

Capítulo 1

Bioquímica

Emanuele Amorim Alves

Elisângela de Souza Santos

Mônica Mendes Caminha Murito

Virgínia de Lourdes Finete

Liliane Rosa Alves

1.1 Introdução às biomoléculas

A bioquímica é a ciência que congrega o estudo da química e da biologia. Seu principal objetivo é o estudo das interações que ocorrem nos seres vivos no nível molecular, mediante a descrição dos seus processos químicos e biológicos. Apesar de os seres vivos serem muito diferentes macroscopicamente, existe muita semelhança molecular entre eles. Por exemplo, acompanhando as homologias proteicas, a transmissão da informação genética pelo DNA ocorre da mesma forma, assim como as reações que produzem ou utilizam energia.

As principais **biomoléculas** encontradas nos tecidos e nas células humanas são os **ácidos nucleicos**, as **proteínas**, os **carboidratos** e os **lipídios**. A maioria das biomoléculas é derivada de hidrocarbonetos, pois a química do organismo vivo está organizada ao redor do elemento carbono, que representa mais

da metade do peso seco das células. Os ácidos nucleicos são os responsáveis pela transmissão da informação genética. As proteínas participam da estrutura das células e, entre outras funções, catalisam reações químicas. Os carboidratos, assim como os lipídios, são importantes fontes de energia para as células. Os lipídios possuem também papel estrutural fundamental, como principal componente das membranas celulares. Além das biomoléculas, também estão presentes nas células **substâncias inorgânicas**, essenciais para o seu perfeito funcionamento. São elas a água, os sais minerais, o oxigênio e o gás carbônico.

Os avanços no campo da bioquímica foram possíveis pelo isolamento das biomoléculas, com a determinação de suas estruturas e a análise de suas funções e do seu metabolismo. O estudo da estrutura das biomoléculas é realizado utilizando-se diferentes métodos, como a espectrometria de massa, a ressonância nuclear magnética, a espectroscopia ultravioleta e visível e a cristalografia por difração de raios X.

Quadro 1.1. Métodos de análise de biomoléculas.

Métodos para separação e purificação de biomoléculas	Métodos para determinação da estrutura das biomoléculas
Fracionamento	Análise elementar
<ul style="list-style-type: none"> • cromatografia: papel, troca iônica, afinidade, camada fina, gel filtração, gás líquida e líquida de alta pressão 	<ul style="list-style-type: none"> • espectroscopia em ultravioleta e no visível • infravermelho • ressonância nuclear magnética • espectrometria de massas
<ul style="list-style-type: none"> • centrifugação diferencial 	<ul style="list-style-type: none"> • uso de hidrólise ácida ou alcalina para degradação da biomolécula
<ul style="list-style-type: none"> • eletroforese: papel, alta-voltagem, agarose, acetato de celulose, gel de amido, gel de poliacrilamida 	<ul style="list-style-type: none"> • sequenciamento por reação de degradação de Edman • espectrometria de massas
<ul style="list-style-type: none"> • ultracentrifugação 	<ul style="list-style-type: none"> • cristalografia por difração de raios X

1.2 Biomoléculas

1.2.1 Água

A água é uma substância fundamental para a vida no planeta. As inúmeras reações químicas que ocorrem a cada momento no interior dos organismos vivos têm a água como **solvente**. Por meio da água, são transportadas substâncias interna e externamente, nas células e entre os tecidos. A manutenção da temperatura corpórea também é feita com o auxílio da água, que atua como protetor térmico contra variações da temperatura ambiente. Isso resulta do elevado valor do calor específico da água, $1 \text{ cal/g}^\circ\text{C}$, o que significa que a energia varia em uma caloria por grama, quando a alteração na temperatura é de 1°C . Assim, mesmo que ocorram variações bruscas de temperatura no ambiente externo, no interior do organismo a água mantém a temperatura estável. Outro aspecto físico-químico importante da água é a sua **neutralidade**: seu valor de **pH** é igual a 7,0. Isso influencia na regulação do valor do pH em cada órgão ou tecido do organismo e na ocorrência de diversas reações químicas.

A capacidade que a água tem de dissolver as diversas substâncias que compõem as células pode ser explicada por sua estrutura química. A presença de dois polos na molécula da água, um positivo e outro negativo, decorre da repulsão dos elétrons desemparelhados (não ligados) e do fato de o oxigênio ser mais eletronegativo¹ que o hidrogênio, atraindo os elétrons presentes nas duas ligações covalentes. Essa atração é tão forte que promove a ocorrência de interações intermoleculares entre oxigênio e hidrogênio, chamadas **ligações de hidrogênio**.

Por esse motivo, a água apresenta propriedades físico-químicas peculiares, como ponto de ebulição elevado, igual a 100°C , e ponto de fusão igual a 0°C . É preciso energia para romper as ligações de hidrogênio e, com isso, fazer a água mudar de estado físico. Assim, a água se mantém no estado líquido na maioria dos ambientes do planeta.

¹ A eletronegatividade, uma propriedade periódica dos elementos, é a capacidade de um átomo atrair elétrons.

Em termos percentuais, aproximadamente 75% da massa de um indivíduo adulto é constituída de água.

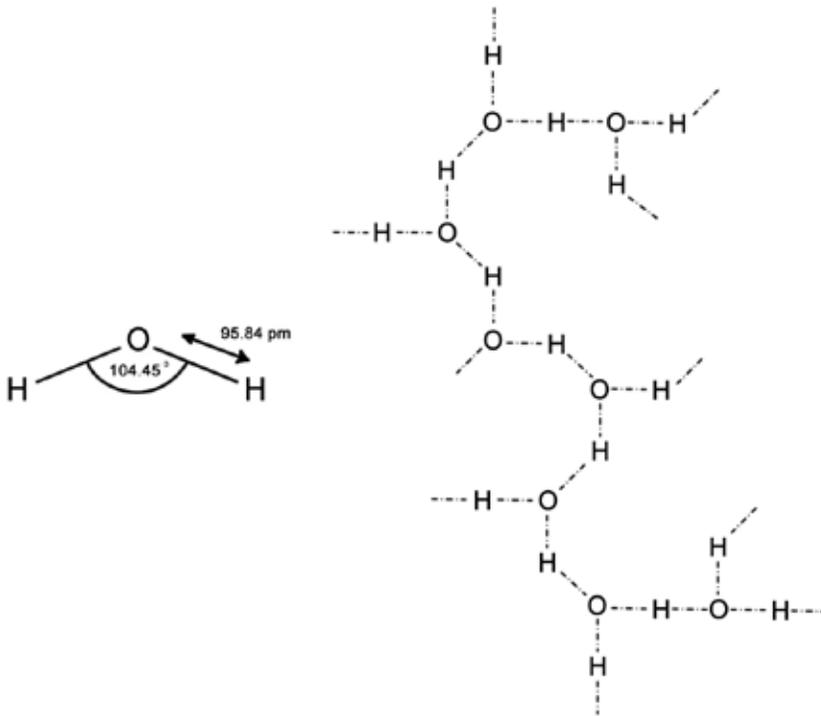


Figura 1.1. Estrutura química da molécula da água e ligações de hidrogênio entre as moléculas de água.

1.2.2 Sais minerais

Os sais minerais participam de inúmeras reações químicas que ocorrem no organismo. O bom funcionamento das células dependerá dos íons provenientes dos sais minerais, que são unidades eletricamente carregadas, por perda ou ganho de elétrons. O quadro 1.2 relaciona alguns íons e suas principais funções bioquímicas.

Quadro 1.2 – Principais funções bioquímicas dos íons.

ÍONS	
Cátions (perda de elétrons – carga positiva)	Ânions (ganho de elétrons – carga negativa)
<ul style="list-style-type: none"> • Na⁺ e K⁺ (cátion sódio e cátion potássio): funcionamento das células nervosas. • Ca²⁺ (cátion cálcio): contração muscular, coagulação do sangue, estrutura óssea, motilidade dos espermatozoides e transmissão nervosa. • Fe²⁺ e Fe³⁺ (cátion ferro): constituição da hemoglobina, proteína responsável pelo transporte de O₂ no sangue dos pulmões até os tecidos. • Mg²⁺ (cátion magnésio): componente da clorofila das plantas e cofator de diversas enzimas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Cl⁻ (ânion cloreto): regulação da osmolaridade² de tecidos e células, controlando a entrada e a saída de água nessas estruturas, e equilíbrio do pH no suco gástrico. • PO₄²⁻ (ânion fosfato): envolvido no processo de fosforilação das biomoléculas e no equilíbrio e manutenção do pH. • HCO₃⁻ (ânion bicarbonato): equilíbrio e manutenção do pH, reduzindo a acidez excessiva.

1.2.3 Proteínas

As proteínas, substâncias essenciais para os seres vivos, são constituídas por **sequências de aminoácidos**. Os aminoácidos são formados por átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio; alguns deles contêm enxofre. Existem vinte aminoácidos diferentes que possuem algo em comum em sua estrutura: um átomo de carbono central, chamado carbono alfa (C_α), ao qual se ligam quatro grupos de átomos, de acordo com a figura abaixo. O grupo **amino**, a **carboxila** e o **hidrogênio** estão sempre nas mesmas posições em todos os vinte aminoácidos, que são diferenciados somente pelo **grupo R** (grupo radical ou

² Osmolaridade é a medida da pressão osmótica exercida por partículas de soluto contidas em uma solução.

cadeia lateral). Todas as proteínas existentes são formadas pela combinação desses vinte aminoácidos.

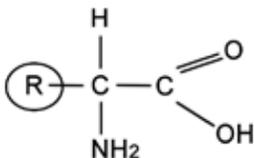


Figura 1.2. Fórmula geral de um aminoácido.

Quadro 1.3. Classificação dos aminoácidos segundo a sua necessidade.

Aminoácidos naturais: são fabricados pelo próprio organismo a partir de outras substâncias químicas	Aminoácidos essenciais: o organismo não consegue produzi-los; precisam ser obtidos através dos alimentos
<p>Ácido aspártico (Asp) Ácido glutâmico (Glu) Alanina (Ala) Arginina (Arg) Asparagina (Asn) Cisteína (Cis) Glutamina (Gln) Glicina (Gly) Prolina (Pro) Serina (Ser) Tirosina (Tyr)</p>	<p>Histidina (His) Isoleucina (Iso) Leucina (Leu) Lisina (Lis) Metionina (Met) Fenilalanina (Fen) Treonina (Tre) Triptofano (Tri) Valina (Val)</p>

De acordo com as suas cadeias laterais, os aminoácidos podem ser classificados como **polares, apolares, carregados e aromáticos**. Os aminoácidos polares formam ligações de hidrogênio com a água por meio de suas cadeias laterais. Os aminoácidos apolares possuem cadeias laterais alifáticas (ricas em hidrocarbonetos), o que os torna hidrofóbicos; por isso, geralmente voltam suas cadeias laterais para o interior das proteínas, uma vez que não interagem com o meio aquoso. Os aminoácidos carregados podem ter carga negativa ou positiva e são assim classificados de acordo com a sua carga em pH 7,0. Os aminoácidos aromáticos são aqueles que possuem um anel aromático em sua cadeia lateral.

Em soluções aquosas, os aminoácidos estão ionizados, podendo agir como ácidos ou bases. Quando os aminoácidos se encontram em um pH no qual as cargas dos grupos ionizáveis se anulam, formam os chamados **zwitteríons**, sendo, nessa forma, eletricamente neutros.

Os aminoácidos podem ser identificados com base em uma **curva de titulação**. Como possuem, considerando a glicina como exemplo, uma carboxila e um grupo amino, esses, em pH ácido, estarão protonados, e o aminoácido terá carga positiva. No momento em que se adiciona uma base, o pH aumenta até que a carboxila doe o seu próton. A carboxila doa o próton primeiro, pois possui uma característica ácida, o que não é o caso do grupo amino. O pH continua a aumentar, com a adição de mais base, até que o hidrogênio do grupo amino também seja perdido.

O pH com 50% das carboxilas protonadas e 50% desprotonadas é chamado **pK**. O **pK** se encontra na zona de tamponamento pois, nesse momento, o hidrogênio pode sair de uma carboxila e ser captado por outra; com isso, o aumento de pH fica difícil, gerando uma faixa de pH tampoadada. O mesmo ocorre para as faixas de pH onde o pK do grupamento amino se encontra; no caso dos aminoácidos com cadeia lateral, ocorre uma terceira região de pK.

Existe uma faixa de pH na qual todas as moléculas estão na forma de zwitteríons, e, por isso, a solução não tem carga e é chamada **ponto isoelétrico (pI)**. Em um aminoácido sem cadeia lateral, o pI é um valor equidistante dos dois pKs, o do grupamento amino e o da carboxila. Nessa faixa, o pH varia muito por causa da quantidade crescente de próton liberada, pois não há carboxila protonada nem amino desprotonado para que ele seja captado.

As curvas de titulação dos aminoácidos podem ser influenciadas pelos grupos presentes nas cadeias laterais, como mencionado acima. Caso o grupo possa sofrer desprotonação, é possível que a sua participação aumente as zonas de tamponamento da curva daquele aminoácido. Numa titulação pode haver no máximo três e no mínimo dois pKs. É importante destacar que, como a água é polar, se a reação estiver acontecendo em meio aquoso, ao atingir o seu pI e ficar neutro, o aminoácido se tornará insolúvel, precipitando.

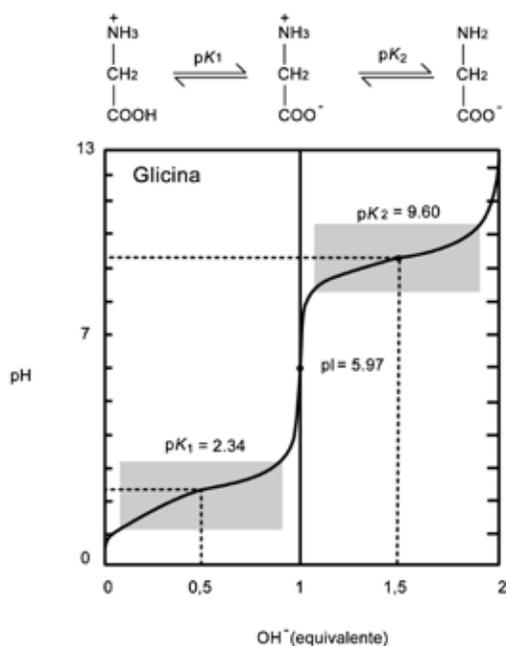


Figura 1.3. Curva de titulação da glicina.

Os aminoácidos ligam-se entre si por meio das **ligações peptídicas**, formando moléculas chamadas peptídeos. A ligação ocorre entre o grupo amino de um aminoácido e a carboxila do outro, em decorrência da atração entre as suas cargas opostas. Essa reação libera uma molécula de água. O grupo amino livre e a carboxila livre para efetuar essa ligação são chamados, respectivamente, amino-terminal e carboxi-terminal.

A estrutura primária das proteínas é formada pela **sequência de aminoácidos** que as compõem, que estão unidos pelas ligações peptídicas. As proteínas estão presentes em todas as células e executam importantes funções, tais como estrutura, transporte, sinalização, adesão, motilidade, catálise e defesa. Apesar de diferentes entre si, todas as proteínas são formadas por cadeias de aminoácidos. Algumas proteínas podem ter mais de uma cadeia, e diz-se que elas possuem multissubunidades. A hemoglobina, por exemplo, é um tetrâmero, pois possui quatro cadeias: duas cadeias α idênticas entre si e duas cadeias β também idênticas entre si.

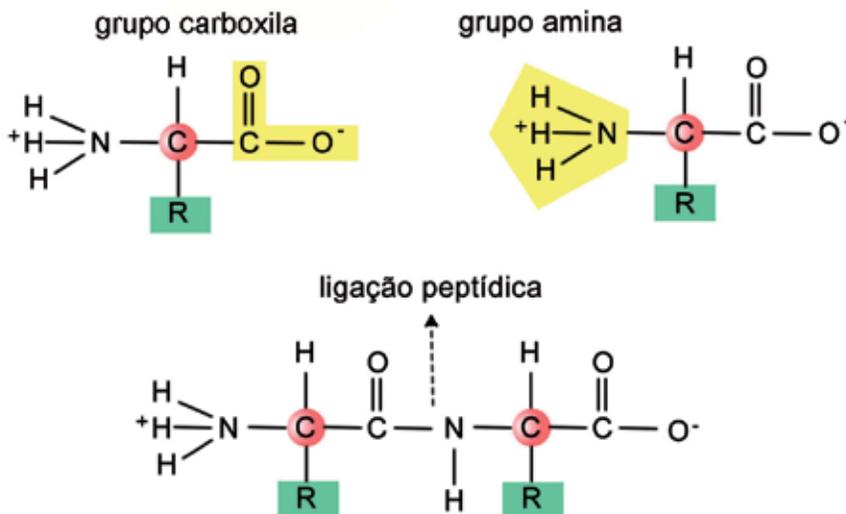


Figura 1.4. Ligação peptídica.

A maioria das proteínas contém apenas aminoácidos em sua estrutura, porém muitas delas, chamadas **proteínas conjugadas**, podem possuir grupamentos químicos diferentes. Chama-se **grupo prostético** a parte da proteína que não é formada por aminoácidos. Um exemplo disso é o **grupo heme**, grupo prostético da hemoglobina. É no átomo de ferro desse grupo que ocorre a ligação do oxigênio, permitindo seu transporte pela proteína. Na maioria das vezes, o grupo prostético desempenha importante papel na função da proteína, como é o caso da hemoglobina. As proteínas que possuem em sua composição moléculas de lipídios ou carboidratos são denominadas, respectivamente, lipoproteínas e glicoproteínas. Da mesma forma, as proteínas que possuem um metal em sua estrutura são classificadas como metaloproteínas.

Todas as funções de uma proteína determinada são dependentes de sua estrutura primária. A forma e a ordem como seus aminoácidos estão ligados definirão qual a estrutura secundária da proteína, e, conseqüentemente, a sua função.

