligação dupla, (3) desidrogenação da L– β –hidroacil–CoA e (4) formação de acetil–CoA.

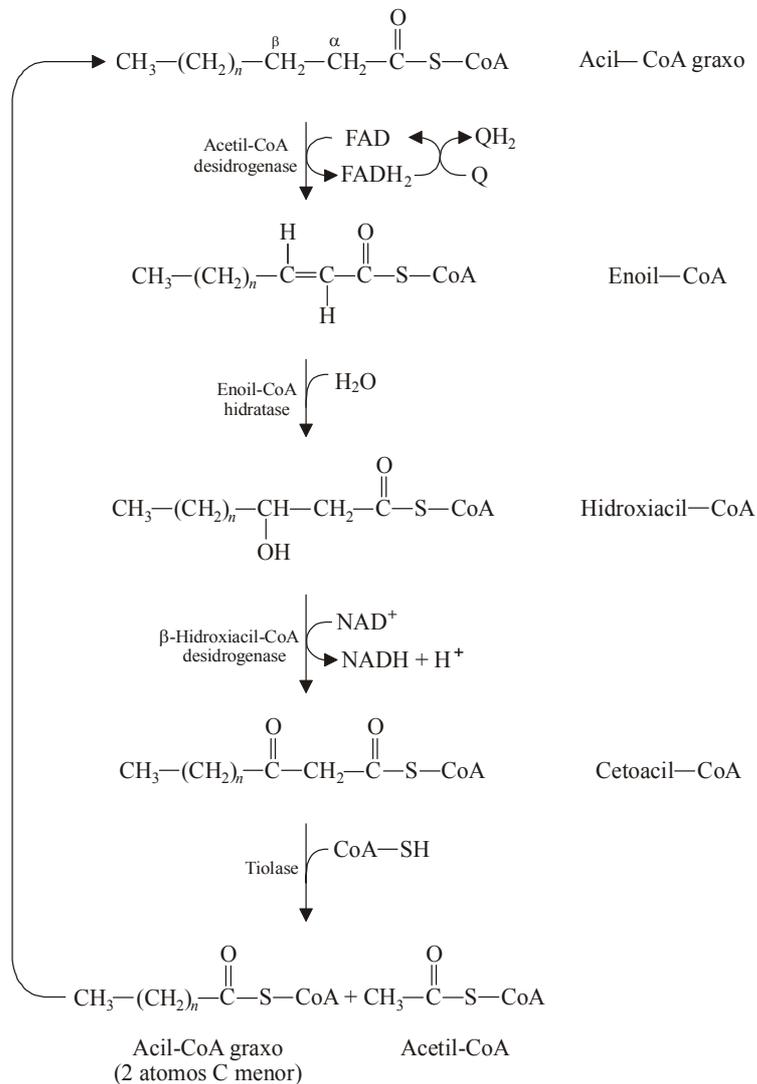
1. Formação de dupla ligação *trans*– α,β . Uma vez na matriz mitocondrial, o acil–CoA graxo é oxidado no carbono β (remoção de átomos de hidrogênio dos carbonos α e β) por *acil–CoA–desidrogenases* que contém FAD, formando dupla ligação entre os carbonos 2 e 3 em configuração *trans* α,β (*trans*– Δ^2 –enoil–CoA). Quando a dupla ligação é formada, os elétrons do acil–CoA graxo são transferidos para o FAD para produzir o FADH₂ que doa o par de elétrons para a cadeia mitocondrial transportadora de elétrons, por meio da *flavoproteína de transferência de elétrons* (ETF), para a ubiquinona (Q) pela ação da *ETF:ubiquinona–oxidoreductase* com a produção de 1,5 ATP.

2. Hidratação da ligação dupla. A adição de uma molécula de água à dupla ligação da *trans*- Δ^2 -enoil-CoA forma o L isômero da β -hidroacil-CoA em reação catalisada por *enoil-CoA-hidratases* (*crotonases*).

3. Desidrogenação da L- β -hidroacil-CoA. A enzima *L- β -hidroxiacil-CoA-desidrogenase* NAD⁺ dependente é específica para os L-isômeros de substratos com diferentes comprimentos de cadeia, promovendo a produção de β -cetoacil-CoA. O NADH formado transfere o par de elétrons para a cadeia mitocondrial transportadora de elétrons com a subsequente geração de 2,5 ATP.

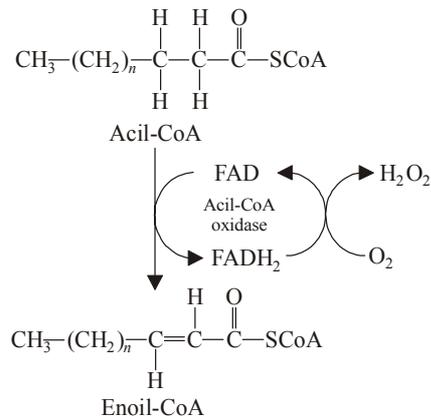
4. Formação de acetil-CoA. A reação final catalisada pela *tiolase* (acil-CoA-acetiltransferase), consiste em clivagem de um fragmento carboxiterminal de dois carbonos na forma de acetil-CoA da 3-cetoacil-CoA entre os C _{α} e C _{β} . O outro produto é uma acil-CoA contendo dois carbonos a menos que a acil-CoA original.

A acetil-CoA é convertida em CO₂ e H₂O via ciclo do ácido cítrico, enquanto a acil-CoA original encurtada em dois átomos de carbono sofre novo ciclo de quatro reações da β -oxidação. A repetição sucessiva das quatro reações do processo promove a degradação completa de ácido graxo com número par de átomos de carbono em moléculas de acetil-CoA.

**Figura 10.4**Reações da via de β -oxidação de ácidos graxos***Oxidação dos ácidos graxos nos peroxissomos***

Nos *peroxissomos* (organelas subcelulares), ocorre pequena percentagem de β -oxidação dos ácidos graxos. Em animais, a β -oxidação peroxissomal encurta as cadeias de ácidos graxos com mais de 20 carbonos. Os ácidos graxos resultantes são degradados nas mitocôndrias pela β -oxidação. Em muitas células vegetais, a β -oxidação tem lugar predominantemente nos peroxissomos. (Os ácidos graxos não são fontes de energia importantes para os tecidos vegetais).

A β -oxidação peroxissomal difere da via mitocondrial somente na primeira etapa onde uma *acil-CoA-oxidase* catalisa a reação:

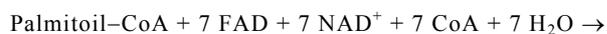


A enoil-CoA é idêntica ao produto da reação da mitocondrial catalisada pela acil-CoA-desidrogenase. No entanto, os elétrons removidos são transferidos diretamente para o oxigênio molecular para formar peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e não para a ubiquinona. As reações seguintes são iguais as que ocorrem na mitocôndria.

Em algumas sementes em germinação, a β -oxidação ocorre nos *glioxissomos*. Os glioxissomos são peroxissomos especializados que contêm as enzimas do ciclo do glioxilato. A acetil-CoA derivada da β -oxidação glioxissomal é convertida em carboidratos pelo ciclo do glioxilato e gliconeogênese.

D. Produção de energia na oxidação dos ácidos graxos

Cada volta do ciclo de β -oxidação produz um NADH, um FADH_2 e uma acetil-CoA. A oxidação do NADH e do FADH_2 na cadeia mitocondrial transportadora de elétrons acoplada à fosforilação oxidativa, produz 2,5 e 1,5 ATP, respectivamente. Cada molécula de acetil-CoA proveniente da β -oxidação é metabolizada a CO_2 e água no ciclo do ácido cítrico e fosforilação oxidativa, com a produção de 10 ATP. No entanto, na ativação do ácido graxo são consumidos dois equivalentes de ATP (um ATP é transformado em $\text{AMP} + 2\text{P}_i$). Portanto, em condições fisiológicas, a oxidação completa de uma molécula de ácido palmítico (16 átomos de carbono) é dada pela reação:



A produção de ATP a partir da β -oxidação do ácido palmítico pelo ciclo do ácido cítrico e da fosforilação oxidativa é resumida na Tabela 10.1.

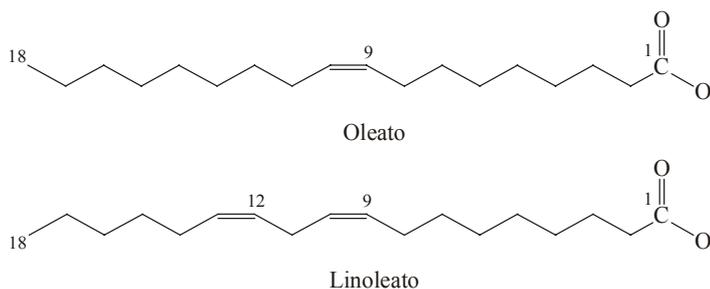
Tabela 10.1 – Produção de ATP na oxidação de uma molécula de ácido palmítico

	ATP/mol
2 equivalentes de ATP (etapa de ativação)	–2
7 FADH ₂ oxidados na CMTE (7 x 1,5)	10,5
7 NADH oxidados na CMTE (7 x 2,5)	17,5
8 acetil-CoA oxidados no ciclo do ácido cítrico (10 x 8)	80
Total:	106

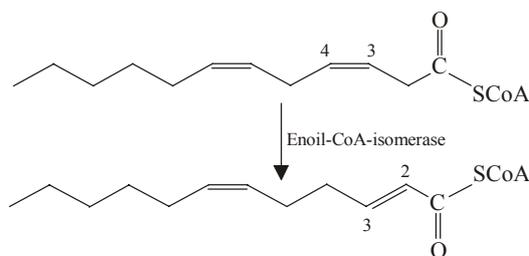
CMTE: cadeia mitocondrial transportadora de elétrons

E. Oxidação dos ácidos graxos insaturados

A via de oxidação dos ácidos graxos insaturados é a mesma dos ácidos graxos saturados até atingir a dupla ligação. O ácido oléico, 18:1^{A9} (oleato) e o ácido linoléico 18:2^{A9,12} (linoleato), são ácidos graxos comuns que contêm duplas ligações *cis* o que dificulta a ação das enzimas da β -oxidação.

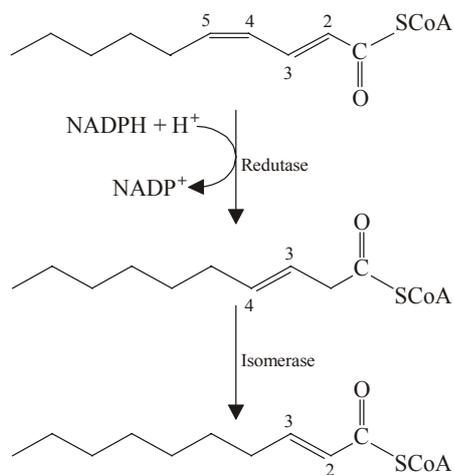


Para o linoleato, as primeiras três voltas da β -oxidação procedem de forma usual para liberar três moléculas de acetil-CoA. O acil-CoA que inicia a quarta volta tem dupla ligação entre C3 e C4 (originalmente a dupla ligação era C9 e C10). Além disso, a molécula é um *cis* enoil-CoA que não permite a ação da enoil-CoA-hidratase (enzima que catalisa a etapa 2 da β -oxidação) que reconhece somente a configuração *trans*. Esse obstáculo metabólico é removido pela enzima *enoil-CoA-isomerase*, que converte a dupla ligação *cis* 3,4 em uma dupla ligação *trans* 2,3 para que a β -oxidação continue.