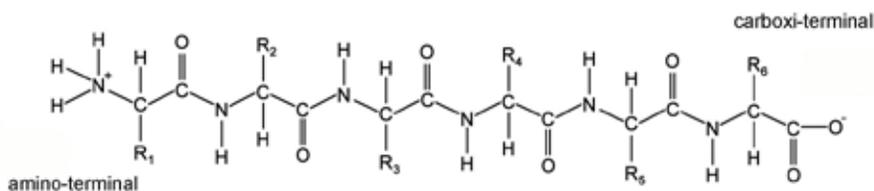


Figura 1.5. Estrutura primária de uma proteína.

A estrutura secundária é uma estrutura tridimensional formada mediante a interação dos aminoácidos da cadeia primária entre si. As cadeias laterais dos aminoácidos interagem, dando à proteína uma forma tridimensional. Essas interações são ligações fracas, como as ligações de hidrogênio. As proteínas podem apresentar mais de uma estrutura secundária ao longo de sua cadeia. As estruturas secundárias organizadas são a α -hélice, a folha- β -pregueada e a hélice do colágeno.

Na **α -hélice**, as ligações de hidrogênio são feitas a cada quatro aminoácidos da sequência, ficando as cadeias laterais para fora. Essa ligação sequencial confere à proteína uma conformação de hélice. A queratina é uma proteína formada por essa estrutura secundária, e a diferença entre os tipos de cabelo se dá pelas interações das cadeias laterais da cisteína, que formam pontes dissulfeto. Em cabelos lisos, as ligações dissulfeto são paralelas, ao passo que nos cabelos cacheados as ligações são oblíquas. Isso depende da localização da cisteína na sequência da queratina, informação contida no DNA do indivíduo.

Na **folha- β -pregueada**, a cadeia de aminoácidos se organiza em várias dobras consecutivas nas quais as ligações de hidrogênio são feitas entre segmentos adjacentes da cadeia. Esse tipo de ligação faz a proteína ficar achatada e ter menos elasticidade do que a apresentada pelas proteínas com estrutura α -hélice. A fibroína é uma proteína rica nesse tipo de estrutura, o que a torna rígida. É encontrada na teia de aranha e na seda.

Como o nome já diz, a **hélice do colágeno** só é encontrada no colágeno. Ela consiste em três cadeias polipeptídicas entrelaçadas. Essa estrutura aparece no tecido conjuntivo, cuja função é suportar tensão e dar proteção mecânica.

Uma fibra de colágeno contém várias hélices unidas, oferecendo maior resistência. O colágeno possui em sua cadeia primária, basicamente, três aminoácidos: a glicina, a alanina e a hidroxiprolina, esse último aminoácido é o responsável pelas ligações de hidrogênio dessa estrutura.

O enovelamento proteico determina a estrutura terciária. As **proteínas fibrosas**, em geral, não formam estruturas terciárias, pois sua forma alongada favorece sua função de sustentação e proteção.

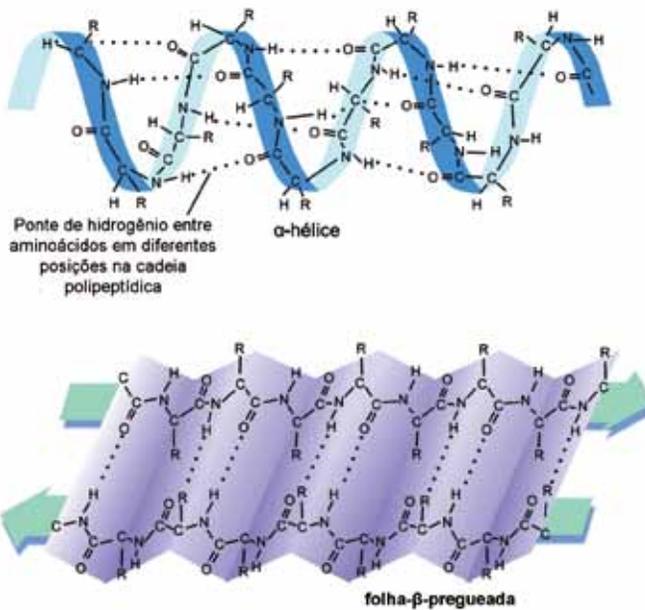


Figura 1.6. Estruturas secundárias organizadas das proteínas.

As **proteínas globulares** são proteínas com estrutura terciária bem definida. Em geral, elas se enovelam para ocupar menos espaço e para trazer para dentro de sua estrutura os aminoácidos apolares, pois eles são incapazes de interagir com o meio celular, que é aquoso. A solubilização de proteínas globulares em meio aquoso se dá pela interação dos aminoácidos polares com a água por meio das ligações de hidrogênio. A forma da proteína globular também é estabilizada pelas interações hidrofóbicas na parte interna da proteína.

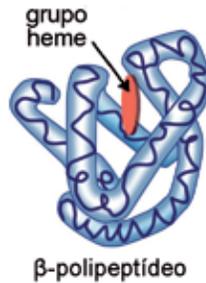


Figura 1.7. Estrutura terciária da cadeia de globina mostrando grupamento heme.

Quando a proteína se encontra em sua conformação mais estável – ou seja, naquela conformação em que existe menor gasto de energia –, diz-se que ela se encontra em sua forma nativa. A estrutura quaternária ocorre quando há mais de uma cadeia polipeptídica ligada entre si. A hemoglobina é uma proteína com estrutura quaternária, apresentando quatro cadeias globulares unidas entre si. Essa conformação específica permite que a hemoglobina tenha a função de carrear gases.

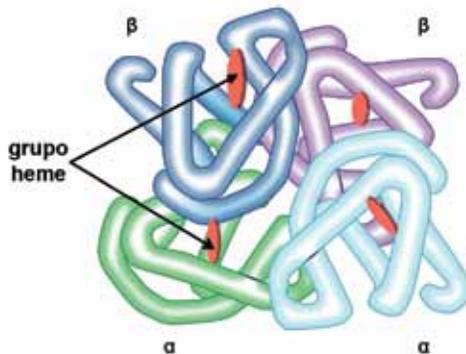


Figura 1.8. Estrutura quaternária da hemoglobina mostrando os grupos hemes.

A grande variedade de funções exercidas pelas proteínas no organismo é resultado da possibilidade de geração de inúmeras sequências que irão proporcionar diversas estruturas secundárias, terciárias e quaternárias, oriundas de um mesmo grupo de aminoácidos.



Figura 1.9. Principais funções biológicas das proteínas.

A **sequência da cadeia primária** fornece a identificação básica da proteína a partir da qual serão formadas as cadeias secundária, terciária e quaternária. Quando submetida a variações de temperatura, pH ou concentração de outras substâncias presentes, uma proteína pode sofrer uma reação química chamada **desnaturação**, uma alteração nas estruturas da proteína que ocasiona a inativação ou a modificação das mesmas. A única estrutura que não é afetada pela desnaturação é a estrutura primária. O fato de a desnaturação não afetar a cadeia primária serviu para provar que a cadeia primária é a responsável pela estrutura básica da proteína.

1.2.3.1 Enzimas

As enzimas são proteínas que possuem a capacidade de aumentar a velocidade de determinada reação química, atuando, portanto, como **catalisadores**³ das reações que ocorrem em células e tecidos vivos. As enzimas são proteínas com estrutura globular que apresentam uma região onde ocorre a ligação do substrato. Esse local é denominado sítio catalítico ou sítio ativo. Substrato é a molécula que é reconhecida pela enzima e que será modificada por ela. Com isso, forma-se o complexo enzima-substrato (ES). Nesse processo, as enzimas catalisam as reações com o substrato ligado e, em geral, podem atuar seguidamente em novas moléculas do substrato. Existem dois modelos teóricos principais para explicar a formação do complexo ES: **chave-fechadura** (fig. 1.10) e **encaixe induzido** (fig. 1.11).

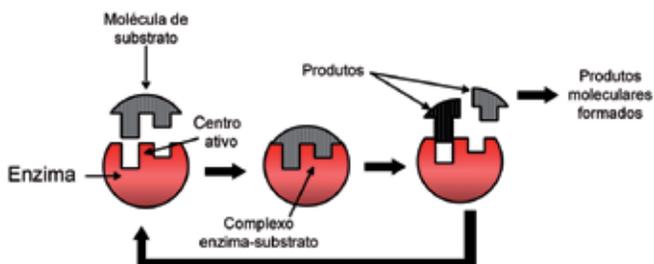


Figura 1.10. Modelo chave-fechadura para explicação da formação do complexo ES.

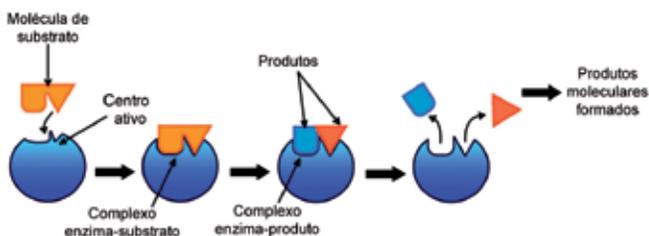


Figura 1.11. Modelo encaixe induzido para explicação da formação do complexo ES.

³ Catalisadores são substâncias químicas capazes de reduzir a energia de ativação em uma reação química, aumentando a sua velocidade.

No modelo chave-fechadura, a enzima já possui um local específico para se ligar ao substrato, ao passo que, no modelo do encaixe induzido, a própria ligação do substrato induz a formação desse local específico, pela mudança na organização molecular da enzima. Em alguns casos, as enzimas são bastante específicas para determinado substrato. É importante destacar que os centros de ativação da enzima dependem diretamente das estruturas terciária ou quaternária da proteína.

Existem moléculas orgânicas ou inorgânicas, denominadas **cofatores**, que são necessárias para o funcionamento da enzima. A fração da enzima sem o cofator é chamada apoenzima; quando o cofator está presente, a enzima é denominada holoenzima. Os cofatores podem ser íons inorgânicos (Fe^{+2} , Cu^{+2} , Zn^{+2} , por exemplo), grupos prostéticos (heme, por exemplo) ou coenzimas (vitaminas, por exemplo). Existem alguns fatores que podem afetar a atividade das enzimas, como a desnaturação e a saturação. A desnaturação provoca alteração na estrutura da enzima, modificando seu centro de ativação; a saturação ocorre quando a enzima atua em sua capacidade máxima. Em ambas as situações, a enzima tem sua “atividade catalítica” reduzida.

As enzimas podem ser classificadas da seguinte maneira:

- **oxidorreduzases:** catalisam reações de oxidorredução;
- **transferases:** transferem uma molécula e adicionam outra;
- **hidrolases:** fazem reagir determinado substrato com a água;
- **liases:** participam de quebras moleculares;
- **isomerases:** transformam um isômero em outro.
- **ligases:** fazem reagir dois substratos, formando um único produto.

As enzimas podem ser inibidas de forma reversível ou de forma irreversível. Na **inibição reversível**, a enzima tem sua capacidade catalítica recuperada quando a inibição se encerra. Na **inibição irreversível**, a enzima é inativada. A inibição reversível pode ser competitiva ou não competitiva. O inibidor competitivo disputa o sítio catalítico da enzima com o substrato. Enquanto o inibidor está ligado ao sítio ativo, a enzima fica inativa, pois ele impede a ligação do substrato no sítio da enzima. De forma geral, o inibidor competitivo possui estrutura semelhante à do substrato da enzima. A inibição não competitiva

ocorre quando o inibidor não compete pelo sítio catalítico com o substrato. Ele simplesmente se liga a outro sítio e, na maioria das vezes, modifica a estrutura da enzima de forma a alterar o sítio catalítico, impedindo a entrada do substrato. Na inibição irreversível, os inibidores se ligam covalentemente à enzima, inativando-a.

1.2.4 Glicídios

Os glicídios, também chamados **carboidratos** (hidratos de carbono)⁴ ou **açúcares**, são substâncias que têm sua estrutura química formada por aldeídos, ou cetonas, poli-hidroxilados: para cada átomo de carbono, existem dois átomos de hidrogênio e um de oxigênio. Podem também conter em sua estrutura átomos de nitrogênio, fósforo ou enxofre. São as biomoléculas mais abundantes no planeta e uma importante fonte de energia dos organismos não fotossintéticos. Além de serem fonte de energia, os carboidratos participam da estrutura de plantas; são fonte de reserva energética tanto em plantas (amido) quanto em animais (glicogênio); e se ligam a proteínas, participando de processos de adesão celular, reconhecimento celular e endereçamento de proteínas. Os **monossacarídeos** podem ser classificados como **aldoses** ou **cetoses**. As aldoses consistem em poli-hidroxialdeídos com três a sete carbonos; as cetoses são poli-hidroxicetonas.

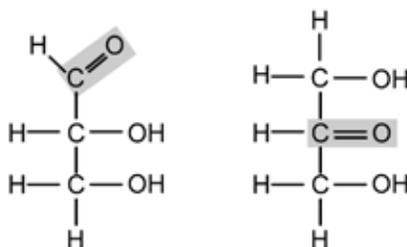


Figura 1.12. A) Estrutura de uma aldose; B) Estrutura de uma cetose.

⁴ Nos glicídios, hidrogênio e oxigênio ocorrem nas moléculas de água na proporção de 2:1, por isso o nome “hidrato”.

Os monossacarídeos podem se unir em cadeias para formar os **oligossacarídeos**, com pequenas cadeias de monossacarídeos, ou os **polissacarídeos**, com grandes cadeias. Os **dissacarídeos** são oligossacarídeos com duas unidades de monossacarídeos e são os mais abundantes. A sacarose e a lactose são os dissacarídeos mais conhecidos.

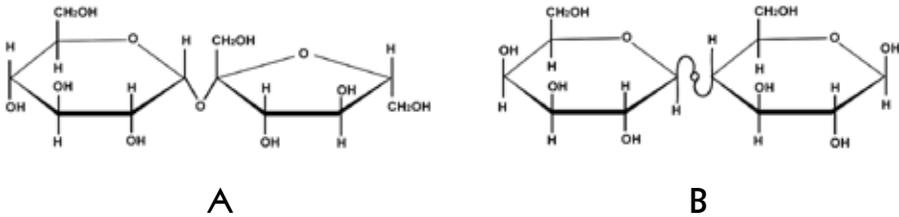


Figura 1.13. A) Estrutura da sacarose; B) Estrutura da lactose.

Os carbonos que contêm a hidroxila em uma molécula de monossacarídeo tornam-se um **centro quiral** (imagens especulares), pois nele são ligados quatro grupos diferentes. Isso leva os monossacarídeos a ocorrerem em formas isoméricas opticamente ativas. Assim, os monossacarídeos possuem formas **destrógeras** (D) e **levógeras** (L). As destrógeras desviam o plano da luz polarizada para a direita e as levógeras, para a esquerda. As formas mais comuns de glicídios na natureza são as formas D. Em todos os monossacarídeos haverá, pelo menos, um carbono quiral. As formas D e L de um monossacarídeo são chamadas enantiômeros. Quando a configuração de um açúcar é diferente da configuração de outro apenas por um átomo de carbono, ele é chamado epímero. Monossacarídeos com cinco ou mais carbonos quando em solução assumem forma cíclica. A ligação para fechamento da estrutura se dá entre o grupo funcional (aldeído ou cetona) e a hidroxila do carbono quiral. Se o grupo funcional é o aldeído, a forma cíclica é denominada hemiacetal; se é uma cetona, chama-se hemiacetal.

Quando os carbonos do monossacarídeo se fecham para formar o ciclo, o carbono ligado ao grupo funcional se torna quiral, deixando a molécula com dois centros assimétricos. Esse carbono é agora chamado carbono anomérico.

Há também o aparecimento de uma hidroxila, a hidroxila heterosídica. Quando o ciclo se fecha com cinco carbonos, o açúcar é chamado furanose; quando são seis átomos de carbono, é chamado piranose.

Os açúcares são capazes de sofrer oxidação no carbono da carbonila, transformando-o em ácido carboxílico. Essa oxidação pode ser causada por agentes oxidantes fracos, como os íons metálicos – por exemplo, o íon férrico (Fe^{+3}) e os íons cúpricos (Cu^{+2}). Os açúcares que possuem essa característica são chamados redutores. A glicose possui essa capacidade de redução; por isso, sua dosagem no sangue foi durante muito tempo medida pelo teste de Fischer, que se baseia na característica redutora da glicose.

A formação dos dissacarídeos, dos polissacarídeos e dos oligossacarídeos se dá por meio de uma ligação covalente forte entre o grupo funcional de um monossacarídeo e o carbono anomérico de outro. Essa ligação é denominada **ligação O-glicosídica**. Monossacarídeos redutores podem perder sua capacidade redutora quando fazem uma ligação glicosídica. O carbono anomérico da extremidade de uma cadeia que possui um carbono anomérico livre é denominado extremidade redutora. Os dissacarídeos, os oligossacarídeos e os polissacarídeos podem sofrer hidrólise ácida para liberar suas porções monossacarídicas.

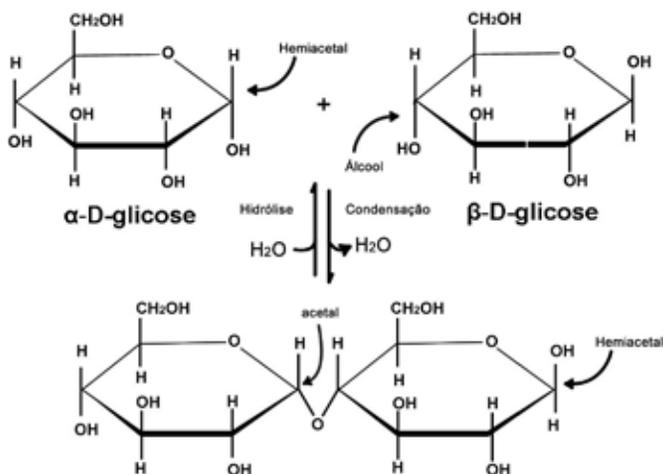


Figura 1.14. Formação da ligação glicosídica na síntese da maltose.