Um segundo obstáculo ocorre após a primeira reação da quinta etapa da β -oxidação. A *acil-CoA-desidrogenase* introduz a dupla

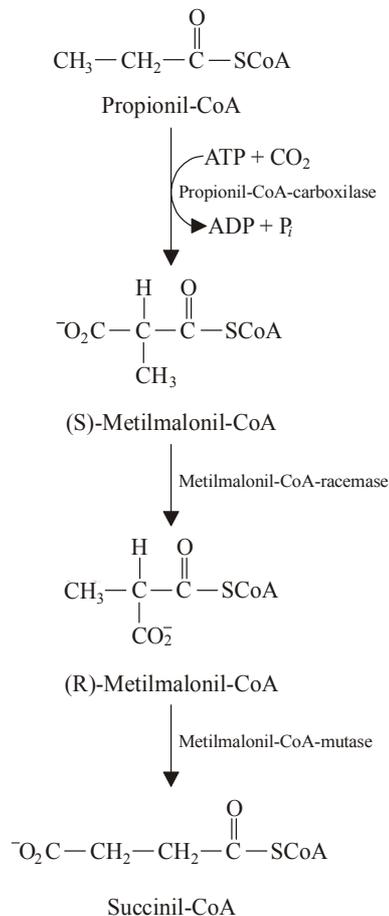
ligação entre C2 e C3, no entanto, a dupla ligação original entre C12 e C13 do linoato está agora na posição entre C4 e C5. O *dienoil-CoA* resultante não é um substrato apropriado para a enzima seguinte, a *enoil-CoA-hidratase* da β -oxidação. A *dienoil-CoA* sofre uma redução pela *2,4-dienoil-redutase dependente de NADPH* para converter as suas duas duplas ligações em uma única dupla ligação *trans* 3,4 que é reconhecida pela *enoil-CoA-hidratase* e permite a reentrada do intermediário na via normal de β -oxidação e sua degradação em seis moléculas de acetil-CoA. O resultado final é a transformação do linoleato em nove moléculas de acetil-CoA



A oxidação de ácidos graxos insaturados produz menor número de ATP que os correspondentes ácidos graxos saturados. Quando a dupla ligação estiver presente não ocorre a etapa catalisada pela acil-CoA-desidrogenase ligada ao FAD. Além disso, a redutase NADPH-dependente consome 2,5 equivalentes de ATP na forma de NADPH (que é energeticamente equivalente ao NADH).

F. Oxidação de ácidos graxos de cadeia ímpar

Apesar de raros, os ácidos graxos com número ímpar de átomos de carbono também são oxidados na via da β -oxidação com formação de moléculas sucessivas de acetil-CoA e um fragmento ω -terminal de três carbonos, a *propionil-CoA*. Este composto também é gerado na degradação oxidativa dos aminoácidos isoleucina, valina, metionina e treonina. Nas mitocôndrias de diversos tecidos, a *propionil-CoA* sofre carboxilação pela *propionil-CoA-carboxilase* em presença de biotina para produzir um intermediário de quatro átomos de carbono, a *D-metilmalonil-CoA*. Na etapa seguinte, a *D-metilmalonil-CoA* é epimerizada a *L-metilmalonil-CoA* pela enzima *metilmalonil-CoA-epimerase*. Pela ação da *metilmalonil-CoA-mutase* que requer a vitamina B_{12} como co-fator, a *L-metilmalonil-CoA* sofre um rearranjo intramolecular e forma *succinil-CoA*. A *succinil-CoA* entra diretamente no ciclo do ácido cítrico.



G. Vias secundárias de oxidação dos ácidos graxos

Nos microsomas de alguns tecidos, os ácidos graxos de cadeia ramificada (ácidos fitânicos) sofrem α -oxidação, na qual somente um átomo de carbono é removido por vez a partir do terminal carboxílico em processo que envolve o NAD^+ e o ascorbato. A doença de Refsum é um distúrbio neurológico raro, caracterizado pelo acúmulo de ácido fitâmico nos tecidos nervosos como resultado de um defeito genético na α -oxidação.

Na ω -oxidação, o terminal ω (o átomo de carbono mais distante do grupo carboxila) é oxidado a hidroxiácido graxo para formar um ácido graxo com duas carboxilas em reação catalisada por *oxidases de função mista* que requerem citocromo P_{450} , o O_2 e o NADPH como doador de elétrons. As reações ocorrem no retículo endoplasmático do fígado e do rim. O ácido dicarboxílico formado entra na mitocôndria e é degradado por β -oxidação nas duas extremidades da molécula. Sob condições normais, relativamente pouco ácido graxo é oxidado nessa via.

10.4 Corpos cetônicos

Sob condições normais, a acetil-CoA proveniente da β -oxidação é utilizada quase em sua totalidade pelo ciclo do ácido cítrico e para a síntese de isoprenóides. O metabolismo dos ácidos graxos é regulado de tal forma que somente pequenas quantidades de acetil-CoA são produzidas em excesso. Em certas condições metabólicas, tais como, jejum prolongado, inanição e diabetes melito, ocorre aumento na velocidade da β -oxidação, tornando necessário reciclar o excesso de acetil-CoA e liberar a CoA livre para novas β -oxidações. No fígado, o grupo acetil da acetil-CoA é transformado em *corpos cetônicos* em processo chamado *cetogênese*. Os corpos cetônicos consistem de *acetoacetato*, β -*hidroxibutirato* e *acetona* e são utilizados como combustível hidrossolúvel pelos tecidos extra-hepáticos.

A cetogênese ocorre em três reações:

1. Formação de acetoacetil-CoA. A primeira reação na formação do acetoacetato (fonte primária de todos os corpos cetônicos) é a condensação de duas moléculas de acetil-CoA para gerar acetoacetil-CoA, catalisada pela *acetil-CoA-acetiltransferase*. A formação da ligação C-C é favorecida energeticamente pela ruptura do enlace tioéster.

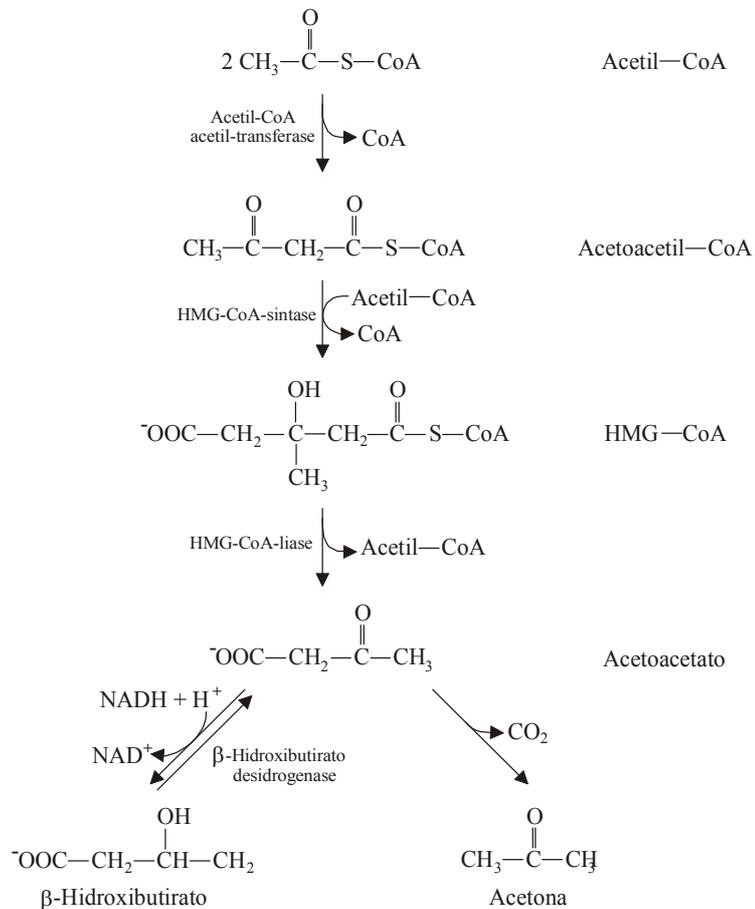
2. Formação de HMG-CoA. A acetoacetil-CoA é convertida a 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) por condensação com uma terceira molécula de acetil-CoA pela ação da *hidroximetilglutaril-CoA-sintase*. A HMG-CoA é também um precursor da biossíntese do colesterol.

3. Formação de acetoacetato e acetil-CoA. A clivagem da HMG-CoA fornece o acetoacetato livre pela *hidroximetilglutaril-CoA-liase*.

Parte do acetoacetato é reduzido a β -hidroxibutirato por uma β -*hidroxibutirato-desidrogenase* NAD^+ -dependente ligada à membrana mitocondrial interna. Essa enzima é específica para o D-isômero em contraste com o L-isômero acoplado a CoA intermediária da β -oxidação.

Certa quantidade de acetoacetato sofre contínua descarboxilação não-enzimática espontânea à acetona. Em condições normais a formação de acetona é negligenciável, no entanto, em acúmulos patológicos de acetoacetato, a quantidade de acetona no sangue pode ser detectada no ar expirado pelo paciente.

A presença aumentada de corpos cetônicos no sangue e na urina acompanhado de odor de acetona no ar expirado, é denominada *cetose*. Essa condição ocorre quando a velocidade de produção de corpos cetônicos pelo fígado excede a capacidade de sua utilização pelos tecidos periféricos, resultando em acúmulo no sangue (*ketonemia*). Ao ultrapassar o limiar renal, essas substâncias aparecem na urina (*ketonúria*).

**Figura 10.5**

Síntese de corpos cetônicos nas mitocôndrias hepáticas. Em circunstâncias normais, somente pequenas quantidades de corpos cetônicos são produzidas. No jejum prolongado, inanição e diabetes melito ocorre a formação excessiva de corpos cetônicos.

Em jejum prolongado e diabetes melito (estado com insulina baixa e glucagon elevado), como conseqüência do direcionamento do oxaloacetato para a formação de glicose (gliconeogênese), ocorre limitação da operação do ciclo do ácido cítrico. Desse modo, a grande quantidade de acetil-CoA produzida pela β -oxidação dos ácidos graxos no fígado é canalizada para a síntese de corpos cetônicos. Quando a formação de corpos cetônicos atinge níveis acima da capacidade compensatória dos sistemas tampões fisiológicos, desenvolve-se *cetoacidose*.

Vários tecidos, mais notadamente o músculo cardíaco e esquelético, empregam corpos cetônicos para gerar energia. O cérebro aumenta consideravelmente a utilização de corpos cetônicos como fonte de energia durante o período de jejum prolongado e inanição, economizando a glicose e reduzindo a degradação da proteína muscular para a gliconeogênese.

Nos tecidos periféricos, o β -hidroxiacetato é oxidado a acetoacetato, que é então ativado pela ação de uma *tioforase* que emprega a succinil-CoA como fonte de CoA, formando

acetoacetil-CoA. Esta última sofre clivagem pela *tiolase*, produzindo duas moléculas de acetil-CoA que entram no ciclo do ácido cítrico.