1.2.5 Lipídios

Os lipídios são um grupo de substâncias que se caracteriza pela **baixa solubilidade** em água. Eles desempenham várias funções celulares e representam outra importante forma de estocagem de energia na maioria dos organismos, assim como o constituinte mais abundante das membranas celulares. Além disso, os lipídios estão relacionados com diversas funções biológicas, podendo atuar como cofatores, mensageiros intra e extracelulares ou transportadores. De modo geral, os lipídios são moléculas apolares que apresentam enorme diversidade estrutural. O componente estrutural básico da maioria dos lipídios é a molécula de ácido graxo. Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos cuja cadeia de hidrocarboneto pode variar de 4 a 36 carbonos, apresentando níveis diferentes de saturação. A nomenclatura dos ácidos graxos é baseada no número de carbonos que apresentam e na quantidade e na posição das duplas ligações que eles contêm. Considerando que o primeiro carbono é o do grupo carboxílico, a posição das duplas ligações é designada pelo símbolo Δ (delta) seguido do número do carbono em que a dupla ligação está localizada.

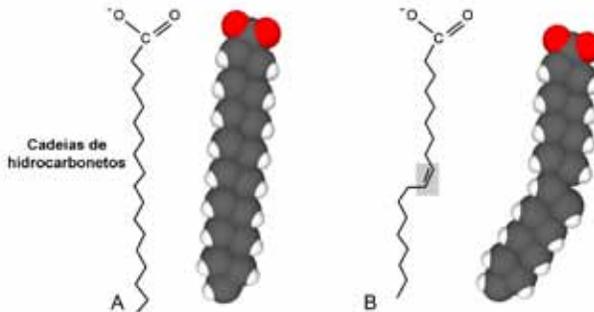


Figura 1.15. A) Estrutura do ácido esteárico; B) Estrutura do ácido oleico.

O ácido esteárico é saturado, ao passo que o oleico é insaturado.

A maioria dos ácidos graxos de ocorrência natural possui um número par de carbonos, que varia de 12 a 24. As insaturações possuem normalmente configuração *cis* e são intercaladas com ligação simples. Quanto maior e mais saturada for a cadeia carbônica, menor será a solubilidade do ácido graxo

em água. O ponto de fusão também é influenciado pelo grau de saturação dos ácidos graxos, sendo os poli-insaturados líquidos à temperatura ambiente (óleos). A presença do grupo carboxílico na molécula de ácido graxo permite a sua participação em várias reações, gerando ésteres ou amidas como derivados. Essas reações são as responsáveis pela grande diversidade estrutural observada na classe dos lipídios.

1.2.5.1 Triacilgliceróis (triglicerídeos)

Os triacilgliceróis são ésteres formados a partir da reação de três ácidos graxos com uma molécula de glicerol. Eles podem ser compostos por três ácidos graxos iguais ou diferentes. Também conhecidos como triglicerídeos, essas moléculas são os lipídios mais simples gerados a partir dos ácidos graxos.

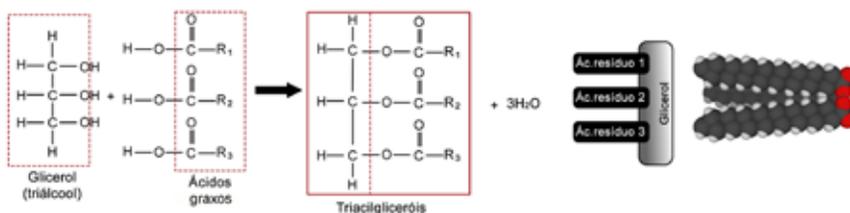


Figura 1.16. Formação dos triacilgliceróis.

Os triacilgliceróis e outros lipídios neutros podem ser estocados no interior das células eucarióticas, em uma organela denominada gota lipídica presente no citoplasma, provendo as demandas energéticas e estruturais, e participando dos processos de sinalização e ativação celular.

Os triglicerídeos provenientes da dieta sofrem digestão no duodeno e no íleo proximal. Os triglicerídeos sofrem hidrólise pela ação de lípases e ácidos biliares, originando glicerol e ácidos graxos livres. Após a absorção, são sintetizados novamente nas células epiteliais do intestino e se combinam com o colesterol e as apolipoproteínas para formar os quilomícrons, que serão transportados pelo ducto torácico para a circulação.

Além de importante fonte de energia, os triglicerídeos, representados pelos óleos e gorduras animais ou vegetais, agem como isolante térmico sob a pele (tecido adiposo), equilibrando e mantendo a temperatura corpórea, uma vez que são maus condutores de calor. Em regiões onde a temperatura é muito baixa, os animais armazenam gordura nos períodos de clima mais quente e a utilizam como fonte de energia nos mais frios. Os óleos presentes em sementes, como as de soja, oliva, milho e girassol, atuam como excelentes fontes de lipídios na alimentação.

1.2.5.2 Fosfolipídios

Os fosfolipídios são os principais componentes das membranas celulares. Eles formam uma barreira com permeabilidade seletiva que delimita o espaço intracelular e gera o arcabouço no qual estão inseridas as demais moléculas que compõem a membrana plasmática, como proteínas e açúcares. Os fosfolipídios têm como característica principal a presença de um grupamento fosfato associado, por meio de uma ligação fosfodiéster, a um esqueleto lipídico. Podem ser classificados em dois grandes grupos: os glicerofosfolipídios e os esfingolipídios.

Os **glicerofosfolipídios** são compostos por uma molécula de glicerol ligada a dois ácidos graxos e a um grupo fosfato. A um dos oxigênios do fosfato podem estar ligados grupos neutros ou carregados, como colina, etanolamina e glicerol, que dão origem, respectivamente, à fosfatidilcolina, à fosfatidiletanolamina e ao fosfatidilglicerol.

Os **esfingolipídios** são formados por um amino álcool (esfingosina), uma molécula de ácido graxo e um grupamento polar contendo fosfato. Um exemplo de esfingolipídio é a esfingomielina, formada pela ligação de uma fosfocolina à cabeça polar alcoólica do esqueleto de esfingosina.

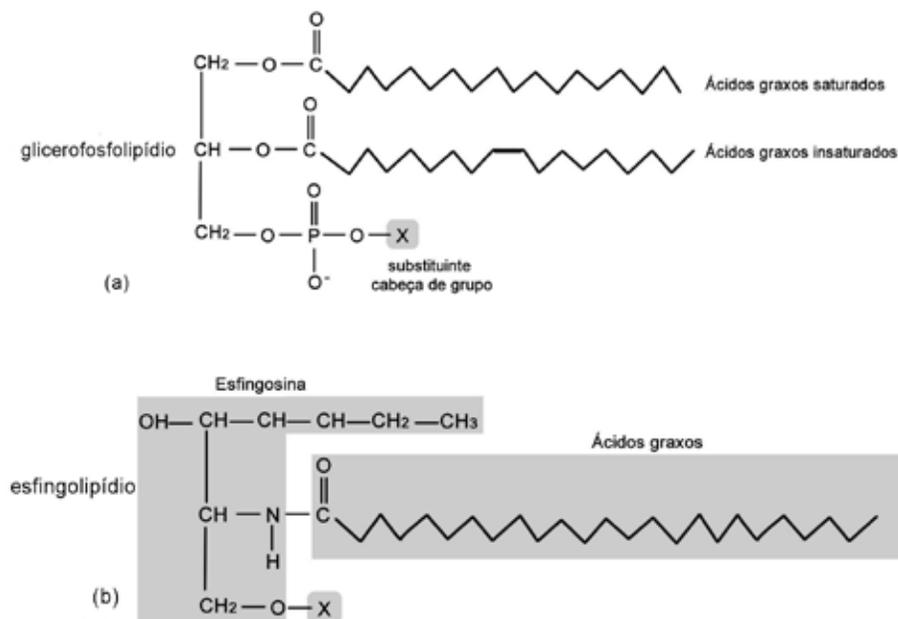


Figura 1.17. Estrutura geral de um glicerofosfolípido (a) e de um esfingolípido (b).

Na estrutura química dos fosfolípídios, podemos observar duas porções distintas: uma região polar ou hidrofílica, representada pelo grupamento fosfato, e outra apolar ou hidrofóbica, gerada pelo longo esqueleto carbônico.

Essa natureza anfipática dos fosfolípídios é essencial para a manutenção da arquitetura de bicamada lipídica observada nas membranas celulares. As porções polares interagem com as moléculas de água no ambiente intra e extracelular, enquanto as regiões apolares interagem entre si na porção interna da membrana.

1.2.5.3 Esteróis

Os esteróis são lipídios que possuem em sua estrutura química um núcleo esteroide, que consiste em quatro anéis carbônicos unidos entre si, três com seis carbonos e um com cinco.

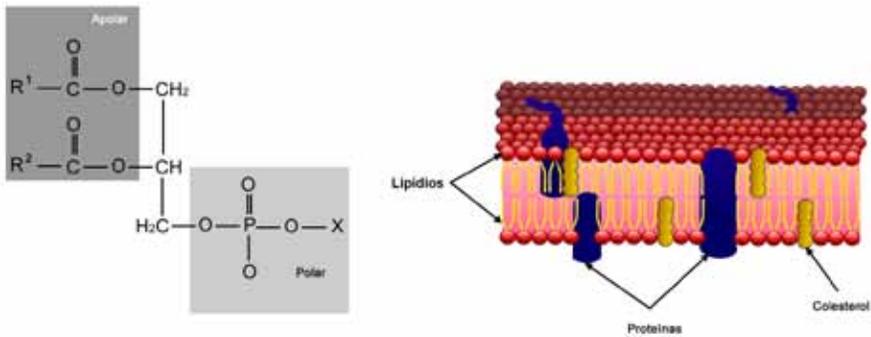


Figura 1.18. Estrutura química do fosfolipídio, composição química principal da membrana celular.

O esteroide mais abundante nos tecidos animais é o **colesterol**; nos fungos, é o **ergosterol**. O colesterol é uma molécula anfipática, com uma porção apolar, formada pelo núcleo esteroide e pela cadeia de hidrocarboneto ligada ao carbono 17, e uma porção polar, decorrente do grupamento hidroxila associado ao carbono 3. Os esteróides possuem diversas funções biológicas: além do seu importante papel estrutural como constituintes das membranas celulares, são também precursores dos hormônios esteróides e dos sais biliares.

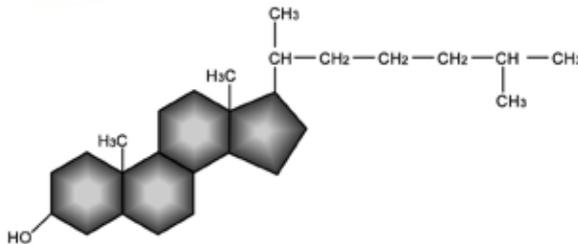


Figura 1.19. Estrutura química do colesterol, um esteroide que faz parte da composição das membranas de células animais, porém não está presente nas células de vegetais ou bactérias.

1.2.5.4 Lipoproteínas

Os lipídios são extremamente importantes do ponto de vista estrutural e energético, mas a natureza hidrofóbica dessas moléculas faz o seu transporte

no organismo ser possível apenas quando associado a proteínas. Em vertebrados, os ácidos graxos livres circulam no plasma associados à albumina, que os transporta do tecido adiposo para os demais tecidos, onde são utilizados como fonte de energia. Existe também uma classe específica de proteínas, as lipoproteínas plasmáticas, responsáveis pela distribuição dos diferentes tipos de lipídios nos vários tecidos do organismo.

As **lipoproteínas** de mamíferos são moléculas que contêm uma região interna hidrofóbica – composta por lipídios neutros, principalmente éster de colesterol e triacilglicerol – e uma porção externa hidrofílica – formada por uma única camada de lipídios anfipáticos (colesteróis e fosfolipídios) e pelas apoproteínas. Possuem composição proteica distinta que depende da natureza, da origem e do destino dos lipídios a serem transportados. Além disso, a relação entre o conteúdo lipídico e proteico faz as lipoproteínas apresentarem densidades diferentes, sendo, por isso, classificadas em quatro grupos principais: quilomícrons, **VLDL** (do inglês *very low density lipoprotein*, ou seja, lipoproteína de muito baixa densidade), **LDL** (do inglês *low density lipoprotein*, ou seja, lipoproteína de baixa densidade) e **HDL** (do inglês *high density lipoprotein*, ou seja, lipoproteína de alta densidade). Quanto maior a proporção de lipídios, menos densa será a lipoproteína.

Para entender os processos fisiológicos de **absorção, síntese e degradação de lipídios**, é preciso conhecer a dinâmica de transporte dessas moléculas através do organismo. Os lipídios provenientes da dieta são emulsificados no intestino com o auxílio dos sais biliares sintetizados no fígado. Os sais biliares atuam como detergentes fisiológicos, favorecendo a ação das lípases intestinais sobre os triacilgliceróis. A hidrólise dos triacilgliceróis pelas lípases intestinais gera ácidos graxos livres e glicerol, que são absorvidos e, ainda na mucosa intestinal, reesterificados a triacilglicerol. Tanto os triacilgliceróis quanto os demais lipídios absorvidos na dieta são incorporados ainda na mucosa intestinal a uma porção proteica (ApoC-II, ApoC-III e Apo B48), gerando uma lipoproteína denominada quilomícron. Os **quilomícrons** são responsáveis pelo transporte dos lipídios provenientes da dieta para o fígado e demais tecidos, sendo a molécula de quilomícron remanescente internalizada pelo fígado. Nesse órgão, são formadas as partículas de VLDL, que carregam os lipídios (principalmen-

te triacilglicerol e colesterol esterificado) do fígado para os outros tecidos. Enquanto percorre a corrente sanguínea, a VLDL sofre a ação de lípases endoteliais, que reduzem o seu conteúdo de triacilgliceróis, assim como da proteína transferidora de éster de colesterol (CETP, do inglês *cholesteryl ester transfer protein*), que incorpora colesterol à partícula de VLDL. Com isso, a densidade da lipoproteína é alterada, e ela passa a ser denominada LDL. A molécula de LDL supre a demanda de colesterol dos tecidos, e a partícula de LDL remanescente é removida pela captação no fígado. Da mesma forma que a VLDL, a HDL também é produzida no fígado e no intestino. Porém, essa lipoproteína é constituída de fosfolipídios, colesterol e colesterol esterificado. Essa partícula assume papel inverso ao da LDL, removendo o colesterol das membranas dos tecidos e transportando-o para o fígado, transporte denominado reverso de colesterol.

Quando a demanda energética do organismo requer a utilização dos triacilgliceróis estocados no tecido adiposo, a liberação de hormônios, como o glucagon e a epinefrina, promove a ativação de lípases sensíveis a hormônios que degradam os triacilgliceróis, gerando ácidos graxos livres, transportados no plasma até os demais tecidos associados à albumina. Essa complexa rede de transporte de lipídios permite que essas moléculas sejam rapidamente estocadas ou mobilizadas, mantendo a homeostasia do organismo.

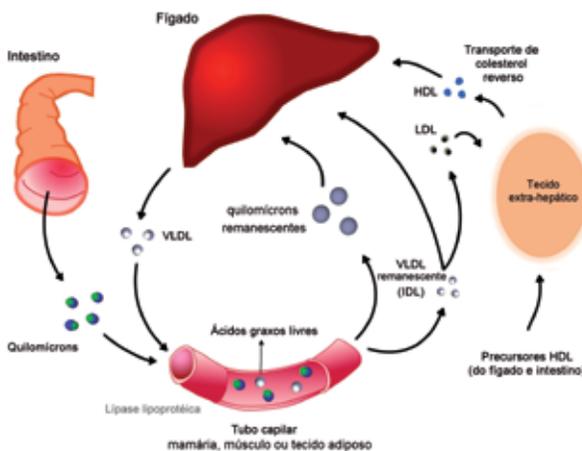


Figura 1.20. Lipoproteínas e transporte de lipídios.

1.2.6 Hormônios

A manutenção da **homeostasia** de organismos multicelulares só é possível por causa da existência de moléculas sinalizadoras que proporcionam a interação intercelular e entre os tecidos. Esses sinalizadores são os hormônios. Os **mecanismos de sinalização** intercelular podem ser classificados em **autócrinos** (quando a célula secreta substâncias que vão atuar sobre seus próprios receptores), **parácrinos** (quando os mediadores secretados sensibilizam células adjacentes), ou **endócrinos** (quando as células-alvo estão distantes do local onde a molécula sinalizadora foi sintetizada).

Os hormônios têm atividade **autócrina**, **parácrina** ou **endócrina** e estão envolvidos na regulação de todos os processos essenciais para a manutenção da vida: crescimento, maturação, reprodução, senescência e comportamento. Eles podem ser secretados por diversos tipos celulares, possuem grande variedade molecular e é possível agrupá-los em duas classes gerais: proteicos – insulina e hormônio folículo estimulante (FSH, do inglês *follicle-stimulating hormone*), por exemplo – e lipídicos – testosterona e progesterona, por exemplo.

Os **hormônios proteicos** em geral são reconhecidos por receptores específicos na membrana plasmática da célula-alvo. Com isso, o complexo hormônio-receptor dispara uma cascata de sinalização intracelular que culmina na geração de um segundo mensageiro, o qual desencadeará as alterações intracelulares decorrentes do estímulo inicial. Os hormônios lipídicos, por sua vez, podem atravessar a membrana plasmática e interagem com receptores nucleares específicos.

Alguns hormônios são secretados na corrente sanguínea na sua forma ativa, ao passo que outros são liberados na forma de pré-pró-hormônio e precisam ser metabolizados antes de atuar na célula-alvo. De modo geral, a **secreção dos hormônios** é controlada por retroalimentação negativa, ou seja, é inibida pelo aumento da concentração do hormônio ou de outra substância que esteja sendo secretada em resposta à sua ação. O principal centro regulador da secreção hormonal em mamíferos é o **hipotálamo**, situado no cérebro. É ele que recebe os impulsos nervosos e, em resposta a esses estímulos, produz vários hormônios regulatórios, que passam pela glândula hipófise, estimulando

(ou inibindo) a liberação de hormônios em diversos órgãos endócrinos. A compreensão dos efeitos fisiológicos e bioquímicos dos hormônios permite o entendimento de algumas doenças endócrinas e o desenvolvimento de terapias efetivas.