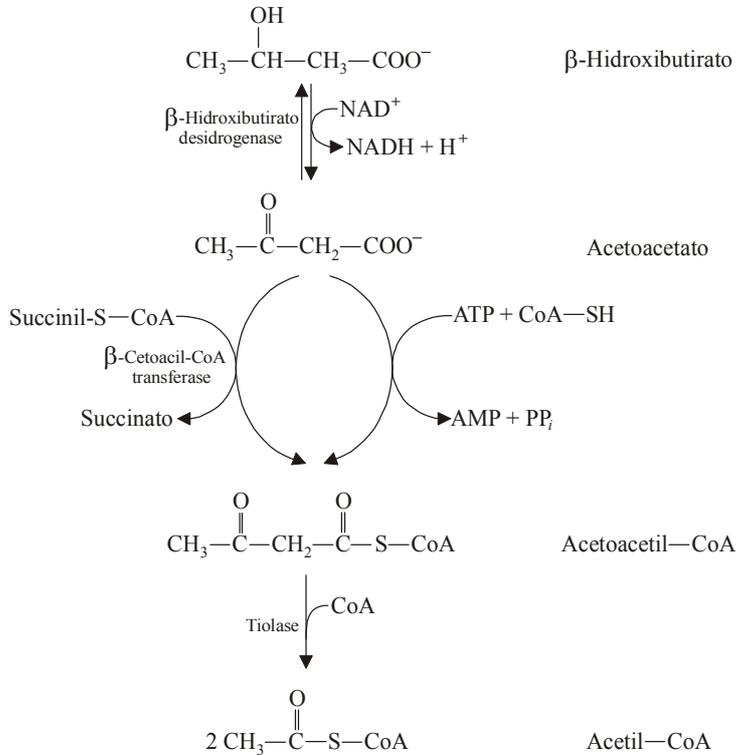


Figura 10.6
Catabolismo dos corpos cetônicos. Os corpos cetônicos são transformados em acetil-CoA em alguns órgãos, como por exemplo, músculo cardíaco e esquelético.

10.5 Biossíntese de ácidos graxos

A maioria dos ácidos graxos utilizados pelos mamíferos é suprida pela dieta. Todavia, também podem sintetizar quase todos os ácidos graxos saturados e insaturados necessários para os processos metabólicos vitais. Não produzem, entretanto, alguns ácidos graxos insaturados, tais como, o *linolênico* e *linoléico*, que são supridos pela dieta, sendo denominados *ácidos graxos essenciais*. Esses ácidos graxos são abundantes em peixes e óleos vegetais. A deficiência de ácidos graxos essenciais resultante de dieta com baixo conteúdo em gorduras apresenta sintomas como o crescimento lento e demora na cura de ferimentos.

Os ácidos graxos são formados a partir de acetil-CoA proveniente, quase totalmente, da glicose da dieta, ingerida além das necessidades imediatas de energia e da capacidade de armazenar glicogênio. A síntese ocorre principalmente no tecido adiposo, no fígado e nas glândulas mamárias de animais em lactação.

Inicialmente é formado o ácido palmítico (cadeia linear saturada com 16 átomos de carbono), a partir do qual outros ácidos graxos são derivados.

A. Transporte de acetato mitocondrial para o citosol

A biossíntese dos ácidos graxos é um processo que ocorre exclusivamente no citosol. Contudo, a acetil-CoA gerada nas mitocôndrias não se difunde espontaneamente para o citosol; em lugar disso, atravessa a membrana mitocondrial interna sob a forma de *citrato*, produzido a partir da condensação do oxaloacetato e acetil-CoA no ciclo do ácido cítrico. Em concentrações elevadas, o ATP inibe a enzima isocitrato-desidrogenase no ciclo do ácido cítrico, provocando o acúmulo de citrato na mitocôndria; o excesso difunde-se livremente para o citosol pela membrana mitocondrial interna por meio do *carreador do tricarboxilato*. No citosol, a acetil-CoA é regenerada, a partir do citrato pela ação da enzima *ATP-citrato-liase*:

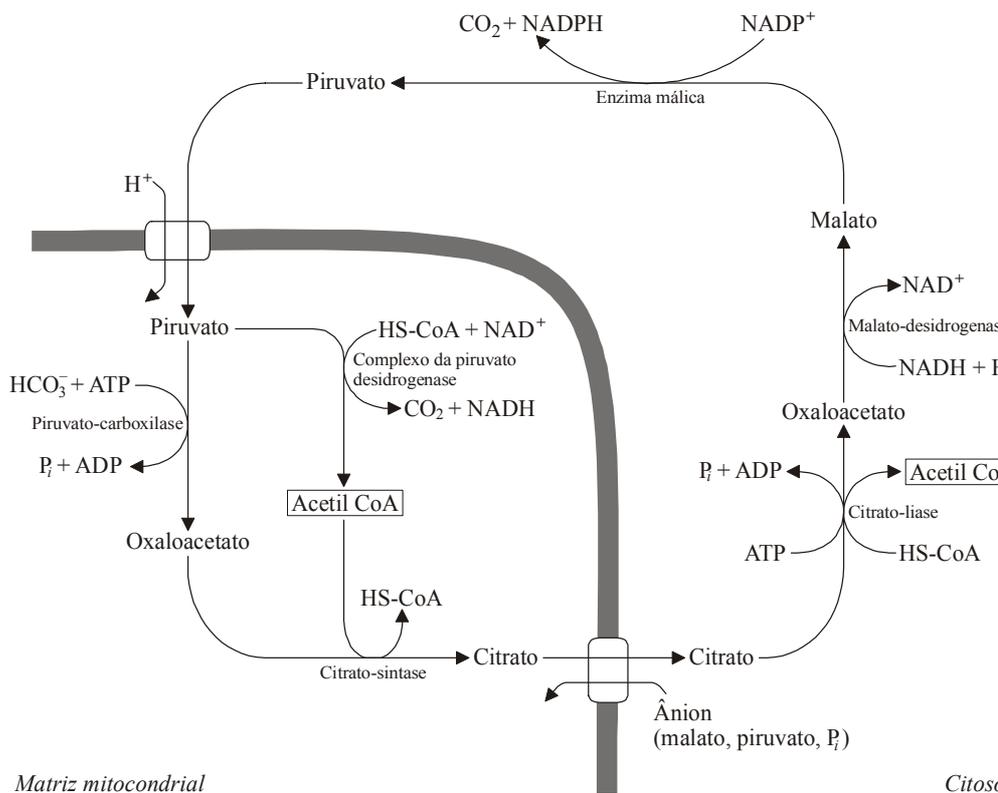
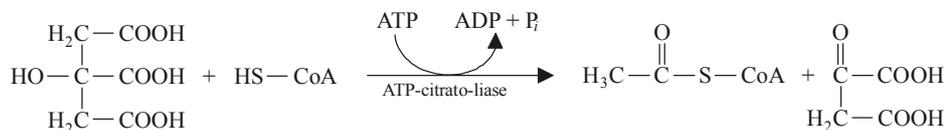
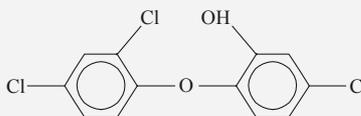


Figura 10.7
Mecanismo de transporte da acetil-CoA da mitocôndria para o citosol.

Na biossíntese dos ácidos graxos é necessário que todos os intermediários acílicos participantes do processo liguem-se como tioésteres, à *proteína transportadora de acila* (ACP, *acil carrier protein*) cujo grupo prostético, a 4'-fosfopanteteína, também está presente na estrutura da coenzima A.

Quadro 10.1 Triclosan

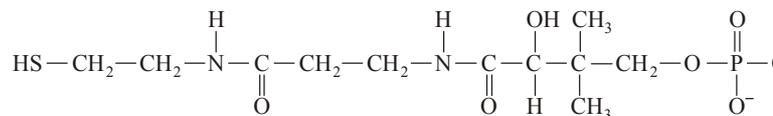
Muitos cosméticos, dentífrícos, desodorantes, sabões antisépticos, brinquedos para bebês, alguns tapetes e utensílios domésticos contêm o composto 5-cloro-2-(2,4-diclorofenóxi)fenol, mais conhecido com triclosan:



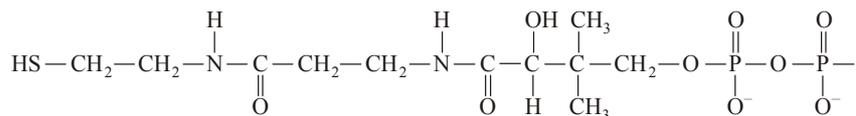
Esse composto é usado a mais de 30 anos como agente antibacteriano. O triclosan atua como um antibiótico com alvo bioquímico específico: uma das enzimas da síntese dos ácidos graxos (nas bactérias, as enzimas de síntese são proteínas separadas e não parte de um complexo multienzimático).

O triclosan inibe a enoil-ACP (texto). A síntese dos ácidos graxos e a sobrevivência das bactérias. No sítio dos anéis fenil do triclosan, o intermediário da reação, permanece ligado ao cofator NADPH. O triclosan também interfere com as forças de van der Waals e pontes de hidrogênio dos aminoácidos no sítio ativo. Algumas bactérias resistentes ao triclosan apresentam mutações nesses contatos.

A ação específica do triclosan inibe a enzima da síntese de ácidos graxos. Algumas variedades de bactérias resistentes ao triclosan estão sujeitas aos mesmos mecanismos de resistência a antibióticos – a resistência por meio de mutações na ampla utilização do triclosan aumenta a resistência gênica e, portanto, o seu uso é considerado antimicrobiano.



Proteína transportadora de acila (ACP)

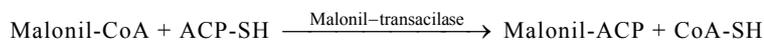


Coenzima A

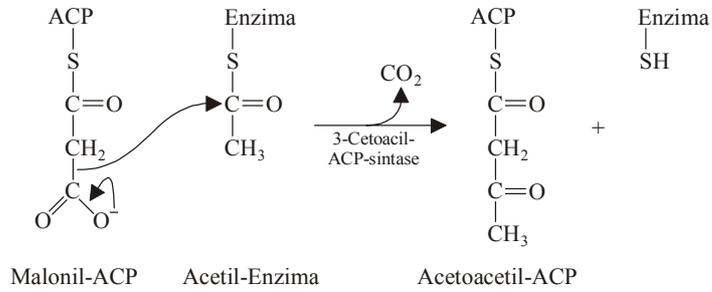
As etapas catalisadas pelas seis enzimas do complexo ácido graxo sintase que convertem a acetil-CoA e a malonil-CoA em ácido palmítico são descritas a seguir.

1. Condensação da acetil e malonil. Inicialmente, o grupo acetil da acetil-CoA é transferido para a enzima 3-cetoacil-ACP-sintase em reação catalisada por uma das seis enzimas do complexo, a *acetil-CoA-transacilase*.

A seguir, o grupo malonil da malonil-CoA é transferido para o grupo -SH da ACP pela ação da *malonil-transacilase*.



O grupo malonil da malonil-ACP condensa com o grupo acetil ligado à enzima *3-cetoacil-ACP-sintase* (por meio da Cys) para formar acetoacetyl-ACP em reação irreversível.