Os **hormônios esteroides** são sintetizados a partir do colesterol em vários tecidos endócrinos e são levados pela corrente sanguínea, ligados a proteínas carreadoras, até as suas células-alvo. Eles afetam o desenvolvimento e o comportamento sexual, além de muitas outras funções reprodutivas e não reprodutivas.

Os **hormônios retinoides** regulam o crescimento, a diferenciação e a sobrevivência celular. Os hormônios tireoidianos T4 (tiroxina) e T3 (triiodotironina) são sintetizados na glândula tireoide a partir da proteína precursora tiroglobulina (pró-hormônio). Esses hormônios necessitam do iodo para suas atividades biológicas e estimulam o metabolismo energético, especialmente no fígado e no músculo, ativando a expressão de genes que codificam enzimas-chave catabólicas. O **córtex adrenal** sintetiza os glicocorticoides, os mineralocorticoides e os andrógenos. Esses hormônios compartilham da estrutura básica do ciclopentanoperidrofenantreno. O cortisol é o principal glicocorticoide produzido no córtex adrenal. Essa produção é regulada pelo mecanismo de retroalimentação inibitória do hormônio liberador de corticotrofina (CRH, do inglês *corticotropin-releasing hormone*) no hipotálamo e do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH, do inglês *Adrenocorticotropic hormone*) na pituitária anterior. Os hormônios da adrenal são fundamentais na homeostase da glicose, na retenção de sódio, na regulação da pressão sanguínea, nos mecanismos de defesa, na resposta ao estresse e no anabolismo proteico geral.

1.2.7 Vitaminas

As vitaminas, moléculas essenciais à vida, não são sintetizadas pelos animais superiores e precisam ser obtidas pela alimentação. Atuando como cofatores enzimáticos, podem ser agrupadas, de acordo com a sua solubilidade, em hidrossolúveis e lipossolúveis.

Como integrantes da família das **vitaminas hidrossolúveis**, podemos citar as vitaminas do complexo B e a vitamina C; já nas **vitaminas lipossolúveis** estão compreendidas as vitaminas A, D, E e K. Os quadros 4 e 5 trazem a relação das fontes e das funções das vitaminas lipossolúveis e hidrossolúveis, respectivamente.

Quadro 1.4. Resumo das vitaminas lipossolúveis.

Vitaminas lipossolúveis	Fontes	Funções
Vitamina A (retinol)	<ul style="list-style-type: none"> • fígado, gordura do leite, margarina, gema de ovo, folhas verdes e amarelas, damascos e pêssegos. 	<ul style="list-style-type: none"> • crescimento, desenvolvimento e manutenção do tecido epitelial e visão noturna.
Vitamina D (calciferol)	<ul style="list-style-type: none"> • peixes gordurosos, gema de ovo e fígado. 	<ul style="list-style-type: none"> • formação de ossos e dentes, absorção e metabolismo do fósforo e do cálcio.
Vitamina E (tocoferol)	<ul style="list-style-type: none"> • germe de trigo, óleos vegetais, vegetais de folhas verdes, gordura do leite, gema de ovo e nozes. 	<ul style="list-style-type: none"> • potente antioxidante.
Vitamina K (filoquinona)	<ul style="list-style-type: none"> • fígado, óleo de soja, óleo de outros vegetais, vegetais de folhas verdes e farelo de farinha. 	<ul style="list-style-type: none"> • auxilia na produção de protrombina, necessário para a coagulação sanguínea normal.

Quadro 1.5. Resumo das vitaminas hidrossolúveis.

Vitaminas hidrossolúveis	Fontes	Funções
Tiamina	<ul style="list-style-type: none"> • carne de porco, fígado, vísceras, legumes, grãos integrais e cereais enriquecidos, germe de trigo e batatas. 	<ul style="list-style-type: none"> • auxilia na remoção do CO_2 dos alfa-cetoácidos durante a oxidação dos carboidratos.

cont.

Riboflavina	<ul style="list-style-type: none"> • leite e seus derivados, vísceras, vegetais de folhas verdes, cereais enriquecidos, pães e ovos. 	<ul style="list-style-type: none"> • exerce importante papel enzimático na respiração dos tecidos e age como transportador de íons hidrogênio.
Niacina	<ul style="list-style-type: none"> • peixe, fígado, carne, aves, grãos, ovos, amendoim, leite e legumes. 	<ul style="list-style-type: none"> • cofator enzimático, auxilia na transferência de hidrogênio e age no metabolismo de carboidratos e aminoácidos.
Vitamina B6	<ul style="list-style-type: none"> • porco, vísceras, farelo e germe de cereais, leite, gema de ovo, farinha de aveia e legumes. 	<ul style="list-style-type: none"> • auxilia na síntese e na quebra de aminoácidos e na síntese de ácidos graxos insaturados a partir de ácidos graxos essenciais.
Vitamina B12	<ul style="list-style-type: none"> • fígado, rim, leite e derivados, carne e ovos. 	<ul style="list-style-type: none"> • fundamental para a biossíntese de ácidos nucleicos; exerce importante papel no metabolismo do tecido nervoso e no crescimento.
Ácido pantotênico	<ul style="list-style-type: none"> • presente em todos os alimentos vegetais e animais; ovos, rim, fígado, salmão e levedura são as melhores fontes. 	<ul style="list-style-type: none"> • essencial no metabolismo intermediário de carboidratos, gorduras e proteínas.
Ácido fólico ou folato	<ul style="list-style-type: none"> • vegetais de folhas verdes, fígado, bife magro, trigo, ovos, peixes, lentilha, feijão de corda, aspargo, brócolis, couves e levedura. 	<ul style="list-style-type: none"> • essencial para a biossíntese de ácidos nucleicos e para a maturação normal das hemácias; sintetizado no intestino.

cont.

Biotina	<ul style="list-style-type: none"> • fígado, cogumelos, amendoim, levedura, leite, carne, gema de ovo, a maioria dos vegetais, banana, melão e morango. 	<ul style="list-style-type: none"> • componente essencial de enzimas, atua na síntese e na quebra de ácidos graxos e de aminoácidos, auxiliando na remoção de gás carbônico.
Vitamina C (ácido ascórbico)	<ul style="list-style-type: none"> • acerola, frutas cítricas, tomate, melão, pimentão verde, repolho cru, morango, abacaxi, goiaba e batata. 	<ul style="list-style-type: none"> • importante na resposta imune, na cicatrização de feridas e em reações alérgicas; aumenta a absorção de ferro.

1.3 Metabolismo

1.3.1 Introdução ao metabolismo

Para que nos alimentamos? Dizemos que nos alimentamos de modo a obter a energia suficiente para manter nossas funções. Consideramos alimento os **carboidratos**, as **proteínas** e os **lipídios**, que são macromoléculas constituídas basicamente de carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio.

Os **seres autotróficos**, como as plantas, são capazes de transformar CO_2 e água em fontes de carbono reduzido. A reação pela qual eles efetuam essa transformação é chamada fotossíntese. Os **seres heterotróficos** não são capazes de efetuar tal reação; por isso, devem obter as moléculas com carbono reduzido de uma fonte, por meio da ingestão desses alimentos. Eles fornecem macromoléculas importantes para a síntese de novas moléculas e para a obtenção de energia, por meio das reações que acontecem no metabolismo.

O metabolismo compreende uma série de reações químicas efetuadas pelas células na conversão de uma molécula em outra. As reações do metabolismo podem gerar energia (reações exergônicas) ou podem absorver energia (reações endergônicas). As reações de **catabolismo** (quebra de moléculas combustíveis) são exergônicas e sempre estão acopladas a reações de **anabolismo** (síntese de

macromoléculas), que são endergônicas. Esse conjunto de reações anabólicas e catabólicas é denominado metabolismo. Os tipos de reação que podem ocorrer no metabolismo celular são reações de óxido-redução – que participam da transferência de elétrons geradores de energia; reações de ligação – que formam ligações covalentes por meio da hidrólise de um ATP; isomerização – quando os átomos são rearrumados, formando isômeros; transferência de grupos – quando um grupo funcional é transferido de uma molécula para outra; hidrólise – quando ocorre a quebra de ligações pela adição de água; e adição ou remoção de grupos funcionais – quando grupos funcionais são adicionados ou retirados da molécula, transformando-a. As reações metabólicas são reguladas pelo controle da quantidade de enzimas que participam das reações, por suas atividades catalíticas e pelo acesso da enzima ao substrato.

O metabolismo é imprescindível para a sobrevivência do organismo. É por meio das reações que o compõem que o indivíduo é capaz de obter energia dos alimentos, produzir macromoléculas e sustentar o seu desenvolvimento.

1.3.2 O ATP como moeda energética

As reações químicas são classificadas como endotérmicas e exotérmicas. As reações exotérmicas liberam energia no ambiente na forma de calor; já as reações endotérmicas necessitam de energia para que possam ocorrer. Em sistemas não biológicos, é fácil a manipulação da energia, sob a forma de calor, para acelerar uma reação, ou para fazer uma reação que normalmente não aconteceria ocorrer. Para inibirmos uma reação basta diminuirmos sua temperatura; para acelerá-la, basta aquecermos o meio reacional.

Nos organismos vivos isso não é possível, pois esses são sistemas isotérmicos e, por isso, necessitam de energia química para ocorrer. Nos organismos, as reações que necessitam de energia são chamadas endergônicas e aquelas espontâneas, que geram energia livre, são denominadas exergônicas. Para que reações endergônicas possam ocorrer, é preciso que, ao mesmo tempo, também ocorra uma reação exergônica, a qual fornecerá a energia necessária. Nos seres vivos, esse mecanismo é denominado **acoplamento**.

A forma mais fácil de acoplamento de reações é a formação de uma molécula energética em uma reação exergônica a ser utilizada como fonte de energia em uma reação endergônica, que será a responsável pela transferência de energia. Em todos os organismos, essa molécula é o ATP. O ATP é um nucleosídeo trifosfato que contém a base nitrogenada adenina, uma ribose e seus três grupos fosfatos.

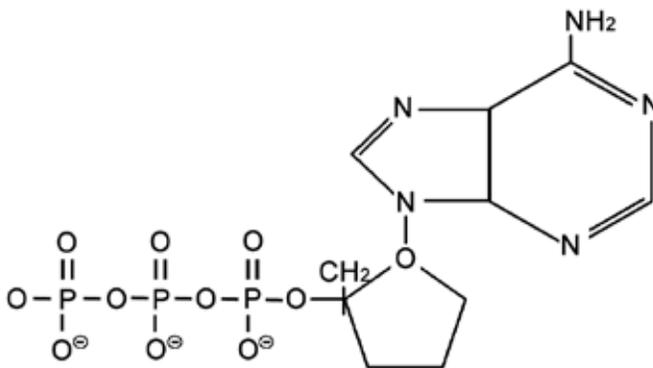


Figura 1.21. Molécula de ATP.

O ATP é capaz de produzir um ciclo de hidrólise e fosforilação entre ele e seu análogo, a adenosina difosfato (**ADP**). A hidrólise do ATP gera energia e ADP; por conseguinte, a fosforilação do ADP consome energia e produz ATP. Esse ciclo é o processo fundamental de troca de energia entre sistemas biológicos.

O ATP é formado em três grandes processos metabólicos: na fosforilação oxidativa, na glicólise e no ciclo de Krebs.

1.3.3 Metabolismo dos carboidratos

A glicose é capaz de atender a todas as demandas energéticas de algumas células. Apesar de a glicose não ser consumida diretamente, pode ser obtida em nossa dieta mediante a quebra de outros açúcares maiores, como

o amido e a sacarose. Os animais e o homem se enquadram no grupo dos **organismos quimiotróficos**, aqueles que obtêm energia por intermédio de reações químicas. A energia é produzida pela oxidação de moléculas para a geração final de ATP, importante moeda energética para o organismo, como mencionado. Existem organismos, porém, que não obtêm energia dessa forma. São os chamados **organismos fototróficos**, que produzem ATP utilizando energia luminosa. Esses organismos fazem **fotossíntese**, realizada por bactérias verdes e púrpuras – as cianobactérias –, algas e plantas, e seu nome decorre da capacidade dessa reação de produzir carboidratos, pela adição de CO_2 a moléculas orgânicas, mediante a catálise da luz.

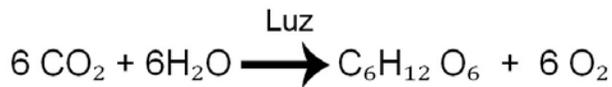


Figura 1.22. Reação da fotossíntese.

1.3.3.1 Glicólise

A glicólise é a via metabólica que transforma glicose em **piruvato**. É uma via anaeróbica responsável pela produção de duas moléculas de piruvato e de duas moléculas de ATP. Nos mamíferos, a glicose é fonte de energia utilizada pelas células do cérebro e pelas hemácias. O piruvato formado nessa via pode ser metabolizado de forma anaeróbia, a partir das fermentações láctica e alcoólica, ou de forma aeróbia, no caso da fosforilação oxidativa, quando haverá formação de um número maior de ATPs. A glicólise é uma via comum tanto em organismos procariotos quanto em organismos eucariotos e ocorre no citoplasma da célula.

A glicólise se inicia com a entrada da glicose na célula através de receptores específicos para ela, denominados **glut**. Os receptores glut 1 e 3 são independentes de insulina e responsáveis pela captação basal de glicose na maior parte das células. O receptor glut 2 está presente no fígado e no pâncreas,

e só transporta glicose em concentrações muito altas. O receptor glut 4, que está presente no tecido adiposo e muscular, depende de insulina para ser colocado na membrana plasmática. Já o cérebro é independente de insulina, necessitando de uma entrada constante de glicose.

Após a entrada da glicose na célula, ela deve ser modificada para que não possa sair. Para isso, é fosforilada pelo ATP, formando o composto glicose-6-fosfato. Essa reação é catalisada pela enzima **hexoquinase**. O fosfato adicionado à glicose não permite que ela passe pela membrana plasmática, pois confere à glicose carga negativa.

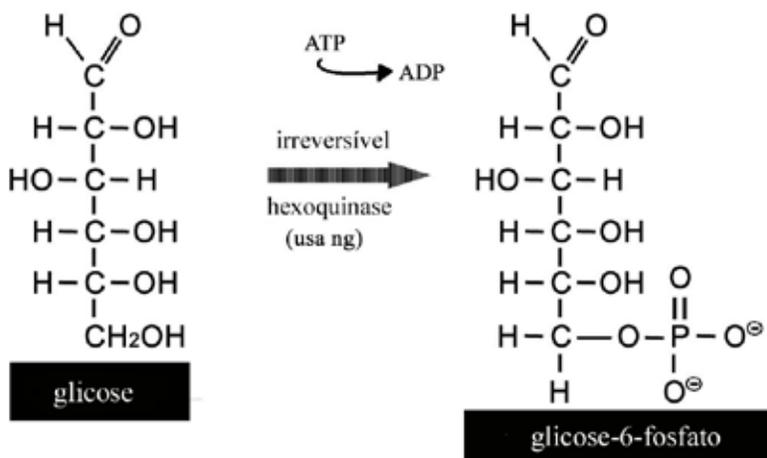


Figura 1.23. Fosforilação da glicose pela hexoquinase.

A próxima reação consiste na isomerização da glicose à **frutose**. Para isso, a enzima responsável pela reação necessita abrir o anel, transformar a aldose da glicose em uma cetose e novamente fechar o anel glicosídico. A enzima responsável por essa etapa é a **fosfoglicose isomerase**. A frutose-6-fosfato é então novamente fosforilada pelo ATP para formar a frutose-1,6-bisfosfato com o auxílio da **fosfofrutoquinase do tipo 1 (PFK-1)**. Por ser uma enzima alostérica, essa reação é um dos pontos de regulação da glicólise.

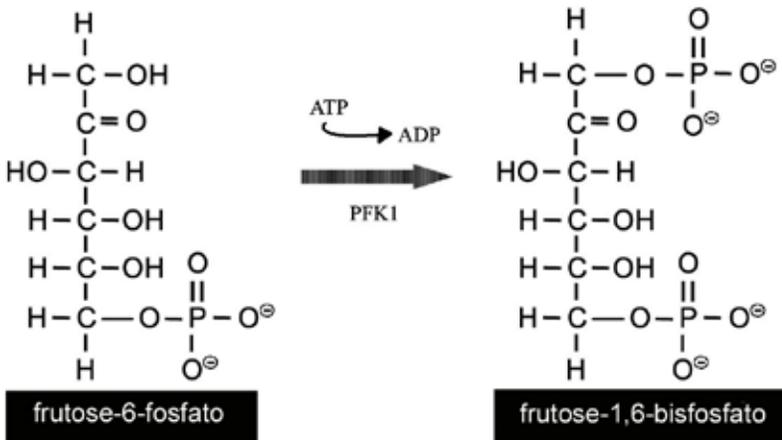


Figura 1.24. Fosforilação da frutose-6-fosfato para a formação da frutose-1,6-bisfosfato.

A partir dessa fase, a glicólise envolverá reações com compostos de três carbonos; por isso, a frutose-1,6-bisfosfato deve ser clivada em duas moléculas. Essa reação é catalisada pela **aldolase**, ocorrendo então a formação da diidroxicetona fosfato e do gliceraldeído-3-fosfato.

Após a ação da aldolase, dois fragmentos de três carbonos são formados para sua pronta utilização na obtenção de ATP. O único problema é que a diidroxicetona não é utilizada na glicólise; por isso, é necessário que seja interconvertida a gliceraldeído-3-fosfato. Essa isomerização é catalisada pela enzima **triose fosfato isomerase**, numa reação rápida e reversível. Assim, são formadas duas moléculas de gliceraldeído-3-fosfato. O gliceraldeído-3-fosfato também pode ser convertido em diidroxicetona; para que isso não ocorra, ele é logo consumido, e a conversão da diidroxicetona para aldeído é favorecida.