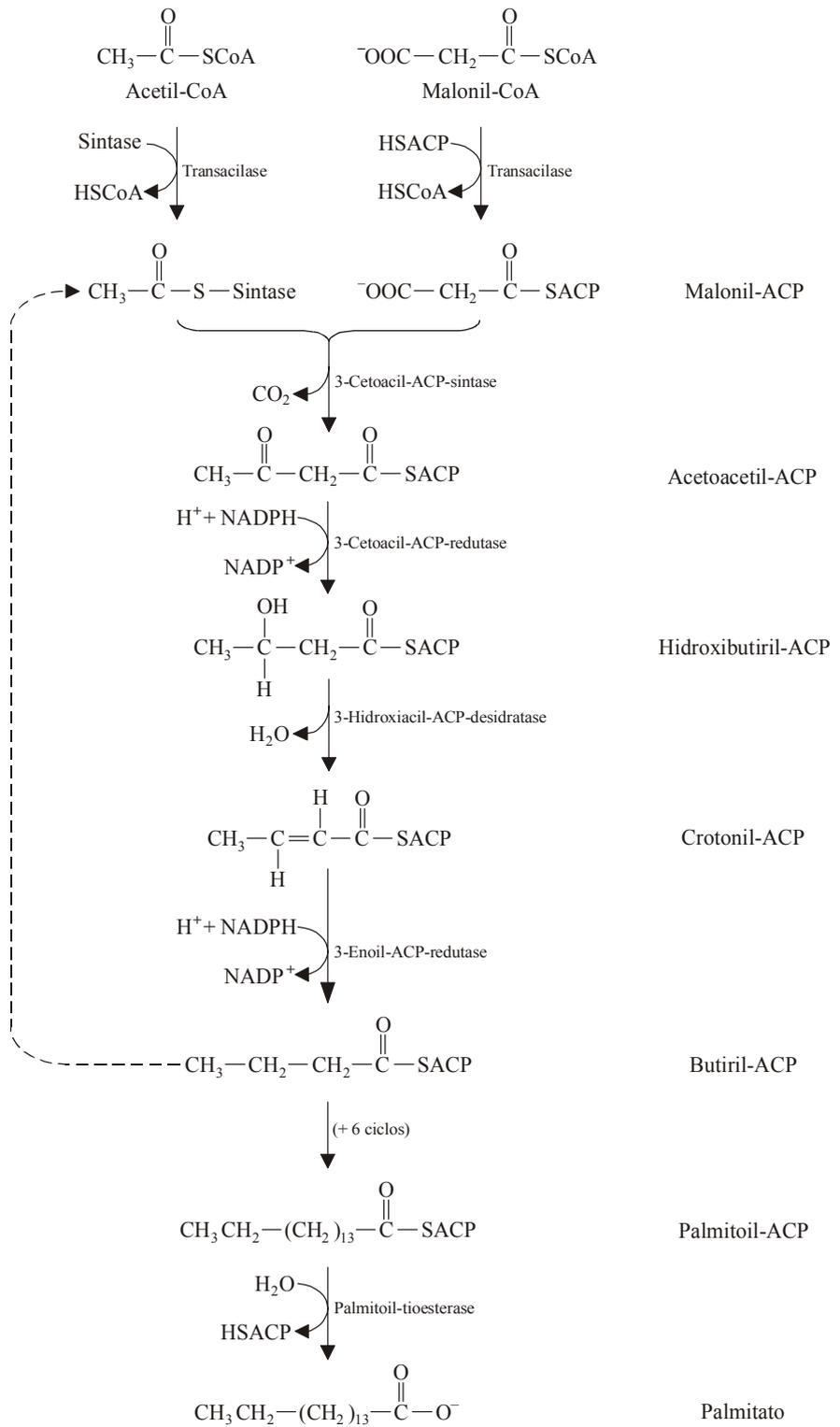
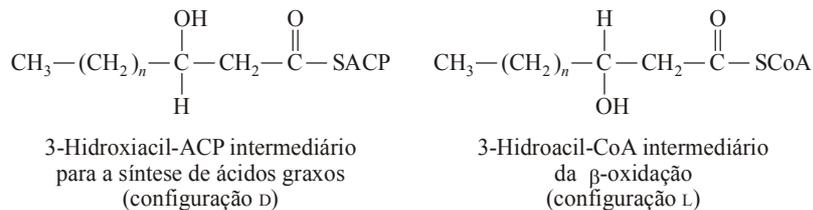


Figura 10.8
Operação do complexo ácido graxo sintase. Biossíntese de butiril-ACP a partir de acetil-ACP e malonil-ACP.

No processo, o grupo carboxílico livre de malonil é liberado como CO_2 . Desta forma, o dióxido de carbono adicionado durante a síntese da malonil-CoA não é incorporado à cadeia carbonada do ácido graxo.

2. Redução do grupo carbonila. A fase seguinte envolve a redução do grupo carbonila em C3 da acetoacetil-ACP pelo NADPH e em presença da *3-cetoacil-ACP-reductase*, com a formação de D-β-hidroxiacetil-ACP. O intermediário 3-hidroxi envolvido na biossíntese apresenta configuração D, em lugar da configuração L, encontrada na β-oxidação.

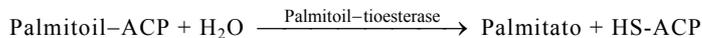


3. Desidratação. A D-3-hidroxiacetil-ACP é convertida a crotonil-ACP por desidratação pela ação da *3-hidroxiacil-ACP-desidratase*. O produto tem configuração *trans* na ligação dupla.

4. Redução da dupla ligação. A enzima *3-enoil-ACP-reductase* catalisa a redução da dupla ligação da crotonil-ACP pelo NADPH para fornecer butiril-ACP.

Com a produção de butiril-ACP está completo o primeiro dos sete ciclos para a formação de palmitoil-ACP. Para formar o palmitato o ciclo é repetido mais seis vezes. O ciclo seguinte é iniciado pela transferência do grupo butiril do ACP para o grupo -SH da 3-acetoacil-ACP-sintase (originalmente ocupado pelo grupo acetil), permitindo à ACP receber o malonil de outra molécula de malonil-CoA.

São necessários sete ciclos completos para produzir palmitoil-ACP posteriormente transformado em palmitato e HS-ACP pela ação da *palmitoil-tioesterase*.

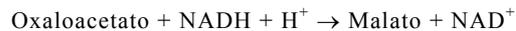


A estequiometria global para a síntese do palmitato a partir do acetil-CoA é:

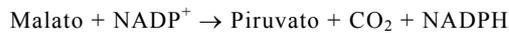


A biossíntese do palmitato requer, portanto, acetil-CoA, ATP e NADPH. Os NADPH nos adipócitos e hepatócitos são provenientes principalmente da via das pentoses-fosfato (*ver* Capítulo 6: Metabolismo dos carboidratos) e, em menor grau, pela *enzima málica*.

A formação de NADPH pela enzima málica ocorre em duas etapas: inicialmente o oxaloacetato é reduzido a malato pelo NADH em reação catalisada pela *malato-desidrogenase*:



A enzima *málica* catalisa a descarboxilação oxidativa do malato com a produção de NADPH:



O piruvato citosólico entra na mitocôndria e é convertido a oxaloacetato pela piruvato-carboxilase ou em acetil-CoA pela piruvato-desidrogenase.

Para a síntese do palmitato, oito NADPH são gerados pela transferência de oito oxaloacetatos de volta à mitocôndria (pois foram oito acetil-CoA transferidos no caminho inverso).

D. Alongamento e dessaturação dos ácidos graxos

O alongamento e a dessaturação (formação de duplas ligações) dos ácidos graxos biossintetizados ou obtidos da dieta é realizado fundamentalmente por enzimas do sistema reticuloendotelial. (O processo ocorre somente quando a dieta não contém a quantidade apropriada de ácidos graxos). A alongamento e dessaturação são especialmente importantes na regulação da fluidez das membranas e para a síntese de vários precursores derivados dos ácidos graxos, como os eicosanóides. Por exemplo, a mielinização (um processo no qual a bainha da mielina é formada ao redor de certos nervos) depende especialmente das reações de síntese de ácidos graxos no sistema retículo endoplasmático. Ácidos graxos saturados e insaturados de cadeia muito longa são constituintes importantes dos cerebrosídeos e sulfatídeos encontrados na mielina. Aparentemente as células regulam a fluidez das membranas ajustando os tipos de ácidos graxos que são incorporados na membrana biológica. Por exemplo, em climas frios, mais ácidos graxos insaturados são incorporados (os ácidos graxos insaturados têm pontos de congelamento mais baixos que os saturados). Se a dieta não supre a quantidade suficiente dessas moléculas, as vias de síntese dos ácidos graxos são ativadas.

O palmitato (ácido graxo saturado de C₁₆) formado nas reações catalisadas pelo complexo ácido graxo sintase, é o precursor de outros ácidos graxos de cadeia longa saturados e insaturados. Dois mecanismos diferentes estão disponíveis para o alongamento: um na mitocôndria e outro no retículo endoplasmático liso. Nos dois sistemas a palmitoil-ACP é convertida a palmitoil-CoA.

Na mitocôndria, o alongamento ocorre pela adição e pela redução sucessivas de unidades acetil em um processo inverso à oxidação de ácidos graxos. O alongamento do acil-CoA no retículo endoplasmático envolve condensações sucessivas de acetil doados pela malonil-CoA. A síntese no retículo endoplasmático fornece ácidos graxos de cadeia longa (C18 a C24) necessários para o desenvolvimento do sistema nervoso central na mielinização das células nervosas.

Os mamíferos superiores são capazes de introduzir duplas ligações na configuração *cis* nos ácidos graxos saturados em presença de NADH e O₂ catalisadas por *acil-CoA graxo-dessaturase* (oxidase de função mista). As reações ocorrem no retículo endoplasmático hepático e necessitam *citocromo b₅*, *NADH-citocromo-b₅-redutase* (uma flavoproteína) e uma *dessaturase*, firmemente ligados à membrana. Tanto o NADH como o ácido graxo são oxidados e dois

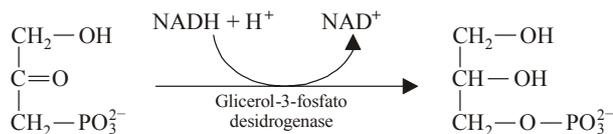
pares de elétrons são transferidos para o O_2 com a formação de H_2O . Essas reações são parte da denominada cadeia microssomial de elétrons.

As dessaturações mais freqüentes utilizam acil-CoA saturadas como substratos com a introdução de dupla ligação no C9 a partir do terminal carboxílico. A *estearoil-CoA-dessaturase* catalisa a transformação do estearil-CoA em oleil-CoA. Por mecanismo semelhante, a palmitoleil-CoA é produzida a partir da palmitoil-CoA. A atividade desta enzima e sua síntese são controladas tanto pela dieta como por mecanismos hormonais.

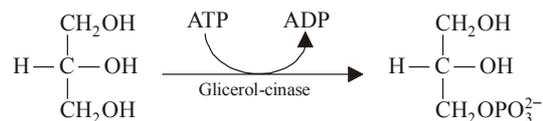
F. Síntese de triacilgliceróis

Os triacilgliceróis são sintetizados pela adição de acil-CoA graxo (biossintetizados ou supridos pela dieta) ao glicerol-3-fosfato ou à diidroxiacetona-fosfato. A síntese ocorre principalmente no fígado, intestino e tecido adiposo. O glicerol-3-fosfato é formado por duas vias: (1) a partir da diidroxiacetona-fosfato gerada na glicólise (ver Capítulo 6: Metabolismo dos carboidratos) ou (2) formado a partir do glicerol pela ação da glicerol-cinase.

A diidroxiacetona-fosfato é transformada em glicerol-3-fosfato em reação catalisada pela *glicerol-3-fosfato-desidrogenase*:

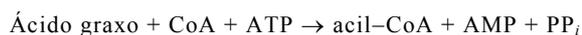


No fígado, rim e intestino delgado ocorre a fosforilação do glicerol livre em presença de *glicerol-cinase*:



Os adipócitos são desprovidos de glicerol-cinase e obtém o glicerol-3-fosfato exclusivamente pela reação da glicerol-3-fosfato-desidrogenase. O glicerol livre obtido na hidrólise dos triacilgliceróis nos adipócitos não é utilizado no próprio tecido e sim, é levado ao fígado onde é transformado em glicerol-3-fosfato pela glicerol-cinase.

Os acil-CoA empregados na síntese dos triacilgliceróis são provenientes de ácidos graxos livres ativados pela ação das *acil-CoA-sintetases* (ver seção 10.4A):



O fosfatidato e o 1,2-diacilglicerol são precursores de triacilgliceróis e de glicerofosfolipídeos.