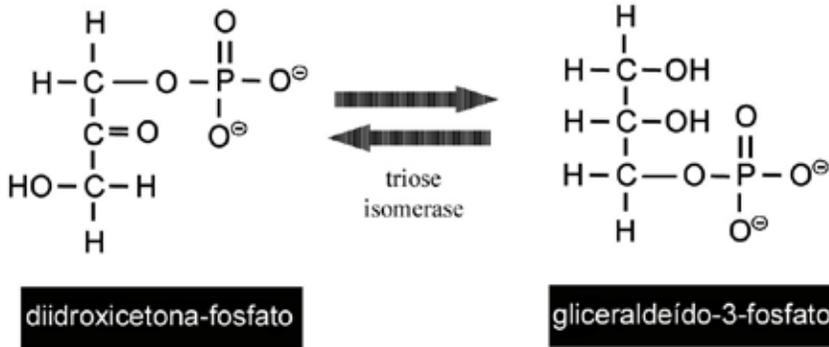


Figura 1.25. Isomerização da diidroxicetona-fosfato ao gliceraldeído-3-fosfato.

Até agora, nenhuma molécula de ATP foi sintetizada, tendo sido apenas consumidas duas moléculas. As próximas reações fazem parte da etapa de obtenção de energia. As duas moléculas de gliceraldeído-3-fosfato são transformadas em 1,3-bisfosfoglicerato (1,3-BPG), em uma reação catalisada pela gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase.

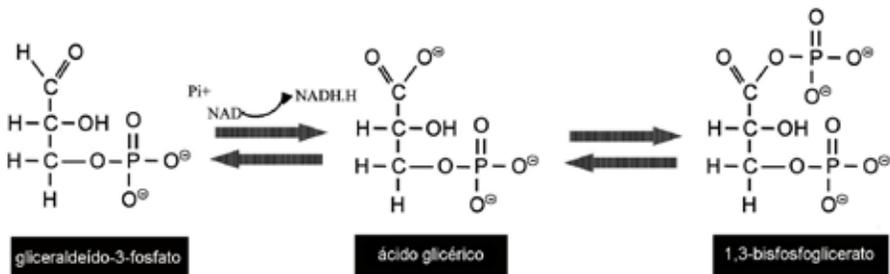


Figura 1.26. Formação do 1,3-bisfosfoglicerato.

A partir do 1,3-bisfosfoglicerato, ocorre a formação de um ATP, em uma reação catalisada pela **fosfoglicerato quinase**. Essa é a primeira reação da glicólise, quando ocorre a formação de ATP. Essa reação tem como produto, além do ATP, o 3-fosfoglicerato.

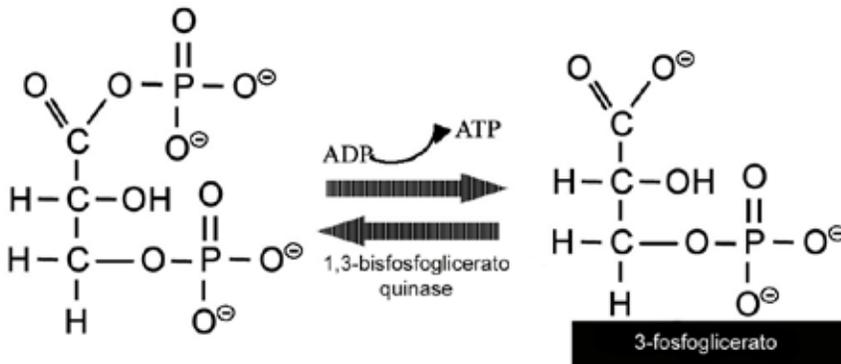


Figura 1.27. Primeira reação com produção de ATP.

Para a formação de ATP, ainda ocorrerão outras reações. A primeira é uma reação de rearranjo, catalisada pela **fosfoglicerato mutase**, quando o fosfato do 3-fosfoglicerato é transferido do carbono três para o carbono dois, formando o 2-fosfoglicerato.

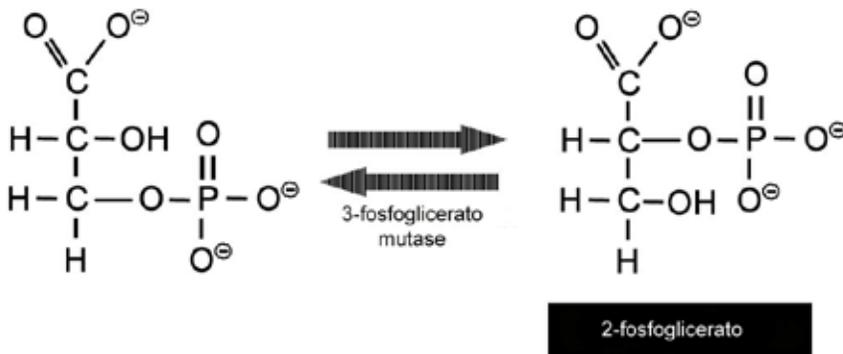


Figura 1.28. Formação do 2-fosfoglicerato.

Em seguida, uma desidratação catalisada pela **enolase** forma o fosfoenolpiruvato, no qual o grupo fosfato fica localizado no carbono do enol.

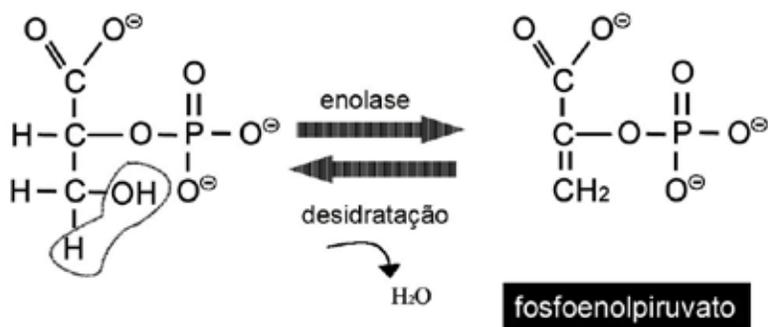


Figura 1.29. Formação do fosfoenolpiruvato por desidratação catalisada pela enolase.

O grupo fosfato do fosfoenolpiruvato é finalmente transferido para uma molécula de ADP, com concomitante formação de ATP. Essa reação é catalisada pela **piruvato quinase**. Em condições celulares, essa reação é irreversível e possui participação na regulação dessa via.

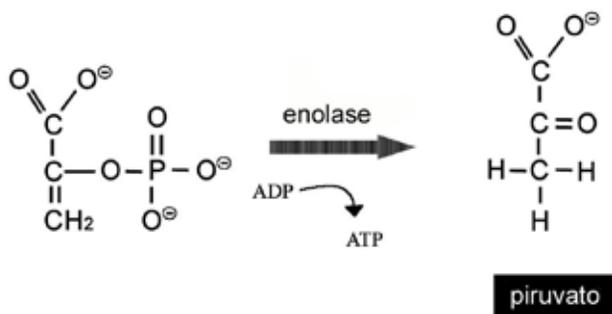


Figura 1.30. Formação do piruvato e de ATP.

Os ATPs formados são quatro, sendo dois consumidos nas etapas iniciais da glicólise, tendo um balanço final positivo de duas moléculas de ATP na glicólise. Essa via também produz duas moléculas de piruvato, que serão os substratos iniciais para as próximas vias metabólicas. Durante a glicólise, também são reduzidas duas moléculas de NAD^+ , formando nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH). O NADH é um aceptor intermediário dos elétrons formados nas reações de oxidação da via. Sua quantidade

limita a via e, por isso, o NADH deve ser constantemente regenerado. A regeneração dos aceptores intermediários de elétrons (NAD^+ , FAD^+ e, nas vias biossintéticas, NADP^+) ocorre nas próximas etapas de metabolização do piruvato.

O piruvato possui três caminhos finais distintos: etanol, ácido láctico (nas reações anaeróbicas) e dióxido de carbono (nas reações aeróbicas). O balanço energético final da glicólise é dado por:



Na via glicolítica, são as enzimas irreversíveis que controlam a velocidade da via. São elas **hexoquinase**, **fosfofrutoquinase** (PFK-1) e **piruvato quinase**.

Uma enzima pode ser controlada pelo seu produto, e a via, pela inibição da primeira reação pelo produto da última, evitando a formação de intermediários desnecessários.

O ATP é um grande inibidor da via glicolítica, pois é inibidor alostérico da PFK-1. Da mesma forma, ADP e a adenosina monofosfato (AMP) são reguladores positivos da via, pois aumentam a velocidade da enzima. O íon H^+ também é um inibidor da via, pois é formado na reação final de produção de piruvato. Se essa via não fosse inibida pela concentração de H^+ no meio, a diminuição do pH celular seria drástica para a célula.

A inibição da PFK-1 aumenta a concentração, no meio, de frutose-6-fosfato, que é isomerizada à glicose-6-fosfato, a qual funciona como inibidor da hexoquinase.

A piruvato quinase é inibida por ATP e alanina, dado que o piruvato se transforma em alanina com o auxílio da **transaminase**.

1.3.3.2 Fermentação alcoólica

Em organismos anaeróbicos, as etapas de metabolização final do piruvato passam por um processo de fermentação. Os dois principais tipos de fermentação são a alcoólica e a láctica.

A fermentação alcoólica ocorre principalmente nas leveduras e em vários outros microrganismos. É um dos processos mais antigos utilizados pelo homem para a obtenção de bebidas alcoólicas, como o vinho e a cerveja. Sua primeira etapa é a descarboxilação do piruvato, pela ação da **piruvato descarboxilase**, gerando o aldeído acético, que, em seguida, é reduzido a etanol pela enzima **álcool desidrogenase**, com a concomitante formação de NAD^+ , por meio da regeneração de um NADH . Essa enzima também é responsável pelo metabolismo do etanol consumido pelo indivíduo.

Esse processo não ocorre em mamíferos. Quando ingerimos álcool, ele é degradado pela **álcool desidrogenase**, gerando aldeído acético, porém não é convertido a piruvato, pois nos mamíferos não há a presença da **piruvato descarboxilase**.

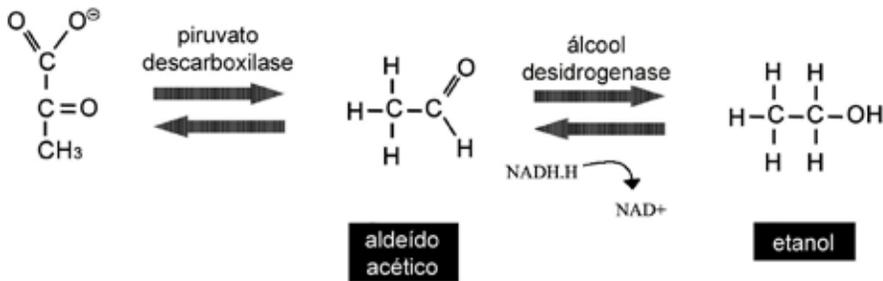


Figura 1.31. Reações da fermentação alcoólica.

1.3.3.3 Fermentação láctica

A fermentação láctica ocorre em vários microrganismos e em algumas células de organismos superiores, como os músculos, quando em exercício intenso e quantidade limitada de oxigênio.

A formação do lactato a partir do piruvato é catalisada pela **lactato desidrogenase**.



Figura 1.32. Reações da fermentação láctica.

1.3.3.4 Ciclo de Krebs

Os processos de formação de ATP pelas fermentações em condições anaeróbicas criam baixa quantidade de energia. Uma quantidade muito mais alta de energia é obtida pela degradação do piruvato em condições aeróbicas, durante o ciclo de Krebs e a fosforilação oxidativa.

○ **ciclo do ácido cítrico** – ciclo dos ácidos tricarbóxicos ou ciclo de Krebs – é a primeira etapa na obtenção de energia de forma aeróbica. Ele se inicia com a entrada da acetilcoenzima A (acetil-CoA) no ciclo. A acetil-CoA é formada pela descarboxilação oxidativa do piruvato pelo complexo **piruvato desidrogenase** na mitocôndria.

○ O ciclo de Krebs é uma sequência de reações nas quais ocorre a oxidação das moléculas de carbono, levando à liberação de elétrons que serão utilizados na cadeia respiratória para a obtenção de ATP. Ele se inicia com a entrada da acetil-CoA, que se condensa com o oxalacetato a fim de formar o citrato – que possui seis carbonos. Essa reação é catalisada pela **citrato sintase**. O citrato formado é então isomerizado ao isocitrato, pois sua carboxila precisa estar em uma posição que facilite a sua descarboxilação. Essa reação, catalisada pela enzima **aconitase**, ocorre em duas etapas: uma desidratação seguida de uma hidratação. O isocitrato formado é capaz de sofrer descarboxilação, catalisada pela **isocitrato desidrogenase**, para formar o α -cetoglutarato, um composto com cinco carbonos. O α -cetoglutarato também sofre mais uma descarboxilação, catalisada pelo complexo **α -cetoglutarato desidrogenase**, formando um intermediário, o succinilcoenzima A (succinil-CoA). Essa fase é importante pois, com a quebra da succinil-CoA, ocorre liberação de energia, formando

um GTP. O GTP pode transferir o seu P_i para um ADP, formando um ATP. É o único momento do ciclo em que ocorre a formação de um composto pronto de alta energia. O succinato, um composto de quatro carbonos, é formado em seguida, pela ação da **succinato sintetase**, e a coenzima *A* retorna ao *pool* inicial da mitocôndria.

Após isso, ocorrem reações que objetivam a regeneração do oxaloacetato. O succinato sofre uma série de reações de oxidação, hidratação e uma segunda oxidação para a formação do oxaloacetato. Na primeira etapa de oxidação, ocorre a regeneração de uma $FADH_2$ e a formação do fumarato, pela ação da enzima **succinato desidrogenase**. Essa enzima é muito utilizada em testes de quantificação celular pelo MTT (brometo de (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio), um sal tetrazólico que é reduzido pela enzima, formando os cristais de formazan, um produto colorido.

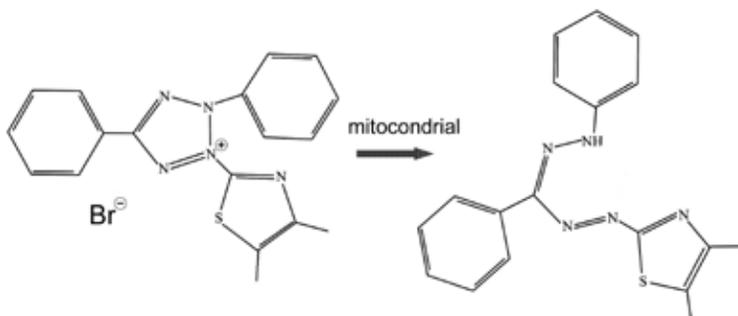


Figura 1.33. Formação dos cristais de formazan.

Em seguida, o fumarato sofre uma hidratação catalisada pela **fumarase** para formar o L-malato. É formado somente o L-malato, pois a enzima adiciona a hidroxila somente em um dos lados da molécula, formando o isômero L especificamente. Por último, o L-malato é oxidado pela **malato desidrogenase** para formar o oxaloacetato. Nessa reação, há a regeneração de uma molécula de NAD^+ . Essa reação é impulsionada pela utilização, no início do ciclo, do oxaloacetato, que é condensado a uma unidade acetila da acetil-CoA, permitindo a entrada de dois carbonos no ciclo.

A síntese do fosfoenolpiruvato a partir do piruvato ocorre *in vitro*, mas é incapaz de ocorrer *in vivo*. O grande regulador do ciclo é o ATP, produto final do ciclo sintetizado na cadeia respiratória. Não há formação propriamente dita de ATP no ciclo de Krebs, mas os NADH e FADH_2 acabam por gerá-lo quando se regeneram. Por isso o ciclo de Krebs está sujeito aos controles de concentração $[\text{ATP}/\text{ADP}]$, $[\text{NADH.H}/\text{NAD}^+]$ e $[\text{FADH}_2/\text{FAD}^+]$. Na fosforilação oxidativa, são geradas cerca de 2,5 ATP por NADH e 1,5 ATP por FADH_2 . Apesar de o oxigênio não participar diretamente do ciclo de Krebs, esse é um ciclo estritamente aeróbico, dado que os NAD^+ e os FAD necessários ao ciclo só podem ser regenerados na mitocôndria quando transferem seus hidrogênios para o oxigênio.

Assim como na glicólise, os pontos de controle são as reações das enzimas irreversíveis. Um dos principais controles do ciclo ocorre na reação catalisada pela enzima piruvato desidrogenase. Nessa reação, há a formação da acetil-CoA por meio do piruvato obtido na glicólise. Essa reação não é reversível nos animais e, por isso, a partir desse ponto, os carbonos da glicose utilizada só podem entrar no ciclo de Krebs ou para formar energia ou para ser transferidos para a síntese de ácidos graxos. Por isso, altas concentrações de seus produtos (acetil-CoA, NADH e, indiretamente, o ATP) inibem a sua reação. Outros mecanismos também são utilizados para a sua regulação.

O ciclo de Krebs é regulado pelo nível energético da célula; por isso, altas concentrações de ATP inibem as enzimas alostéricas (isocitrato desidrogenase e α -cetoglutarato desidrogenase), além de seus produtos de reação respectivamente. O ciclo de Krebs nunca para; portanto, substâncias que inibam as enzimas desse ciclo podem ser fatais para a célula. Ele também fornece precursores de biossíntese.