Na etapa final da biossíntese de triacilgliceróis ocorre a acilação da posição sn-3 do 1,2-diacilglicerol por meio da *diacilglicerol-aciltransferase*.

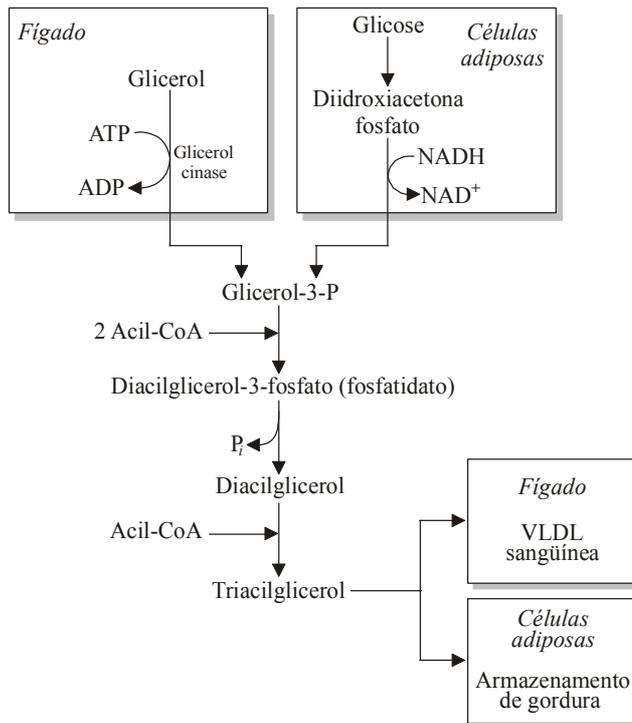


Figura 10.9

Visão geral da biossíntese dos triacilgliceróis. O glicerol-3-fosfato é proveniente do glicerol no fígado e da diidroxiacetona-fosfato no tecido adiposo.

G. Regulação do metabolismo dos ácidos graxos

Mecanismos de curta e longa duração estão envolvidos na regulação do metabolismo dos ácidos graxos. Na regulação de curta duração (medida em minutos) a atividade de muitas enzimas-chave são modificadas por hormônios. Por exemplo, o glucagon e a adrenalina (liberados quando as reservas energéticas estão baixas ou quando há um aumento de consumo) estimulam a fosforilação de várias enzimas. A fosforilação da lipase hormônio-sensível presente nos adipócitos, ativa a hidrólise de triacilglicerol. (A liberação de noradrenalina dos neurônios no sistema nervoso simpático e do hormônio do crescimento da hipófise também ativa a lipase hormônio-sensível). Subseqüentemente, os ácidos graxos são liberados para o sangue. Os hormônios também regulam a utilização dos ácidos graxos pelos tecidos. Por exemplo, a acetil-CoA-carboxilase é inibida pelo glucagon. Em baixas concentrações de malonil-CoA, a síntese de ácidos graxos é reduzida. Como a malonil-CoA inibe a atividade da carnitina-acil-transferase

I, os ácidos graxos podem ser transportados para a mitocôndria, onde são degradados para gerar energia.

O efeito da insulina sobre o metabolismo dos ácidos graxos é oposta aos dos hormônios glucagon e adrenalina. A secreção de insulina em resposta a elevados níveis de glicose sanguínea estimula a lipogênese. A insulina induz a síntese de ácidos graxos pela fosforilação da acetil-CoA-carboxilase por um processo independente do mecanismo da proteína-cinase dependente de AMPc. A lipólise simultânea é evitada pela insulina por inibição da ativação da proteína-cinase mediada por AMPc. O processo provoca a desfosforilação (portanto, a inativação) da lipase hormônio-sensível.

10.6 Metabolismo de lipídeos de membrana

Os lipídeos de membranas celulares são compostos principalmente por fosfolipídeos e esfingolipídeos.

A. Metabolismo dos fosfolipídeos

A biossíntese de fosfolipídeos ocorre primariamente na superfície do retículo endoplasmático liso, apesar de algumas enzimas também estarem presentes no complexo de Golgi. Como cada enzima é uma proteína associada à membrana com seu sítio ativo voltado para o citosol, a biossíntese dos fosfolipídeos ocorre na interface da membrana do retículo plasmático e o citosol. A composição de ácidos graxos dos fosfolipídeos altera discretamente após a sua síntese. (Tipicamente, os ácidos graxos insaturados substituem os ácidos graxos saturados originais incorporados durante a síntese). Parte do remodelamento é executada por certas fosfolipases e acil-transferases. Provavelmente, o processo permite a célula ajustar a fluidez de suas membranas.

As sínteses da *fosfatidiletanolamina* e *fosfatidilcolina* são similares. A síntese da fosfatidiletanolamina inicia no citoplasma quando a etanolamina entra na célula e é então imediatamente fosforilada. Subseqüentemente, a fosfoetanolamina reage com a CTP (trifosfato de citidina) para formar o intermediário ativado CDP-etanolamina. Vários nucleotídeos servem como carreadores de alta energia para moléculas específicas. Os derivados CDP têm importante papel na transferência de grupos cabeça polar na síntese de fosfoglicerídeo. A CDP-etanolamina é convertida a fosfatidiletanolamina quando reage com o diacilglicerol (DAG). A reação é catalisada por uma enzima no retículo endoplasmático.

A biossíntese da fosfatidilcolina é similar aquela da fosfatidiletanolamina. A colina necessária nessa via é obtida da dieta. Entretanto, a fosfatidilcolina é também sintetizada no fígado a partir da fosfatidiletanolamina. A fosfatidiletanolamina é metilada em três etapas pela enzima fosfatidiletanolamina-*N*-metiltransferase para formar o produto trimetilado, a fosfatidilcolina. O doador de metila é a *S*-Adenosilmetionina (SAM) (ver Seção 11.8.A).

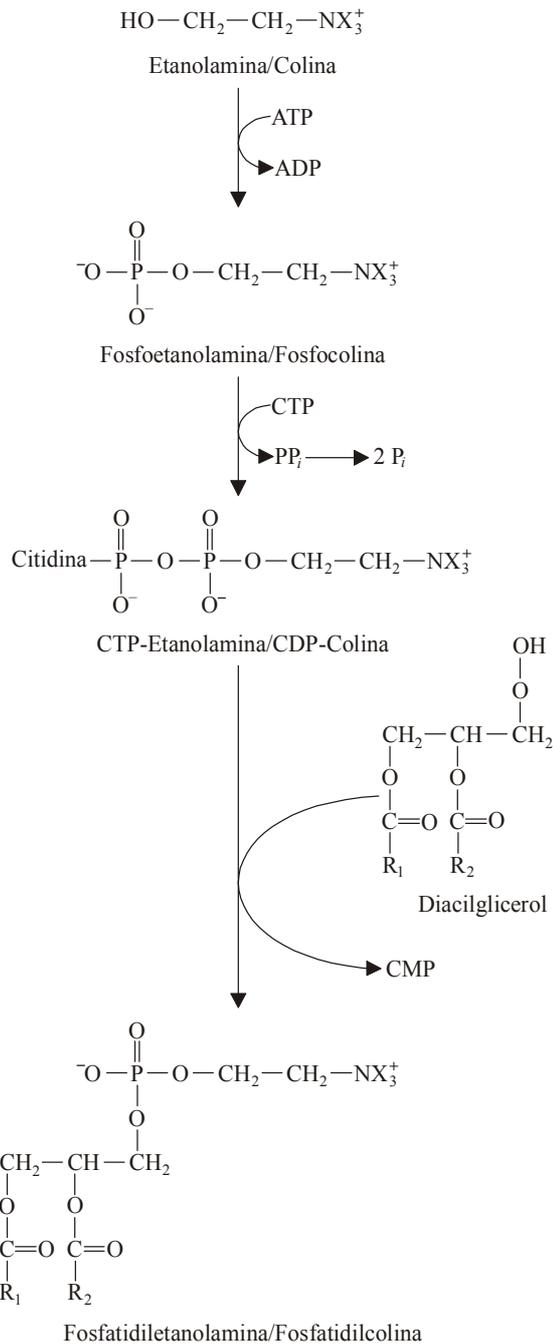


Figura 10.10
Síntese da fosfatidiletanolamina e fosfatidilserina. O X é H na etanolamina e CH₃ na colina.

A *fosfatidilserina* é gerada em reação na qual a etanolamina da fosfatidiletanolamina é substituída pela serina. A reação, catalisada por uma enzima do retículo endoplasmático, é reversível. Na mitocôndria, a fosfatidilserina pode ser convertida em fosfatidiletanolamina por descarboxilação.

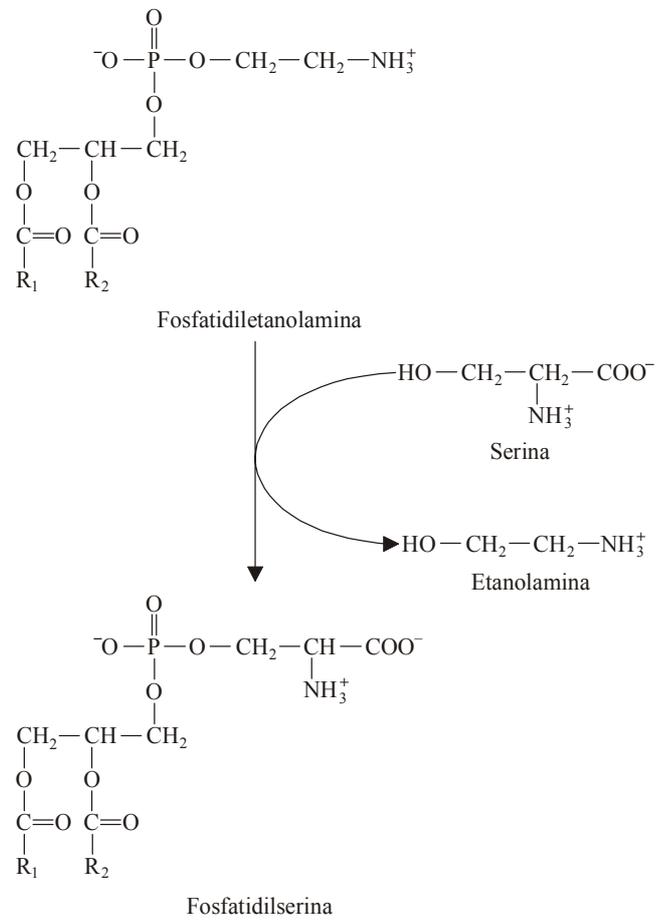


Figura 10.11
Síntese da fosfatidilserina

O fosfatidilinositol é sintetizado pela condensação de CDP-diacilglicerol com o inositol.