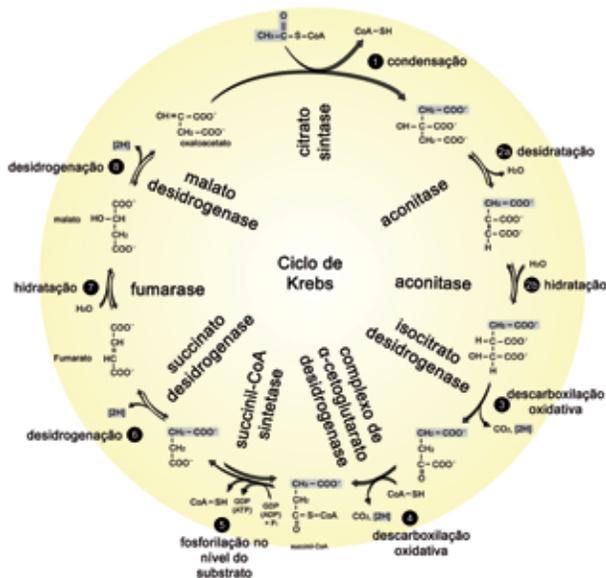


Figura 1.34. Reações do ciclo de Krebs.

1.3.3.5 Cadeia respiratória ou fosforilação oxidativa

A fosforilação oxidativa é o processo pelo qual os NADH e os FADH_2 formados na oxidação dos ácidos graxos, na glicólise e no ciclo de Krebs são regenerados. Como suas concentrações celulares são muito baixas, os NADH e os FADH_2 devem ser constantemente regenerados para retornarem à cadeia metabólica. Eles entregam seus elétrons ao receptor final, o oxigênio, gerando água e uma força eletromotriz responsável pela síntese de ATP. É na fosforilação oxidativa que ocorre a formação de uma grande quantidade de ATP na célula, por meio da oxidação de uma molécula de glicose, com concomitante formação de CO_2 e água.

A fosforilação oxidativa ocorre na membrana interna da mitocôndria. A **mitocôndria** é uma organela formada por duas membranas principais: a interna e a externa. A membrana externa é permeável aos conteúdos citoplasmáticos. Por isso, costuma-se dizer que o espaço entre a membrana interna e a externa da mitocôndria, denominado espaço intermembranar, é uma continuação do citoplasma. Já a membrana interna é muito seletiva, e a entrada de substâncias nela necessita de um transportador específico. Ela é muito extensa e se dobra dentro da mitocôndria, formando estruturas denominadas de cristas. O espaço delimitado pela membrana interna é denominado matriz mitocondrial.

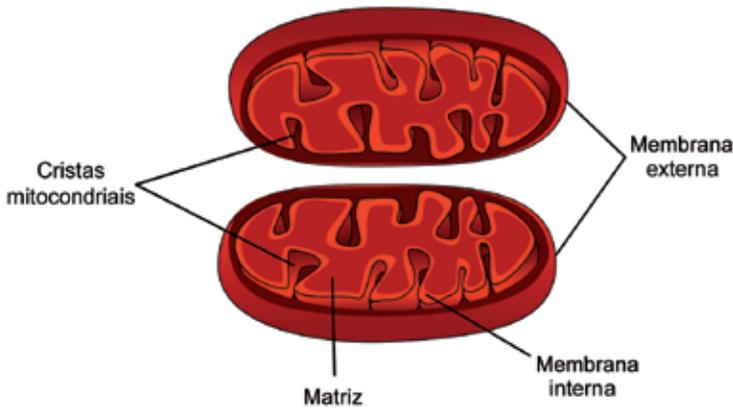


Figura 1.35. Estrutura da mitocôndria.

A cadeia respiratória é um processo do qual participam quatro complexos proteicos e dois carreadores, responsáveis pela transferência dos elétrons até o oxigênio, que é o aceptor final. Esses complexos são denominados NADH-coenzima Q oxidorreductase (complexo I), succinato-coenzima Q oxidorreductase (complexo II), coenzima Q-citocromo c oxidorreductase (complexo III) e citocromo c oxidase (complexo IV). Os carreadores são a ubiquinona e o citocromo c. O último complexo, no qual se dá a síntese do ATP, será abordado mais adiante. O fluxo de elétrons entre os complexos proteicos transmembranares é que leva ao transporte de prótons através da membrana interna da mitocôndria.

Inicialmente, o NADH se aproxima do complexo I e transfere seus elétrons para o grupamento prostético desse complexo, a flavina mononucleotídeo (FMN), reduzindo-a à FMNH_2 . Por sua vez, a flavina transfere seus elétrons para uma série de aglomerados ferro-enxofre (Fe-S), um segundo tipo de grupo prostético do mesmo complexo. Essa transferência faz todo o complexo I assumir uma forma reduzida. O NAD^+ reoxidado fica livre para ser novamente utilizado. Com a formação do NAD^+ , ocorre a saída de H^+ da matriz mitocondrial, o que deixa o espaço intermembranar mais ácido.

O carreador **ubiquinona** se aproxima do complexo I, recebendo seus elétrons e regenerando o complexo para que esse possa receber novos elétrons.

Por ser hidrófoba, a ubiquinona se difunde para dentro da matriz, através da membrana mitocondrial interna. A ubiquinona também é capaz de receber elétrons do complexo II, regenerando o FADH_2 gerado pela succinato desidrogenase no ciclo de Krebs. Para a ubiquinona, a reação de transferência de elétrons está diretamente ligada à liberação de prótons, uma propriedade importante para o transporte de H^+ através da membrana.

A ubiquinona transfere os elétrons tanto do complexo I quanto do complexo II para o complexo III, que apresenta como grupos prostéticos os citocromos b e c. O citocromo c, uma proteína pequena e solúvel, carrega os elétrons do complexo III para o complexo IV. Essa transferência bombeia para fora da matriz mitocondrial dois prótons. Assim, a ubiquinona é oxidada e pode ser reutilizada.

Finalmente, o complexo IV catalisa a redução do oxigênio molecular à água, utilizando os prótons provenientes da matriz mitocondrial. Para que ocorra a síntese de ATP, é necessária a ação da F_0F_1 ATPase, também chamada complexo V, um agregado enzimático presente na membrana mitocondrial interna. A síntese se dá por causa do gradiente de prótons formado entre a matriz mitocondrial e o espaço intermembranar. Esse gradiente é formado com a redução do oxigênio à água, quando prótons são lançados para o espaço intermembranar, tornando-o mais ácido. O retorno desses prótons se dá através do canal formado pela porção F_0 do complexo proteico. O ATP é formado por meio da fosforilação de ADP, reação catalisada pela porção F_1 do complexo V.

1.3.3.6 Metabolismo do glicogênio

Alguns órgãos do corpo são incapazes de sobreviver sem a entrada de glicose em suas células. Porém, nem sempre ela está disponível no sangue nas concentrações ideais para ser captada e utilizada na produção de energia. A fim de que órgãos como o cérebro não fiquem sem o seu abastecimento de glicose, o organismo possui mecanismos de armazenamento da glicose, sob a forma de glicogênio, para momentos de jejum. O **glicogênio** é um polímero de glicose formado por ligações glicosídicas do tipo α -1,4. Ele possui várias

ramificações, que se repetem a cada dez oses e que são formadas por ligações do tipo α -1,6. O glicogênio é principalmente armazenado no fígado, mas também está presente nos músculos esqueléticos.

Apesar de fornecer uma quantidade menor de energia quando comparado aos ácidos graxos, ao ser oxidado, o glicogênio é liberado no sangue à medida que a taxa de glicemia diminui. Isso o faz funcionar como um tampão de glicose sanguínea, impedindo a falta de glicose para os órgãos que a utilizam como fonte de energia somente. O glicogênio é uma fonte de glicose que pode ser liberada com muita rapidez, e por isso é muito importante em atividades extremas e repentinas.

Para ser utilizado, o glicogênio deve ser quebrado. Isso ocorre em três etapas: a enzima **glicogênio fosforilase** quebra as ligações α -1,4 do glicogênio e a **α -1,6 glicosidase** quebra as ligações α -1,6, que liberam, no meio, a glicose-1-fosfato, posteriormente transformada em glicose-6-fosfato pela **fosfoglicomutase**. A quebra do glicogênio é energeticamente vantajosa para a célula, dado que a molécula de glicose formada já vem fosforilada. Isso ocorre porque a quebra é uma clivagem fosforolítica, na qual a enzima fosforila para clivar o glicogênio.

Já a **síntese do glicogênio**, ao contrário do que se possa imaginar, não é o inverso de sua quebra. Para que o glicogênio seja sintetizado, há necessidade da presença de uridina difosfato glicose (UDP-glicose). A UDP-glicose funciona como um doador ativado de glicose na síntese do glicogênio, quando é adicionada às extremidades das cadeias de glicogênio pela ação da enzima glicogênio sintase. Essa enzima, porém, só é capaz de adicionar essas subunidades de glicose se a cadeia poliosídica contiver mais de quatro oses. Assim, a síntese, bem como a duplicação do DNA, necessita de um *primer*.⁵ Quem executa esse papel é a glicogenina, uma proteína que contém duas subunidades, cada uma delas ligada a um oligosídeo de unidades α -1,4 de glicose. As ramificações, ligações α -1,6, são feitas por uma enzima ramificadora, e sua importância reside no fato de aumentarem a solubilidade do glicogênio, além de criarem um grande número de radicais terminais, que são locais onde as enzimas de degradação do glicogênio agem. Para que não ocorram, ao mesmo

⁵ Molécula iniciadora.

tempo, a síntese e a degradação do glicogênio, existe uma regulação hormonal por glucagon e insulina – ou, no músculo, por adrenalina. Quando a adrenalina aumenta, dispara a cascata de AMP cíclico, que ativa a fosforilase quinase. Essa fosforila a glicogênio sintase, deixando-a inativa. Nesse momento, a quebra de glicogênio é preferível. Isso também ocorre quando há um aumento de glucagon. Na presença de insulina, a glicogênio sintase é desfosforilada por uma fosfatase, tornando-se ativa e, assim, sintetizando glicogênio.

O músculo utiliza glicogênio em suas atividades (quando há necessidade imediata de energia extra), e a quebra de glicogênio nele é independente do estado alimentar do indivíduo. Já o fígado é responsável pela liberação de glicose no sangue, e a síntese e a degradação do glicogênio nesse órgão estão diretamente ligadas à presença ou não de glicose no sangue.

1.3.3.7 Gliconeogênese

A gliconeogênese é o processo pelo qual há a transformação de compostos não glicídicos (contendo no máximo três carbonos) em glicose, processo que ocorre nos animais, vegetais e em microrganismos. Nos mamíferos, a gliconeogênese ocorre principalmente no fígado e, em menor extensão, em células do córtex renal.

Na via glicolítica, a transformação de glicose em piruvato tem papel fundamental na obtenção final de energia. Na gliconeogênese, ocorre a formação de glicose a partir do piruvato. Apesar disso, essa via não é o inverso da glicólise, e enzimas diferentes participam dos processos na gliconeogênese. Assim, mesmo que as duas vias apresentem reações reversíveis compartilhadas (sete das dez reações da gliconeogênese são inversões das reações da glicólise), sempre haverá um passo enzimático exclusivo de cada uma delas. A estimulação de uma via sempre gera inibição da outra, mesmo que seus controles sejam feitos por enzimas distintas.

Existem três reações da gliconeogênese que contornam os passos irreversíveis da glicólise (conversão da glicose em glicose-6-fosfato, fosforilação da frutose-6-fosfato em frutose-1,6-bisfosfato e conversão do fosfoenolpiruvato em piruvato). Tais reações são específicas dessa via e são responsáveis por sua regulação. Seguindo a via glicolítica em seu inverso, o primeiro passo que

deve ser contornado pela gliconeogênese é a formação de piruvato a partir do fosfoenolpiruvato. Sua síntese se dá pela ação da enzima **piruvato quinase**, com concomitante formação de ATP. Como é uma reação irreversível, são necessárias, na gliconeogênese, participações de novas enzimas para reverter a conversão.

O piruvato utilizado no início da gliconeogênese pode ser aquele formado na glicólise no citoplasma. Em seguida, ele é transportado para dentro da mitocôndria ou pode ser obtido na mitocôndria por meio da desaminação da alanina. A enzima **piruvato descarboxilase**, uma enzima mitocondrial que requer a biotina como coenzima, converte, então, o piruvato a oxaloacetato, com concomitante formação de ADP e Pi. São dois os caminhos que o oxaloacetato formado pode seguir. Ele pode ser convertido a malato pela **malato desidrogenase**, com consumo de NADH, e sair da mitocôndria através do transportador malato- α -cetoglutarato, presente na membrana mitocondrial interna, sendo, no citoplasma, novamente reoxidado a oxaloacetato, com a formação de NADH citosólico (processo essencial na manutenção do equilíbrio entre a produção e o consumo de NADH no citoplasma). Ou pode ser convertido a fosfoenolpiruvato dentro da mitocôndria, pela ação da enzima **fosfoenolpiruvato carboxiquinase**, numa reação que necessita de Mg^{+2} e de GTP, como doador de fosfato.

A próxima etapa irreversível da glicólise que precisa ser contornada na gliconeogênese é a fosforilação da frutose-6-fosfato pela fosfofrutoquinase 1 (PFK-1). Para contorná-la, novamente ocorre a ação de uma enzima específica da gliconeogênese, que não participa da via glicolítica. Nesse caso, a formação de frutose-6-fosfato a partir de frutose-1,6-bisfosfato é catalisada pela enzima **frutose-1,6-bisfosfatase**, que promove a hidrólise do fosfato do carbono 1.

A última etapa irreversível da glicólise é a fosforilação da glicose em glicose-6-fosfato pela **hexoquinase**. Essa fosforilação impede que a glicose saia da célula. A gliconeogênese tem como objetivo restaurar os níveis de glicose sanguínea e, por isso, é extremamente necessário que a glicose formada na via seja liberada pela célula. Para tal, é necessário desfosforilar a glicose-6-fosfato. Essa reação hidrolítica é catalisada pela **glicose-6-fosfatase**, numa

reação que gera glicose livre e um grupo fosfato. A glicose-6-fosfatase é encontrada nos hepatócitos e depende de Mg^{+2} como cofator. Ela não está presente nos músculos ou no cérebro, uma vez que a gliconeogênese não ocorre nesses tecidos. A glicose formada por essa via no fígado é liberada no sangue para ser utilizada pelo cérebro e pelos músculos.

Como não se trata de uma via inversa à via glicolítica, seu consumo de ATP não é o mesmo produzido nessa via. Na gliconeogênese são necessários dois ATPs e dois GTPs para a formação de glicose; além disso, por ser uma via muito custosa ao organismo, ela é irreversível dentro das condições intracelulares. Muitos outros intermediários podem ser utilizados para formar oxaloacetato e entrar na gliconeogênese. Substâncias do ciclo de Krebs – como o citrato, o isocitrato, o α -cetogluturato, o succinato, o fumarato e o malato – podem ser convertidas a oxaloacetato, para posterior formação de fosfoenolpiruvato. Alguns aminoácidos, como a alanina e o glutamato, também são capazes de ser convertidos em glicose; por isso, são chamados de aminoácidos glicogênicos. Os ácidos graxos não são capazes de ser transformados diretamente em glicose pela gliconeogênese, mas, indiretamente, auxiliam a gliconeogênese, dado que a oxidação dos ácidos graxos, quando liberados no jejum, fornece uma boa parte do ATP e NADH necessários para auxiliar energeticamente a gliconeogênese.

A gliconeogênese é regulada em muitos pontos. A enzima piruvato carboxilase é ativada pelo excesso de acetil-CoA, que indica estar a célula produzindo energia e já não ser necessária a transformação da glicose em ATP, podendo a glicose ser armazenada. Assim, a glicose pode ser produzida pela gliconeogênese para, posteriormente, ser armazenada na forma de glicogênio. Outro ponto de regulação é a reação catalisada pela frutose-1,6-bifosfatase, enzima ativada pela presença de ATP e citrato (produto da condensação de oxaloacetato com a acetil-CoA). Esses produtos indicam excesso de energia na célula e novamente a síntese de glicose é preferida para sua posterior armazenagem.

Grande parte do controle da glicose sanguínea é realizada pelo fígado. Quando o nível de glicose sanguínea é baixo, o hormônio glucagon sinaliza ao fígado para que ele produza e libere mais glicose. O fígado faz isso esti-

mulando a quebra do glicogênio armazenado e ativando a gliconeogênese. O processo contrário também é regulado pelo fígado: quando há alta concentração de glicose no sangue, o hormônio insulina sinaliza a entrada da glicose nas células, através de transportadores específicos, e ativa a via glicolítica para a produção de energia.

1.3.3.8 Via das pentoses

A via das pentoses é uma via alternativa de oxidação de glicose. Seu objetivo é gerar NADP^+ , que auxilia nas reações de redução que ocorrem na célula. O NADP^+ também é responsável pela manutenção do ferro em sua forma reduzida (Fe^{+2}) na hemoglobina. Caso o ferro não se encontre nessa forma, a hemoglobina fica incapaz de transportar O_2 . O tripeptídeo glutationa garante que o Fe^{+2} fique nessa forma, pois oxida o NADPH em NADP^+ .

O NADPH é importante por direcionar as reações de redução no organismo. Como as formas de obtenção de energia se baseiam em oxidações, para que a energia seja armazenada, deve estar em sua forma reduzida. O NADPH é importante na biossíntese de lipídios e na síntese de colesterol – responsável pela fluidez das membranas e precursor de hormônios como a testosterona, o estrogênio e a progesterona.

A via das pentoses também gera as pentoses que serão utilizadas na síntese de DNA e de RNA (riboses). Em células tumorais e fibroblásticas, essa via está superativa.

1.3.4 Metabolismo dos ácidos graxos

Como mencionado anteriormente, os lipídios são moléculas altamente energéticas que podem ser obtidos através da dieta ou por biossíntese celular. Existem diversas vantagens em se utilizar os lipídios como substrato para obtenção de energia. Por um lado, essas moléculas são mais reduzidas do que os carboidratos e, por meio das reações de oxidação, geram mais energia; por outro lado, o fato de serem moléculas hidrofóbicas permite que o seu armazenamento não altere a osmolaridade dos fluidos orgânicos

nem esteja associado a moléculas de água, como aquelas presentes nas camadas de solvatação dos carboidratos. Para serem utilizados como fonte de energia, os triglicerídeos sofrem primeiramente a ação de lípases, que clivam a ligação éster, dando origem aos ácidos graxos livres e ao glicerol. Os carboidratos proporcionam uma fonte energética que pode ser mais rapidamente mobilizada; contudo, a maior parte da energia é estocada no organismo sob a forma de lipídios.