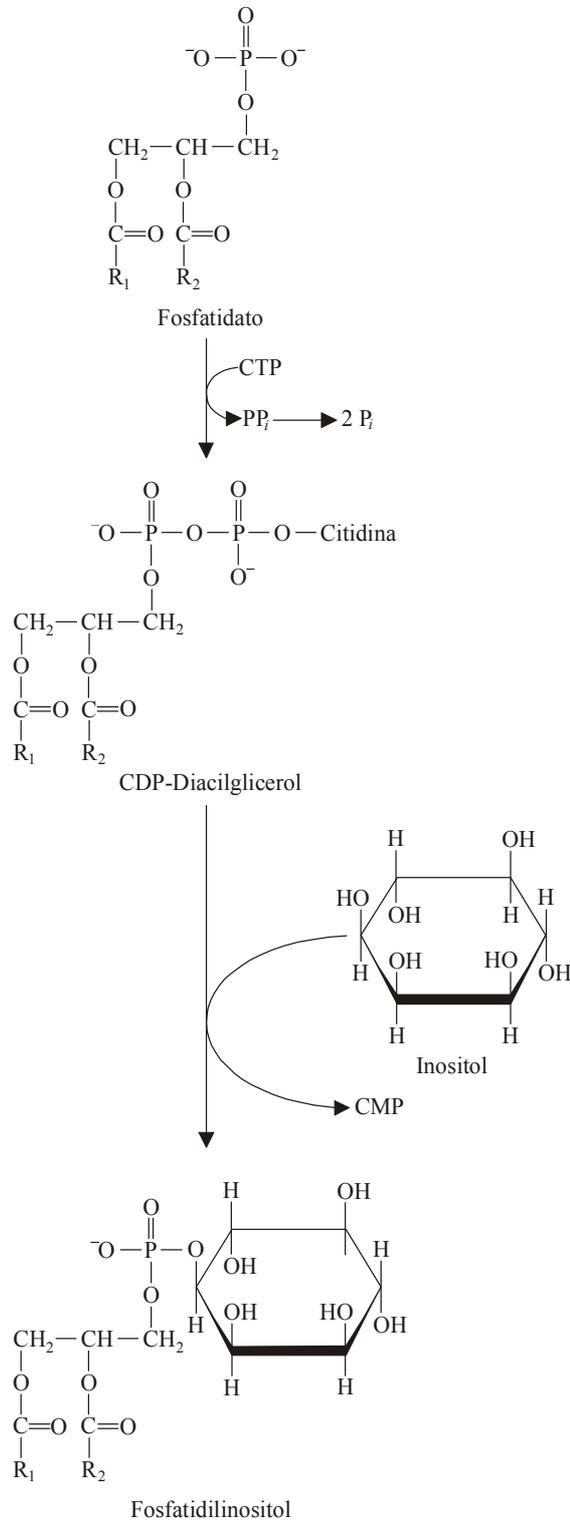


Figura 10.12
Síntese do fosfatidilinositol

O *turnover* dos fosfolipídeos é rápido. Por exemplo, em células animais, cerca de duas divisões celulares são necessárias para a

substituição de metade do número total de moléculas de fosfolípidos. Os fosfoglicerídeos são degradados pelas fosfolipases. As fosfolipases catalisam o rompimento de ligações específicas em moléculas de fosfoglicerídeos e são denominadas de acordo com a ligação clivada. As fosfolipases A_1 e A_2 , que hidrolizam as ligações éster dos fosfoglicerídeos em C1 e C2, respectivamente, contribuem para a remodelação fosfolipídica descrita.

B. Metabolismo dos esfingolípídeos

Os esfingolípídeos em animais possuem ceramida, um derivado do amino-álcool esfingosina. A síntese da ceramina inicia com a condensação de palmitoil-CoA com a serina para formar 3-cetoesfinganina. A reação é catalisada pela 3-cetoesfinganina-sintase, uma enzima piridoxal-5'-fosfato-dependente. A 3-cetoesfinganina é subsequente reduzida pelo NADPH para formar esfinganina. Em processo de duas etapas envolvendo a acil-CoA e FADH₂, a esfinganina é convertida a ceramida. A esfingomielina é formada quando a ceramida reage com a fosfatidilcolina. (Em reação alternativa, a CDP-colina é usada em lugar da fosfatidilcolina). Quando a ceramida reage com a UDP-glicose, a glicosilceramida (um cerebrosídeo comum, às vezes denominado como glicosilcerebrosídeo) é produzida. O galactocerebrosídeo, um precursor de outros glicolípídeos, é sintetizado pela reação da ceramida com a UDP-galactose. Os sulfatídeos são sintetizados quando os galactocerebrosídeos reagem com a molécula doadora de sulfato a 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato (PAPS). A transferência de grupos sulfato é catalisada por uma sulfotransferase microsomal. Os esfingolípídeos são degradados nos lisossomos. As doenças chamadas esfingolípídeos, são provocadas pela falta ou defeito das enzimas necessárias para a degradação dessas moléculas.

10.7 Metabolismo dos isoprenóides

Os isoprenóides ocorrem em todas as células eucarióticas. Apesar da grande diversidade das moléculas isoprenóides, os mecanismos pelas quais diferentes espécies são sintetizadas são similares. De fato, a fase inicial da síntese isoprenóide (síntese do isopentenil pirofosfato) parece ser idêntica em todas as espécies investigadas.

Pela sua importância na biologia humana, o colesterol recebeu enorme atenção dos pesquisadores. Por essa razão, o metabolismo do colesterol é melhor compreendido que qualquer outra molécula de isoprenóide.

A. Biossíntese do colesterol

O colesterol do organismo é derivado de duas fontes: dieta e síntese *de novo*. Quando a dieta fornece colesterol suficiente, a síntese é inibida. A biossíntese do colesterol é estimulada quando a dieta tem pouco colesterol.

Apesar de quase todos os tecidos poderem produzir colesterol (p. ex., glândulas supra-renais, ovários, testículos, pele e intestino), a

maior parte da síntese ocorre no fígado. A síntese do colesterol pode ser dividida em três etapas:

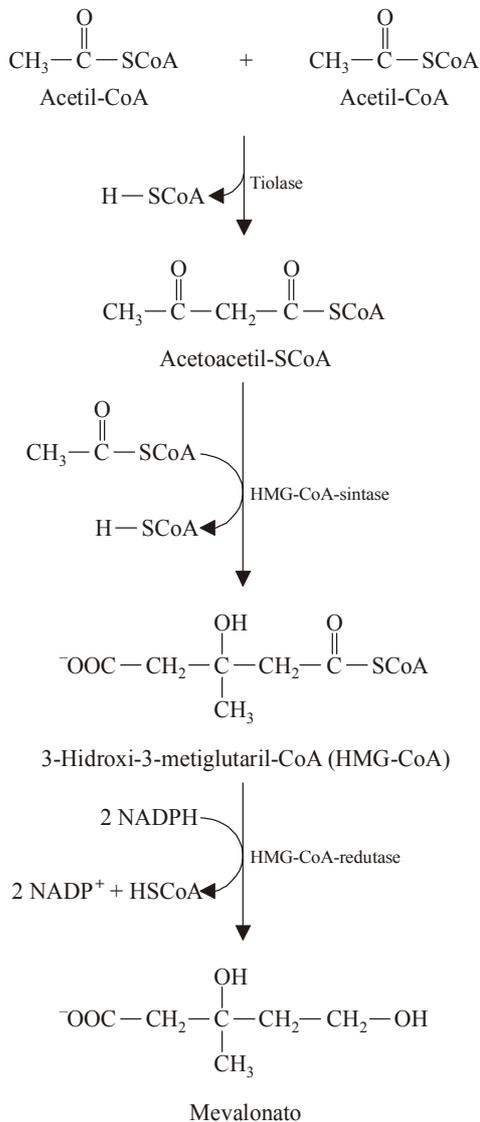
- Síntese de HMG-CoA (β -hidróxi- β -metilglutaril-CoA) a partir de acetil-CoA.
- Conversão do HMG-CoA a esqualeno.
- Conversão do esqualeno em colesterol.

1. Síntese de HMG-CoA a partir do acetato. No citosol duas moléculas de acetil-CoA condensam-se para formar acetoacetil-CoA (também conhecida como β -cetobutiril-CoA) em reação catalisada pela *tiolase*.

Na reação seguinte, o acetoacetil-CoA condensa com uma terceira molécula de acetil-CoA para formar β -hidróxi- β -metilglutaril-CoA (HMG-CoA). A reação é catalisada pela β -hidróxi- β -metilglutaril-CoA-sintase (*HMG-CoA-sintase*). Na mitocôndria, o HMG-CoA é um intermediário para a síntese de corpos cetônicos.

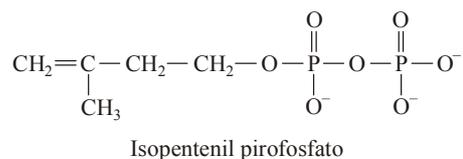
2. Conversão do HMG-CoA a esqualeno. A etapa seguinte da síntese do colesterol inicia com a redução da HMG-CoA para formar mevalonato (um composto de 6C) pela ação da *HMG-CoA-redutase*. O NADPH é o agente redutor.

A HMG-CoA-redutase é a enzima limitante da velocidade de síntese de colesterol. Acúmulo de colesterol na célula proveniente tanto da síntese endógena como da dieta ou degradação, reduz a atividade da HMG-CoA-redutase de dois modos: (a) inibe a atividade da enzima e (b) aumenta a degradação da enzima existente. A atividade e a concentração da HMG-CoA-redutase, localizada na superfície citoplasmática do retículo endoplasmático, é afetada em vários graus pela concentração de produtos intermediários da via (p. ex., mevalonato, farnesil, esqualeno e 7-diidrocolesterol). O mecanismo preciso pelo qual essa importante enzima é regulada, entretanto, permanece obscuro.



Em uma série de reações citoplasmáticas, o mevalonato é convertido a farnesil-pirofosfato. A mevalonato-cinase catalisa a síntese do fosfomevalonato. Uma segunda reação de fosforilação catalisada pela fosfomevalonato-cinase produz 5-pirofosfomevalonato. A fosforilação aumenta significativamente a solubilidade das moléculas hidrocarbônicas no citoplasma.

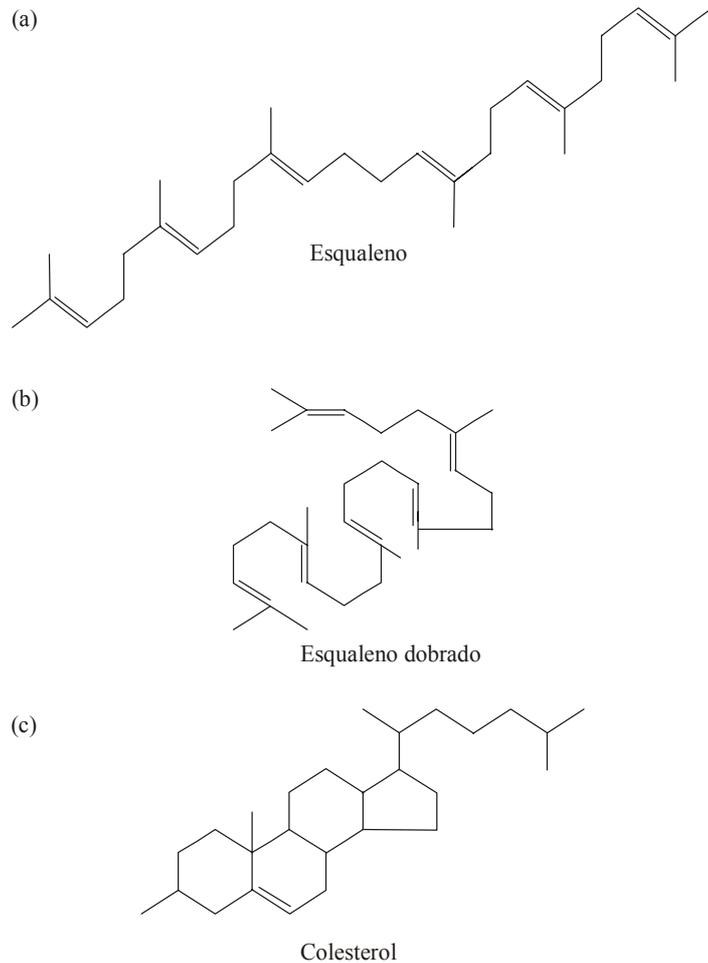
O 5-pirofosfomevalonato é transformado em isopentenil pirofosfato em processo envolvendo descarboxilação e desidratação:



O isopentenil-pirofosfato é convertido a seguir em seu isômero dimetilalil-pirofosfato pela isopentenil-pirofosfato isomerase. (Um grupo $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-$ sobre uma molécula orgânica é muitas vezes chamadas de *grupo alil*).

O geranyl-pirofosfato é produzido durante uma reação de condensação entre isopentenil-pirofosfato e dimetilalil-pirofosfato. O pirofosfato é também um produto da reação e duas reações subsequente. A geranyl-transferase catalisa a reação de condensação entre o geranyl-pirofosfato e isopentenil-pirofosfato que forma farnesil-pirofosfato. O esqualeno é sintetizado quando a farnesil-transferase (uma enzima microsomal) catalisa a condensação de duas moléculas de farnesil-pirofosfato. A farnesil-transferase as vezes chamada de esqualeno-sintase. Essa reação requer NADPH como um doador de elétrons.

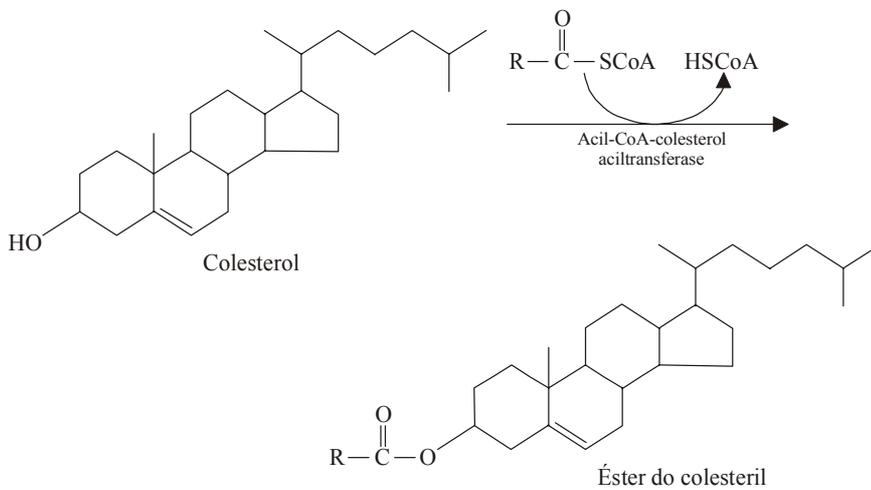
3. Conversão do esqualeno a colesterol. A última fase da via biossintética do colesterol inicia com a ligação do esqualeno a uma proteína transportadora específica chamada proteína transportadora de esterol. A conversão do esqualeno a lanosterol ocorre enquanto os intermediários estão ligados a essa proteína. A *esqualeno-monoxigenase* acrescenta um átomo de oxigênio do O_2 na extremidade da cadeia do esqualeno, produzindo um epóxido e, subsequente, a ciclização (esqualeno-2,3-epóxido-lanosterol-ciclase) que resulta na formação de lanosterol localizada nos microsomas. A esqualeno-monoxigenase requer NADPH e FAD para a sua atividade. Após sua síntese, o lanosterol (que contém os quatro anéis do núcleo esteróide) liga-se a uma segunda proteína transportadora, que permanece ligada durante as reações restantes. As atividades das enzimas que catalisam as restantes 20 reações necessárias para a conversão do lanosterol a colesterol estão embebidas nas membranas microsomiais. Em uma série de transformações envolvendo NADPH e algum oxigênio, o lanosterol é convertido a 7-diidrocolesterol. Esse produto é então reduzido pelo NADPH para formar colesterol.

**Figura 10.13**

Estrutura do esqualeno, um precursor do colesterol. (a) Esqualeno com suas seis unidades isoprênicas, (b) uma molécula de esqualeno dobrado antes da ciclização e (c) colesterol, um derivado do esqualeno com C_{27} .

B. Esterificação do colesterol

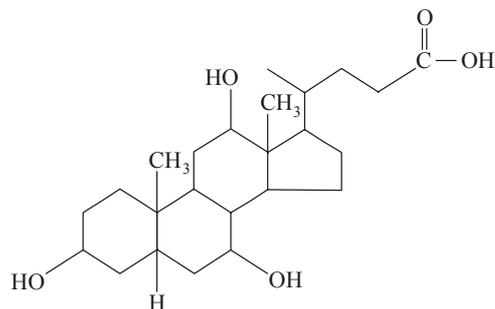
O colesterol livre pode ser esterificado para o armazenamento no fígado ou transportado em partículas VLDL (lipoproteína de densidade muito baixa) para outros tecidos. Em presença de *acil-CoA:colesterol-aciltransferase* (ACAT) o ácido graxo esterifica o grupo 3-OH do colesterol.



C. Transformação do colesterol em ácidos biliares

De modo diferente de outras biomoléculas, o colesterol e outros esteróides não são degradados em moléculas menores. Em lugar disso, o colesterol é convertido em um derivado mais hidrofílico para facilitar sua excreção. O mais importante mecanismo para a degradação e eliminação do colesterol é a síntese dos ácidos biliares.

A conversão do colesterol a 7- α -hidrocolesterol, catalisada pela *colesterol-7-hidroxilase* (uma enzima microsomal que requer oxigênio, NADPH e citocromo P_{450}), é a etapa limitante da velocidade na síntese de sais biliares. Nas últimas reações, a ligação dupla em C5 é rearranjada e reduzida, e um grupo hidroxila adicional é introduzido. Os produtos desse processo, o ácido cólico e ácido desoxicólico, são convertidos a sais biliares por enzimas microsomiais que catalisam reações de conjugação. Nas reações de conjugação a solubilidade de uma molécula é aumentada pela conversão em um derivado que contém um grupo solúvel em água. Amidas e ésteres são exemplos comuns desses derivados conjugados. A quase totalidade dos ácidos biliares estão conjugados com a glicina ou taurina para formar ácido glicocólico ou ácido taurocólico, respectivamente.



Colato

Os sais biliares são importantes componentes da *bile*, um líquido amarelo-esverdeado produzido pelos hepatócitos que auxiliam na digestão dos lipídeos. Além dos sais biliares, a bile contém colesterol, fosfolipídeos e pigmentos biliares (bilirrubina e biliverdina). Os pigmentos biliares são produtos de degradação do heme. Após sua secreção para as vias biliares e armazenados na vesícula, a bile é usada no intestino delgado para aumentar a absorção das gorduras da dieta. A bile atua como agente emulsificante que promove a quebra de grandes gotas de gordura em porções menores. Os sais biliares também estão envolvidos na formação de micelas biliares, que ajudam na absorção de gorduras e das vitaminas lipídeo-solúveis (A, D, E, K). A maior parte dos sais biliares é reabsorvida no íleo distal (perto do final do intestino delgado). Eles entram no sangue e retornam ao fígado, onde são re-secretados para os dutos biliares com outros componentes biliares. O significado biológico das reações de conjugação dos ácidos biliares parece ser que o processo de conjugação previne a prematura absorção dos ácidos biliares no trato biliar (dutos biliares e vesícula) e intestino delgado. A reabsorção de sais biliares no íleo distal do intestino delgado é aparentemente desencadeado pelo sinal da glicina ou taurina. Estima-se que as moléculas de sais biliares são recicladas 18 vezes antes de serem finalmente eliminadas.

D. Síntese de hormônios esteróides

Todos os hormônios esteróides são derivados do colesterol. A reação inicial na síntese de hormônios esteróides é a conversão do colesterol em *pregnenolona*, pela *desmolase*, uma enzima mitocondrial complexa composta de duas hidroxilases, uma das quais a enzima citocromo P₄₅₀. Após a síntese, a pregnenolona é transportada ao retículo endoplasmático, onde é convertida a progesterona. A pregnenolona e progesterona são precursores de todos os hormônios esteróides. Além do papel de precursor, a progesterona também atua como hormônio. O seu papel primário como hormônio é a regulação de várias modificações fisiológicas no útero. Durante o ciclo menstrual, a progesterona é produzida por células especializadas no interior do ovário. Durante a gravidez é produzida em grandes quantidades pela placenta para previr as contrações do músculo uterino liso.

As quantidades e os tipos de esteróides sintetizados em um tecido específico são cuidadosamente regulados. As células respondem a sinais químicos que influenciam o metabolismo dos esteróides por

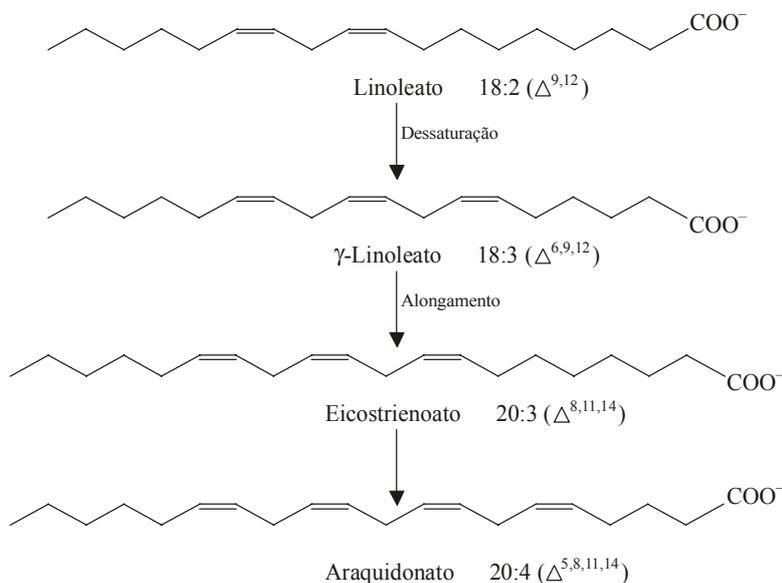
indução da síntese de enzimas específicas. Os mais importantes sinais químicos são os hormônios peptídicos secretados pela hipófise e várias prostaglandinas. Por exemplo, o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) é um hormônio peptídeo secretado pela hipófise que estimula a síntese dos esteróides adrenais. Uma das conseqüências da ligação do ACTH aos receptores da adrenal é o aumento da síntese do 17- α -hidroxilase e 11- β -hidroxilase. Em contraste, a prostaglandina F₂ α inibe a indução da síntese de progesterona nos ovários. Esse último processo é estimulado pelo hormônio luteinizante (LH), uma proteína também produzida pela hipófise.

O processo enzimático no qual o colesterol é convertido a esteróides biologicamente ativos, também como o modo pelos quais os esteróides são inativados e preparados para a excreção, compreende um elaborado mecanismo conhecido como biotransformação. Durante a biotransformação as mesmas (em alguns casos similares) enzimas são também usadas para solubilizar o xenobiótico hidrofóbico para torná-los mais facilmente excretados. A biotransformação do colesterol em ácidos biliares é descrito a seguir.

10.8 Eicosanóides

Os eicosanóides são substâncias fisiologicamente ativas que atuam como potentes biosinalizadores produzidos na maioria dos tecidos dos mamíferos. Mediam uma grande variedade de processos fisiológicos, tais como, a contração de músculos lisos, inflamação, percepção da dor e a regulação do fluxo sanguíneo. Os eicosanóides também estão relacionados com várias doenças como o infarto do miocárdio e artrite reumatóide. Como agem nos tecidos próximos das células que os produzem, os eicosanóides são chamados reguladores *autócrinos* e não de hormônios que são transportados pela corrente sanguínea até os sítios de ação.

A maioria dos eicosanóides são derivados do ácido araquidônico (20:4 ^{$\Delta^{5,8,11,14}$}), sintetizado a partir do linoleato pela adição de uma unidade de três carbonos seguida pela descarboxilação e dessaturação.