1.3.4.1 Síntese dos ácidos graxos

Os lipídios desempenham um número muito grande de funções no organismo: participam da estrutura das membranas biológicas, são precursores de hormônios, são cofatores enzimáticos, detergentes e mensageiros, além de serem estocados para a produção de energia. Por isso, é importante que o indivíduo seja capaz de sintetizá-los. Como todas as reações biossintéticas, a síntese de lipídios envolve reações endergônicas e de caráter redutor, utilizando o ATP como fonte de energia e o NADPH como transportador de elétrons.

A via de biossíntese de ácidos graxos não é o inverso da β -oxidação, sendo catalisada por enzimas diferentes e em compartimentos distintos da célula. A β -oxidação ocorre na mitocôndria, ao passo que a biossíntese de ácidos graxos ocorre no citoplasma. Além disso, o intermediário malonil-CoA participa da biossíntese, mas não da degradação, sendo importante na regulação da β -oxidação.

Em uma primeira etapa da síntese de lipídios, o malonil-CoA é sintetizado pela ação da **acetil-CoA carboxilase**, a partir da condensação do bicarbonato com uma molécula de acetil-CoA.

Na degradação, os transportadores de elétrons envolvidos são o NAD^+ e o FAD; na biossíntese, o transportador é o NADPH. No processo de síntese, todas as reações são catalisadas por um complexo enzimático, denominado **ácido graxo sintase**. Esse complexo enzimático é formado por proteínas que agem em conjunto, catalisando a formação de ácidos graxos a partir de acetil-CoA e malonil-CoA. Nesse complexo, uma proteína carreadora de acila

(ACP) possui a fosfopanteteína, que apresenta um SH livre como grupo prostético. Esse grupo prostético é responsável por segurar a cadeia de ácido graxo em crescimento na superfície do complexo proteico.

Inicialmente, os grupos acetil e malonil são ativados, ao se ligarem ao grupo SH da ACP. O primeiro passo da biossíntese após a ativação dos grupos acetil e malonil é a condensação entre os dois, que forma um grupo acetoacil ligado à ACP e produz uma molécula de CO_2 . Essa reação é catalisada pela β -**cetoacil-ACP sintase**. A próxima reação é a redução do grupo carbonila situado em C3 para formar D- β -hidroxibutiril-ACP, reação que é catalisada pela β -**cetoacil-ACP redutase** e que tem o NADPH como doador de elétrons. Em seguida, ocorre uma desidratação para formar a trans- Δ^2 -butenoil-ACP. A enzima que catalisa essa desidratação é a β -**hidroxiacil-ACP desidratase**. A última etapa é a redução da dupla ligação resultado da desidratação, formando o butiril-ACP pela ação da **enoil-ACP redutase**, sendo, novamente, o NADPH o doador de elétrons. A cada ciclo de condensação–redução–desidratação–redução, a cadeia de ácido graxo é aumentada de dois carbonos. A sequência de reações se repete para formar o palmitato, um ácido graxo com 16 átomos de carbono. Após a sua formação, o palmitato é liberado pela ação de uma atividade hidrolítica que existe no complexo enzimático.

Nos vegetais, ocorre a síntese de alguns ácidos graxos de cadeia maior, como os de 18 carbonos. Nos animais, a síntese de ácidos graxos ocorre principalmente no citoplasma, ao passo que, nos vegetais, ocorre nos cloroplastos.

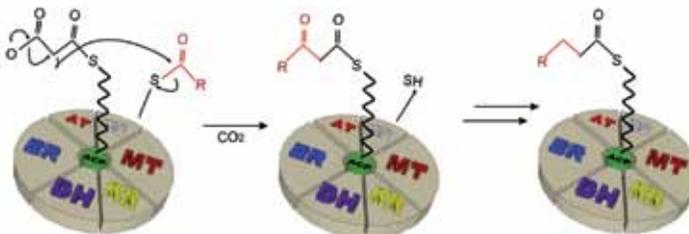


Figura 1.36. Ciclo de biossíntese de um ácido graxo.

1.3.4.2 β -oxidação

A **oxidação de ácidos graxos de cadeia longa** é uma via de grande importância na obtenção de energia, dado que os elétrons liberados nas reações entram na fosforilação oxidativa para gerar ATP. Essa reação de oxidação gera acetil-CoA, que também é capaz de gerar energia, pois é completamente oxidada a CO_2 no ciclo de Krebs.

O destino da acetil-CoA obtida na oxidação dos ácidos graxos varia em alguns organismos. Nos animais, ela é convertida, pelo fígado, em corpos cetônicos, que são combustíveis solúveis em meio aquoso, utilizados pelo cérebro e por outros tecidos quando não há glicose disponível.

Os triglicerídeos são excelentes fontes de energia, pois são formados por longas cadeias de hidrocarboneto, as quais são extremamente reduzidas e possuem alta energia de oxidação.

A gordura utilizada na obtenção de energia pode ser obtida de três formas: ingestão pela alimentação, mobilização de gordura armazenada (nos vertebrados, do tecido adiposo) e conversão de carboidratos a ácidos graxos pelo fígado.

Os ácidos graxos obtidos na alimentação são absorvidos no intestino e transportados no sangue, ligados a proteínas transportadoras. Eles podem ir para os músculos, onde serão oxidados para a obtenção de energia, ou para o tecido adiposo, onde serão reesterificados e armazenados como triacilgliceróis. Os triacilgliceróis também podem ser transportados para o fígado a fim de ser utilizados na produção de corpos cetônicos.

Os hormônios sinalizam quando o organismo necessita de energia, e os triacilgliceróis armazenados no tecido adiposo são mobilizados e transportados para os tecidos onde são necessários. Quando ocorre baixa concentração de glicose sanguínea, os hormônios epinefrina e glucagon estimulam essa mobilização. A epinefrina e o glucagon ativam uma cadeia de sinalização dentro do adipócito que leva à ativação da enzima **lipase de triacilgliceróis hormônio-sensível**. Essa enzima catalisa a hidrólise das ligações ésteres dos triacilgliceróis, formando ácidos graxos livres e glicerol. Por serem insolúveis em meio aquoso, os ácidos graxos livres são transportados pelo sangue ligados à proteína albumina. Por essa forma, são capazes de chegar aos tecidos que

necessitam de energia. O glicerol formado pela ação da lipase é fosforilado pela ação da **glicerol quinase**, formando glicerol-3-fosfato. Esse é oxidado à diidroxiacetona fosfato e, posteriormente, isomerizado, pela ação da **triose fosfato isomerase**, à gliceraldeído-3-fosfato, que entra na cadeia glicolítica para ser oxidado a piruvato.

A oxidação dos ácidos graxos ocorre na matriz mitocondrial. Porém, os ácidos graxos livres que entram na célula são incapazes de passar para o interior da mitocôndria. Para que isso seja possível, sofrem uma série de reações, que os transforma em um acil-CoA, reação que ocorre na membrana externa e que serve para ativar o ácido graxo.

Na membrana interna, a **carnitina aciltransferase I** retira o grupo CoA do acil, colocando a carnitina em seu lugar. Assim, o ácido graxo atravessa a membrana por meio de um transportador da carnitina. Já na parte interna da membrana, a enzima **carnitina aciltransferase II** retira a carnitina e recoloca o grupo CoA. A carnitina retorna ao espaço intermembranar pelo transportador. Com isso, os conjuntos de CoA citossólico e mitocondrial não se misturam, dado que o primeiro é usado na biossíntese de lipídios e o segundo, na oxidação degradativa de ácidos graxos, piruvato e aminoácidos.

Uma vez dentro da mitocôndria, o acil graxo está pronto para sofrer oxidação. A oxidação mitocondrial dos ácidos graxos ocorre em três etapas. No primeiro estágio, os ácidos graxos de cadeia longa são oxidados e sofrem remoção sucessiva de dois átomos da sua cadeia, formando várias unidades de acetil-CoA. Na segunda etapa, as moléculas de acetil-CoA, ao entrarem no ciclo de Krebs, são oxidadas à CO_2 e as moléculas de acetil-CoA obtidas na glicólise também têm o mesmo destino. Essa etapa também gera NADH e FADH_2 , que, na terceira etapa, transferem seus elétrons para a cadeia respiratória mitocondrial; com isso, os elétrons são transferidos para o oxigênio, ocorrendo também formação de ATP.

A formação de ATP se inicia a partir da desidrogenação para produzir uma ligação entre os carbonos α e β (C2 e C3). Essa oxidação gera uma dupla em configuração trans, o que é incomum nos ácidos graxos naturais. A enzima responsável por esse passo é a **acil-CoA desidrogenase**, que contém o FAD como grupo prostético. Os elétrons produzidos na oxidação são transferidos

para o FAD, que logo os transfere para a ETPF (flavoproteína transportadora de elétrons). A ETPF é uma proteína da membrana mitocondrial interna que também participa como transportadora de elétrons da cadeia respiratória – essa transferência de elétrons na primeira etapa da β -oxidação é capaz de gerar duas moléculas de ATP. Em seguida, ocorre uma hidratação: uma molécula de água é adicionada à dupla ligação trans por meio da ação da **enoil-CoA hidratase**. Nessa reação, forma-se uma 3-hidroxiacil-CoA, também chamada L- β -hidroxiacil-CoA, pois há a formação do isômero L e a introdução da hidroxila ocorre no carbono β – carbono adjacente ao carbono ligado ao grupo funcional. Posteriormente, o produto anterior é desidrogenado e, pela ação da **β -hidroxiacil-CoA desidrogenase**, forma-se a β -cetoacil-CoA. Essa enzima utiliza o NAD^+ como receptor de elétrons; além disso, ela também é muito específica para o isômero L. O NADH formado transfere seus elétrons ao complexo I da cadeia respiratória para posterior síntese de ATP. Na última etapa da oxidação dos ácidos graxos, ocorre o rompimento de duas unidades de carbono da molécula de ácido graxo. Esse passo resulta da ação da acil-CoA acetiltransferase, também conhecida como tiolase. Essa enzima promove a reação entre a β -cetoacil-CoA e uma molécula de CoA, reação que tem, como produtos finais, a acetil-CoA e o tioéster da coenzima A e do ácido graxo original, diminuído de dois carbonos. Essas etapas se repetem até a degradação total do ácido graxo. As moléculas de acetil-CoA formadas nas etapas da β -oxidação podem ser totalmente oxidadas no ciclo de Krebs, para posterior síntese de ATP.

Essas etapas ocorrem apenas em ácidos graxos de cadeia simples. Porém, é comum a ocorrência de **ácidos graxos com cadeia insaturada** (ligações duplas cis). Para que possam ser metabolizados, ocorrem etapas adicionais que vão variar no caso de ácidos graxos mono ou poli-insaturados. Nos pontos da molécula onde há ligações simples, a β -oxidação ocorre normalmente. No momento em que a reação chega a uma dupla ligação cis, que não pode sofrer a ação da enoil-CoA hidratase, entram em ação as enzimas que participam dessas duas etapas adicionais. Primeiramente, a **enoil-CoA isomerase** transforma a ligação cis em trans, que é convertida pela **enoil-CoA hidratase** na L- β -hidroxiacil-CoA correspondente. Essa reação é uma alternativa na

oxidação de ácidos graxos monoinsaturados. No caso de **ácidos graxos poli-insaturados**, é necessária a utilização de outra enzima. Isso porque, para a oxidação ocorrer, a ligação deve estar em posição *trans* e não *cis*. Nos poli-insaturados, também há a ação da enoil-CoA isomerase na dupla ligação mais próxima ao carbono α (carbono situado ao lado do carbono do grupo funcional). Com isso, essa molécula sofre mais um ciclo de oxidação, liberando uma molécula de acetil-CoA, além de sofrer a primeira reação do segundo ciclo de oxidação. A ação conjunta da **2,4-dienoil-CoA redutase** e, novamente, da enoil-CoA isomerase permite a mudança da configuração das ligações para que elas possam novamente entrar no ciclo de oxidação e gerar acetil-CoA.

Essa primeira etapa na oxidação dos ácidos graxos é diferente para os ácidos graxos de cadeia par e para os ácidos graxos de cadeia ímpar. Apesar de os ácidos graxos de cadeia par serem mais comuns do que os de cadeia ímpar, também é possível encontrar como fonte de lipídios os de cadeia ímpar.

Os **ácidos graxos de cadeia ímpar** são, inicialmente, oxidados da mesma forma que os ácidos graxos de cadeia par; nas últimas reações, porém, haverá um acil-CoA graxo de cinco carbonos. Quando ele é clivado novamente, forma-se acetil-CoA e propionil-CoA. A acetil-CoA é prontamente utilizada pelo ciclo de Krebs, mas o propionil-CoA não. Ele necessita de uma via particular para a sua oxidação total.

Nessa via, o propionil-CoA é primeiramente carboxilado, formando o isômero D-metilmalonil-CoA pela ação da **propionil-CoA carboxilase**. O produto formado é então epimerizado ao isômero L pela **metilmalonil-CoA epimerase** e, em seguida, sofre um rearranjo intramolecular, formando o succinil-CoA, que pode, agora, participar do ciclo de Krebs. Essa reação é catalisada pela **metilmalonil-CoA mutase**, que possui como cofator a desoadenosilcobalamina – coenzima B12, derivada da vitamina B12.

O acil-CoA graxo formado no citoplasma das células pode entrar na mitocôndria para ser oxidado na via da β -oxidação ou ser transformado em triacilglicerol e fosfolípido por enzimas do citoplasma. O que regula a oxidação é a velocidade com que esses acil-CoA graxos entram na mitocôndria. Um excesso de malonil-CoA, primeiro intermediário da biossíntese dos ácidos

graxos, aumenta sempre que o nível de glicose no sangue está alto, pois o excesso de glicose não metabolizado ou não convertido em glicogênio é transformado em ácidos graxos para posterior estocagem. O malonil-CoA inibe a carnitina acil transferase I, enzima responsável pela entrada desses acil-CoA graxos na mitocôndria para serem oxidados, diminuindo a degradação de lipídios pelo organismo.

A β -oxidação também ocorre nos peroxissomos. Ela é necessária na síntese de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Nos humanos e na maioria dos mamíferos, a acetil-CoA formada na β -oxidação possui outra via distinta além do ciclo de Krebs. Ela pode ser convertida aos chamados corpos cetônicos (acetoacetato, D- β -hidroxibutirato e acetona), que servem como combustível para outros tecidos e que são oxidados pelo ciclo de Krebs para fornecer energia. Os tecidos que mais utilizam os corpos cetônicos são os músculos esqueléticos, cardíaco e o córtex renal. O cérebro, quando em baixa de glicose, pode utilizar os corpos cetônicos como energia alternativa; essa, porém, não é a melhor forma de obtenção de energia para esse órgão. A acetona é o único corpo cetônico que é expelido na respiração e não é utilizado como fonte de energia. A produção de corpos cetônicos é estimulada em situações de jejum severo e de diabetes não controlado.

1.3.5 Metabolismo das proteínas

As proteínas são constantemente produzidas e degradadas. Sua síntese e degradação dependem das necessidades das células. Um maquinário celular imenso está diretamente relacionado com o metabolismo proteico. Estima-se que cerca de 400 g de proteínas sejam renovadas por dia em um ser humano adulto. A quantidade ideal de determinada proteína no organismo é mantida pelo balanço perfeito entre a sua síntese e a sua degradação.

1.3.5.1 Síntese proteica

As proteínas são as principais estruturas celulares; elas participam de todas as atividades celulares. Sua síntese se dá no citoplasma, e as estruturas

responsáveis por esse processo são os ribossomos. Na síntese proteica, estão envolvidas muitas proteínas, enzimas, RNAs e o próprio DNA. As proteínas são formadas com base em moldes diretos do DNA, que são levados ao citoplasma através do RNA.⁶

Após a sua síntese, as proteínas podem sofrer modificações a fim de exercerem suas funções. Tais modificações, chamadas modificações pós-traducionais, incluem, entre outras, a adição de açúcares, de lipídios e de grupos prostéticos, e a formação de pontes dissulfeto. Cada modificação será específica e auxiliará a proteína a exercer a função à qual se destina.

1.3.5.2 Degradação proteica

A degradação de proteínas é um processo constante na célula. Proteínas defeituosas ou com tempo de vida curto são degradadas a cada momento. É o processo de degradação que regula o tempo de vida de uma proteína. Nos eucariotos, com exceção de algumas proteínas – como a hemoglobina, que está presente durante todo o período de vida de uma hemácia –, as proteínas se degradam muito rapidamente.

As proteínas defeituosas e com tempo de vida curto são degradadas por sistemas dependentes de ATP, ao passo que as proteínas de membrana, extracelulares e com tempo de vida longo são degradadas nos lisossomos.

Nos procariotos, o sistema de degradação dependente de ATP é, na realidade, uma enzima, denominada La, que é ativada somente em presença das proteínas a serem degradadas. Já nos eucariotos, essa via de degradação é bem diferente. Nela, há a presença da proteína ubiquitina, que se liga covalentemente, com o auxílio de outras enzimas, à proteína a ser degradada, em um processo denominado ubiquitinação. Essa ligação ocasiona o direcionamento dessa enzima para a proteólise.

1.3.6 Integração do metabolismo

○ metabolismo na célula é regulado pela ação das enzimas, pela disponibilidade de substratos e por modificações nas enzimas. Quando

⁶ Mais detalhes sobre a síntese proteica são encontrados no capítulo 2 deste volume, “Biologia molecular”.

pensamos em um organismo complexo multicelular, o mecanismo de regulação é muito complicado. No corpo humano existem vários tecidos, formados por diferentes tipos celulares. Tais tecidos participam da formação dos órgãos do corpo, os quais exercem funções muito distintas. O coração e os músculos são capazes de se contrair; o cérebro é capaz de passar informações por meio de pulsos elétricos; e o fígado é o principal responsável pela degradação de substâncias e pelo armazenamento de glicose sob a forma de glicogênio.