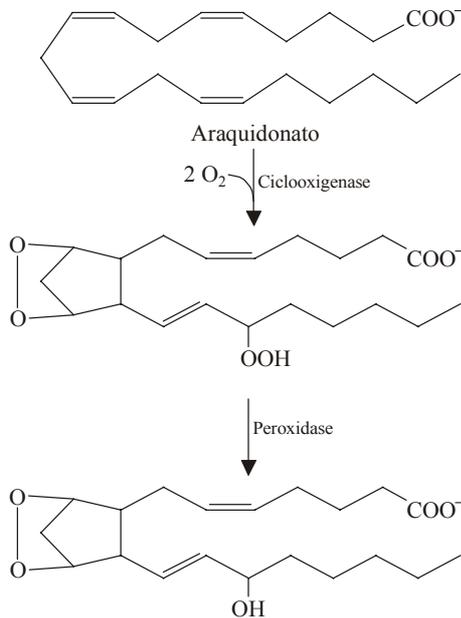


Quase todo ácido araquidônico é armazenado nas membranas celulares como ésteres no C2 do glicerol nos fosfoglicerídeos. A produção de eicosanóides inicia após a liberação do ácido araquidônico a partir de moléculas de fosfolipídeos das membranas pela ação da enzima fosfolipase A₂ ativada por estímulo hormonal e outros. Os eicosanóides, que incluem as prostaglandinas, os tromboxanos e os leucotrienos, são ativos por curtos períodos (muitas vezes medidos em segundos ou minutos) e produzidos em pequenas quantidades.

A. Prostaglandinas

São derivados do ácido araquidônico que contém um anel de ciclopentano com grupos hidróxi em C11 e C15. As moléculas que pertencem a série E das prostaglandinas tem um grupo carbonila em C9, enquanto as moléculas da série F tem um grupo OH na mesma posição. O número subscrito no nome das prostaglandinas indica o número de ligações duplas na molécula. A série 2, derivada do ácido araquidônico, parece ser o grupo mais importante de prostaglandinas em humanos.

No retículo endoplasmático liso, as enzimas *cicloxygenase* (COX) e *peroxidase* catalisam a transformação do araquidonato em PGH₂, o precursor de muitas prostaglandinas e tromboxanos. O PGH₂ sofre modificações adicionais, dependendo do tecido.



As prostaglandinas estão envolvidas em uma grande variedade de funções de controle. Por exemplo, as prostaglandinas promovem a inflamação e processos que produzem dor e febre. Atuam nos processos reprodutivos (exemplo, ovulação e contrações uterinas) e digestão (exemplo, inibição da secreção gástrica). Ações biológicas adicionais de algumas prostaglandinas são mostradas na Figura 10.15.

O bloqueio da produção de prostaglandinas pela inibição das enzimas de síntese implica no alívio da dor e da inflamação mediadas pelas prostaglandinas. Por exemplo, os glicocorticóides exercem importantes ações antiinflamatórias por suprimir a resposta imune por meio da inibição da expressão de ciclooxigenase. Existem duas formas de ciclooxigenase: *COX1* e *COX2*. A enzima *COX2* pode ser induzida em células inflamatórias. A supressão da síntese de *COX2* por glicocorticóides exerce importantes efeitos antiinflamatórios. Vários outros inibidores são utilizados como antiinflamatórios tais como, a aspirina, ibuprofeno (antiinflamatório não esteróide), paracetamol (Tylenol[®]), Celebrex[®] e Vioxx[®].

B Tromboxanos.

São também derivados do ácido araquidônico. Diferem de outros eicosanóides por possuir um anel cíclico éter. O tromboxano A_2 (TXA_2), o mais proeminente membro do grupo dos eicosanóides, é principalmente produzido pelas plaquetas (fragmentos celulares que iniciam o processo de coagulação sanguínea). Uma vez liberado, o TXA_2 promove a agregação plaquetária e a vasoconstrição. A ingestão regular de pequenas doses de aspirina reduzem a probabilidade de infartos do miocárdio e acidentes vasculares cerebrais pela inibição da síntese de tromboxana.

C. Leucotrienos

São derivados lineares do ácido araquidônico cuja síntese é iniciada por uma reação de peroxidação. Os vários leucotrienos diferem na posição do peróxido e na natureza do grupo tioéter atacado perto do local da peroxidação. O nome leucotrienos lembra que eles foram descobertos nos leucócitos (glóbulos brancos) e possuem um trieno (três duplas ligações conjugadas) em suas estruturas. (O termo conjugado indica que as duplas ligações carbono-carbono são separadas por uma ligação carbono-carbono simples). Atuam como mediadores da inflamação e nas reações alérgicas. Os leucotrienos LTC_4 , LTD_4 e LTE_4 foram identificados como componentes da SRS-A (substância de reação lenta da anafilaxia). (O subscrito no nome do leucotrieno indica o número total de ligações duplas). *Anafilaxia* é o tipo imediato e transitório de reação imunológica (alérgica), caracterizada pela contração dos músculos lisos e dilatação dos capilares em decorrência da liberação de substâncias farmacologicamente ativas (histamina, bradicinina, serotonina e substância de reação lenta). Durante a inflamação (uma resposta normal à lesão tecidual) essas moléculas aumentam a perda de líquidos dos vasos sanguíneos das áreas afetadas. O LTB_4 , um potente agente quimiotático, atrai leucócitos (infection-fighting). (agentes quimiotático são também chamados como quimioatrativos). Outros efeitos dos leucotrienos incluem a vasoconstrição e a broncoconstrição (ambos causados pela contração do músculo liso nos vasos sanguíneos e das passagens de ar nos pulmões) e edema (aumento da permeabilidade capilar que causa a perda de líquidos dos vasos sanguíneos).

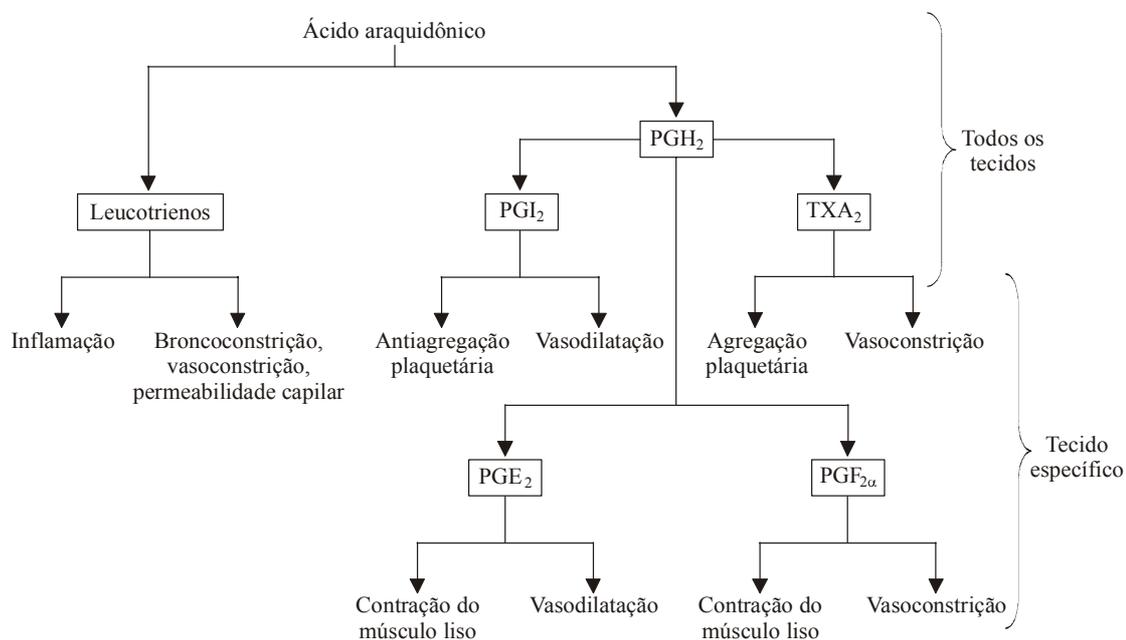


Figura 10.15
Ações biológicas de algumas moléculas de eicosanóides

Resumo

1. A acetil-CoA exerce papel central na maioria dos processos metabólicos relacionados aos lipídeos. Por exemplo, a acetil-CoA é usada na síntese dos ácidos graxos. Quando os ácidos graxos são degradados para gerar energia, o produto é a acetil-CoA.
2. Dependendo das necessidades energéticas, as novas moléculas de gordura são empregadas para a geração de energia ou são armazenadas nos adipócitos. Quando as reservas de energia do organismo estão baixas, as gorduras armazenadas são mobilizadas em processo denominado lipólise. Na lipólise, os triacilgliceróis são hidrolizados em ácidos graxos e glicerol. O glicerol é transportado para o fígado, onde pode ser usado na síntese de lipídeos ou glicose. A maior parte dos ácidos graxos são degradados para formar acetil-CoA na mitocôndria em processo denominado β -oxidação. A β -oxidação nos peroxissomos encurtam os ácidos graxos muito longos. Outras reações degradam ácidos graxos de cadeia ímpar e insaturados. Quando o produto de degradação dos ácidos graxos (acetil-CoA) está presente em excesso, são produzidos corpos cetônicos.
3. A síntese dos ácidos graxos inicia com a carboxilação da acetil-CoA para formar malonil-CoA. As demais reações da síntese dos ácidos graxos são realizadas pelo complexo ácido graxos sintase. Várias enzimas estão disponíveis para o alongamento e o processo de dessaturação dos ácidos graxos da dieta e sintetizados.
4. Após a síntese dos fosfolipídeos na interface do sistema retículo endotelial e citoplasma, eles são muitas vezes “remodelados”, ou seja, a composição de seus ácidos graxos é ajustada. O *turnover* (degradação e reposição) dos fosfolipídeos, mediado por fosfolipases, é rápido.
5. A síntese do componente ceramida dos esfingolipídeos inicia com a condensação do palmitoil-CoA com a serina para formar 3-cetoesfingamina. Em processo de duas etapas envolvendo a acil-CoA e FADH₂, esfinganina (formada quando a 3-cetoesfingamina é reduzida pelo NADPH) é convertida a ceramida. Os esfingolipídeos são degradados nos lisossomos.
6. As proteínas translocadoras de fosfolipídeos, as proteínas de troca de proteínas e as vesículas de transição estão envolvidas em um complicado processo de síntese de membrana e entrega de componentes da membrana para seus destinos celulares.
7. A síntese de colesterol pode ser dividida em três etapas: formação de HMG-CoA a partir de acetil-CoA, conversão de HMG-CoA a esqualeno e transformação do esqualeno a colesterol. O colesterol é o precursor de todos os hormônios esteróides e de sais biliares. Os sais biliares são usados para emulsificar a gordura da dieta.
8. A primeira etapa na síntese dos eicosanóides é a liberação do ácido araquidônico do C2 do glicerol das moléculas de fosfoglicerídeos da membrana. A ciclooxigenase converte o ácido araquidônico em PGG₂, que é um precursor das prostaglandinas e tromboxanos. A lipoxigenase converte o ácido araquidônico em precursores dos leucotrienos.

Referências

HORTON, H. R., MORAN, L. A., OCHS, R. S., RAWN, J. D., SCRIMGEOUR, K. G. **Principles of biochemistry**. 3 ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2002. p. 264-303.

McKEE, T., McKEE, J.R. **Biochemistry**: The molecular basis of life. 3 ed. New York: McGraw-Hill, 2003. p. 373-416.

NELSON, D. L., COX, M. M. **Lehninger**: Princípios de bioquímica. 3 ed. São Paulo: Sarvier, 2002. p. 599-638.

VOET, D., VOET, J.G., PRATT, C.W. **Fundamentos de bioquímica**. Porto Alegre: Artmed, 2000. p. 562-610.