No organismo, os hormônios são os responsáveis pela transmissão de informação entre os diferentes órgãos; são eles também que organizam as atividades metabólicas de cada tecido.

O metabolismo dos mamíferos começa no momento da alimentação. A digestão quebra as macromoléculas obtidas na alimentação em moléculas menores, que podem ser absorvidas no trato gastrointestinal. Os carboidratos, proteínas e lipídios quebrados e absorvidos passam para o sangue. Os aminoácidos e os açúcares são principalmente enviados para o fígado; já os triglicerídeos entram no tecido adiposo. As necessidades dos órgãos variam muito, e o fígado é o responsável por suprir a demanda de cada um deles.

A glicose absorvida no intestino entra no fígado e é fosforilada pela **hexoquinase**, formando a glicose-6-fosfato. A partir daí, ela entra na via glicolítica e em seguida, no ciclo de Krebs, e os elétrons obtidos nessas vias chegam à cadeia respiratória, onde ocorre a produção de ATP.

Os níveis de glicose sanguínea são sinalizados para o fígado mediante informações hormonais. Quando a glicose está em alta concentração, o hormônio insulina ativa a sua entrada no fígado, levando-a para as vias metabólicas que culminam na formação de ATP. Assim que as necessidades energéticas são supridas, o excesso de glicose é convertido em glicogênio pelo fígado, onde o glicogênio ficará armazenado. A glicose também pode ser convertida para a síntese de lipídios após a sua entrada na via glicolítica, e a posterior transformação, pela ação da desidrogenase pirúvica, do piruvato formado em acetil-CoA, criando lipídios que serão posteriormente armazenados no tecido adiposo. Essa forma de armazenamento não é tão disponível quanto o glicogênio, mas é importante em momentos de alta demanda energética e em jejuns de longo período. O excesso de glicose também pode ser desviado

para a via das pentoses-fosfato, responsável pela geração de NADPH, um carreador de elétrons na biossíntese de lipídios e de ácidos nucleicos.

Quando o nível de glicose sanguínea está baixo, entra em ação o glucagon, que estimula a quebra de glicogênio hepático para suprir as demandas de glicose de outros órgãos. Além disso, a própria glicose-6-fosfato, presente ainda no citoplasma da célula, pode ser desfosforilada pela glicose-6-fosfatase a fim de liberar a glicose, cuja concentração deve ser mantida em 4 mM, novamente no sangue. Como mencionado, o cérebro funciona somente com glicose, podendo, em situações muito extremas, utilizar os corpos cetônicos produzidos na gliconeogênese como fonte de energia. Na gliconeogênese, o organismo obtém glicose por meio de precursores não glicídicos.

Já os aminoácidos que são captados pelas células após a degradação das proteínas da alimentação possuem várias rotas metabólicas importantes: são precursores para a biossíntese de proteínas no fígado e participam da síntese proteica em todos os tecidos e da biossíntese de nucleotídeos; além disso, podem ser desaminados e degradados para produzir acetil-CoA, composto que pode entrar no ciclo de Krebs e produzir energia. Os intermediários desse ciclo podem ser convertidos à glicose pela via gliconeogênica.

Os ácidos graxos também possuem diferentes caminhos metabólicos. Podem ser oxidados para formar acetil-CoA e produzir ATP, além de NADH. A produção em excesso de acetil-CoA pode formar corpos cetônicos que são capazes de suprir a energia de determinados órgãos no jejum. Além disso, parte da acetil-CoA produzida é desviada para a biossíntese de colesterol, necessário na síntese das membranas plasmáticas.

Em momentos de longo jejum (durante o sono) ou de desnutrição, o glicogênio armazenado no fígado e nos músculos sofre depleção. Assim, a produção de glucagon é estimulada, levando à mobilização dos triacilgliceróis, que funcionarão como combustíveis primários para os músculos e o fígado. Para fornecer glicose ao cérebro, o fígado degrada proteínas cujos grupos aminos são degradados e seus corpos carbônicos, utilizados na gliconeogênese. O fígado também utiliza os ácidos graxos para isso.

O metabolismo do corpo humano é todo mobilizado e dependente da situação energética do organismo. As alterações das taxas de glicose

sanguínea são responsáveis por estímulos hormonais que controlam todas as vias metabólicas do corpo. As doenças que alteram o controle hormonal – como o diabetes – podem causar grandes alterações metabólicas no organismo e devem ser cuidadosamente controladas. O diabetes, deficiência na secreção ou ação da insulina, é uma doença muito comum e que decorre da má-alimentação, com excesso de doces e massas, podendo ser fatal quando não tratada. Seus principais sintomas são sede excessiva, micção frequente e superprodução de corpos cetônicos, além de acidose decorrente da grande formação de ácidos carboxílicos, que se ionizam e acidificam o sangue, condição que pode ser fatal ao paciente. O diabetes não tem cura, mas pode ser controlado com remédios ou injeções subcutâneas de insulina.

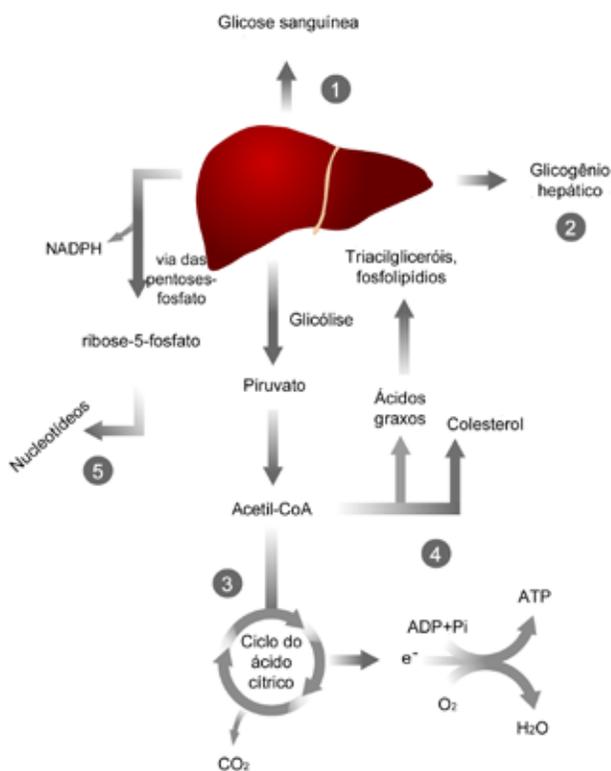


Figura 1.37. Integração do metabolismo.

1.4 Bioquímica clínica

Com a evolução constante das técnicas bioquímicas, os ensaios tornam-se ultrapassados e precisam ser reformulados para alcançar os objetivos inerentes ao processo de modernização. Por esse motivo, abordam-se, neste item, algumas técnicas de análise bioquímica, sem deixar de lado os conceitos básicos necessários à compreensão de cada uma delas.

Inicialmente, é importante esclarecer que uma análise bioquímica sofre influência e interferência de certos fatores, que podem comprometer a qualidade do resultado final. Dentro eles, estão o jejum e a dieta, o uso de medicamentos/drogas, o tabagismo, o consumo de bebidas alcoólicas, o estado físico e emocional do paciente, a coleta das amostras, a hemólise e as condições de armazenamento e transporte das amostras. No quadro 1.6 estão relacionados alguns fatores que podem interferir no resultado analítico de um exame bioquímico.

Quadro 1.6. Fatores que interferem e/ou influenciam nos exames laboratoriais.

Variáveis do paciente	Variáveis da amostra
<ul style="list-style-type: none"> • dieta • drogas/medicamentos • raça • exercícios físicos • tabaco (fumo) • sexo • idade • fase do ciclo menstrual • menopausa • estresse 	<ul style="list-style-type: none"> • turvação/lipemia • hemólise (causa fisiológica e/ou mecânica) • icterícia • jejum • condições de transporte e armazenamento • anticoagulantes • sangue venoso ou capilar • contaminações bacteriológicas

• Jejum

Uma dúvida bastante frequente ao se realizar um exame laboratorial é quanto à obrigatoriedade ou não do jejum, e sua duração. Para análises bioquímicas, como a dosagem da glicose, testes de tolerância – glicose, d-xilose, lactose etc. –, perfil lipídico – também chamado lipidograma –, ferro e capacidade de fixação do ferro, vitamina B12, entre outros, o jejum é recomendado para a análise adequada. No caso da dosagem de triglicérides, não devem ser ingeridos alimentos por um período mínimo de 12 horas, a fim de evitar valores falsamente alterados. O aumento nos triglicérides normalmente altera o aspecto do soro, tornando-o opalescente (soro lipêmico), e essa condição interfere potencialmente no resultado de várias dosagens. Por sua vez, jejuns prolongados, em período superior a 14 horas, podem influenciar as dosagens séricas. No caso dos triglicérides, por exemplo, o jejum prolongado acarreta um resultado falsamente diminuído. Nos dias que antecedem os exames, deve-se manter a alimentação habitual, exceto para os testes em que é obrigatória uma dieta especial – por exemplo, dosagem de oxalatos em urina coletada num período de 24 horas. Mudanças alimentares bruscas podem ocasionar alterações na concentração de alguns constituintes plasmáticos, dado que as alterações permanecem aparentes mesmo transcorridas 12 horas.

• Álcool e tabaco

O uso casual do álcool não exerce efeito significativo nos testes laboratoriais, porém, dependendo da quantidade e frequência em que é consumido, podem ocorrer várias modificações no metabolismo. O uso de bebida alcoólica diminui a glicose sérica e aumenta o lactato plasmático; logo, não é recomendado ingerir álcool de duas a quatro horas antes do exame. Já o tabaco é composto por várias substâncias – como nicotina, piridina, cianeto, entre outras –, e o seu consumo está associado a alterações, agudas ou crônicas, que também são influenciadas pelo sexo e idade do paciente. As alterações causadas pelo tabagismo crônico

incluem a elevação da atividade de várias enzimas e lipoproteínas, assim como o aumento das catecolaminas, glicose, cortisol, aldosterona e ácidos graxos livres.

- **Drogas (medicamentos, vitaminas etc.)**

Diversas substâncias podem interferir nos resultados das análises laboratoriais. É importante que seja informado o uso de medicações, inclusive das não prescritas, como suplementos minerais e vitaminas. Altas concentrações de vitamina C, por exemplo, podem elevar os resultados das frutosaminas e do ácido úrico e provocar possíveis alterações na creatinina sérica. O uso de contraceptivos orais eleva os níveis séricos de ferro, triglicerídeos, transaminase pirúvica e gamaglutamil-transferase, e diminui os níveis de albumina. Os medicamentos diuréticos frequentemente elevam a concentração de sódio, o cálcio e a glicose, e diminuem o potássio.

- **Gravidez**

Durante a gravidez, ocorrem diversas mudanças metabólicas, de acordo com o período gestacional, que promovem modificações nos valores de muitos exames. Há mudanças na função renal, que acarretam a elevação dos níveis de filtração glomerular e, conseqüentemente, uma maior excreção de glicose, ureia, creatinina e proteína. Em contrapartida, são observadas diminuições no nível sérico dessas substâncias.

- **Exercício físico**

A atividade física influencia e interfere substancialmente no metabolismo e, dependendo de sua intensidade e duração, muitas substâncias podem sofrer alterações nas concentrações sanguíneas e urinárias. Inicialmente, ocorre aumento da concentração de glicose e de insulina, que pode levar a um quadro de hipoglicemia com a intensificação da atividade física. As enzimas desidrogenase láctica (LDH), creatinofosfoquinase (CPK) e aldolase são extremamente sensíveis e se elevam com a realização de exercícios físicos. Pode ocorrer também aumento de glicoproteínas,

transferrina, transaminases, ureia, creatinina e ácido úrico. É possível, ainda, que as concentrações lipídicas, conforme o aprimoramento das atividades físicas, sofram alterações, tais como redução do colesterol sérico, da fração LDL-colesterol e dos triglicerídeos e aumento dos valores de HDL-colesterol.

• Hemólise

A ruptura da hemácia (hemólise) pode ser provocada por um processo mecânico (traumatismo durante a punção venosa) ou por questões fisiológicas, seja em um processo natural de renovação da célula vermelha ou como consequência de doença, como a anemia hemolítica. A hemólise causa elevação de bilirrubinas, transaminases, fosfatase ácida, LDH, magnésio e potássio, influenciando de modo menos marcante na dosagem de proteínas totais, fosfatase alcalina, ferro e fósforo.

• Transporte e preparo da amostra

Para realizar adequadamente o armazenamento e o transporte de amostras biológicas, são necessários cuidados que garantam a preservação dos analitos a serem pesquisados. As consequências do preparo ou do transporte inadequados podem variar desde a perda da amostra por vazamento até alterações na concentração dos seus diferentes constituintes.

• Valores de referência

Não são somente metodologias e equipamentos que influenciam nos valores de referência; o resultado de um exame pode ser influenciado por diversos outros fatores, como variações fisiológicas, alimentares e genéticas, sexo, idade etc. Nem sempre tais variações são consideradas em um estudo populacional para a determinação de valores referenciais. Normalmente, os valores de referência são estabelecidos após o estudo de um grupo de indivíduos saudáveis e expressam o que foi observado em 95% da população estudada e não na sua totalidade. O que é realidade para uma população pode não ser para

outra. Portanto, é necessário considerar que os valores de referência são utilizados como orientação genérica, mas não devem ser considerados um determinante para o que é normal ou anormal.

1.4.1 Análise de componentes glicídicos

A análise de alguns componentes glicídicos é indispensável para o diagnóstico do diabetes, independentemente de suas causas e dos diferentes quadros clínicos.

1.4.1.1 Glicose (glicemia em jejum de 8 horas)

Vários são os métodos propostos para determinar o teor de glicose em uma amostra. Inicialmente, utilizava-se o caráter redutor da glicose. São exemplos desses métodos o Folin-Wu e o Somogyi-Nelson, ambos utilizando sais de cobre em meio alcalino. A grande problemática dos testes que envolvem reações de oxidação-redução é o fato de que qualquer interferente com propriedades redutoras, e não apenas a glicose, pode sofrer esse tipo de reação. Dessa forma, tais métodos não são específicos e, por esse motivo, são pouco utilizados.

Outros métodos foram desenvolvidos nos quais a glicose reage diretamente com compostos orgânicos, como a anilina, a antrona e a ortotoluidina (o-toluidina), essa última muito utilizada por fornecer resultados mais confiáveis. A reação se dá entre o grupo aldeído da glicose com a o-toluidina em meio ácido, formando uma glicosamina e a base de Schiff correspondente, responsável pela coloração verde, cuja intensidade é medida fotometricamente.

Posteriormente, métodos envolvendo a ação de enzimas – por exemplo, glicose-oxidase e hexoquinase – foram desenvolvidos e passaram a integrar a prática laboratorial. No método que utiliza a glicose-oxidase, a glicose sofre a ação dessa enzima, formando ácido glicônico e água oxigenada (H_2O_2), a qual, na presença de uma peroxidase, se decompõe em água (H_2O) e oxigênio (O_2). O oxigênio formado reage com substâncias presentes no meio reacional e leva à formação de um complexo de coloração vermelho-cereja cuja intensidade, medida fotometricamente, é diretamente proporcional à concentração de glicose.

No quadro 1.7 estão relacionadas algumas causas do aumento e da redução dos níveis de glicose no sangue.

Quadro 1.7. Causas para o aumento ou a diminuição dos níveis de glicose no sangue.

Níveis aumentados	Níveis diminuídos
<ul style="list-style-type: none"> • diabetes • hipertireoidismo • feocromocitoma • estresse • pancreatite aguda • drogas: atropina, ácido acetilsalicílico (AAS), ácido ascórbico, diuréticos, adrenalina, corticoides, dopamina, estrogênios, tiabendazol, anticonvulsivantes, contraceptivos orais 	<ul style="list-style-type: none"> • insulinosmas • tumores extrapancreáticos: fibromas, sarcomas, hepatomas, mesoteliomas • insuficiência adrenal (doença de Addison) • hipotireoidismo • hipopituitarismo • desnutrição • síndrome de má absorção • alcoolismo • dano hepático – insuficiência cardíaca severa, necrose hepática fulminante • drogas: bloqueadores beta-adrenérgicos, esteroides, anabólicos, levodopa, anti-histamínicos, etanol, inibidor da MAO, acetaminofen

É importante salientar que a determinação do teor de glicose sanguínea deve ser realizada logo após a coleta da amostra, num período máximo de 30 minutos, pois a glicose sanguínea sofre destruição enzimática (glicólise) sob a ação das hemácias e dos leucócitos. Essa destruição ocorre a 37°C e até mesmo em refrigeração. Assim, deve-se centrifugar a amostra logo que ocorra a retração do coágulo; caso contrário, coleta-se a amostra em fluoreto de sódio (1 mg/mL de sangue), que age como conservante e inibe a glicólise. O indivíduo deve estar em jejum de pelo menos 8 horas; períodos superiores a 14 horas, porém, podem conduzir a resultados abaixo dos valores reais.

1.4.1.2 Teste oral de tolerância à glicose

O diabetes pode ser antecedido por estágios com glicemia de jejum inapropriada (entre 100 e 125 mg/dL) e/ou tolerância à glicose diminuída (entre 140 e 200mg/dL, após a administração de 75g de glicose anidra). O tempo de duração desses estágios varia, e pode haver reversão do quadro, com normalização do metabolismo glicídico. Em casos de glicemia de jejum inapropriada, deve efetuar-se o teste oral de tolerância à glicose (TOTG), que avalia a glicemia basal (glicemia de jejum) e, após 120 minutos, a sobrecarga glicídica – adultos: ingesta de 75 g de glicose anidra; crianças: 1,75 g/kg de peso, não ultrapassando 75 g. No TOTG, a ingesta da solução de glicose deve ser realizada no máximo em 5 minutos, com jejum de 8 a 12 horas antes da coleta basal, e o indivíduo deve estar em dieta sem restrição de carboidratos durante pelo menos os três dias que antecedam ao teste. Trata-se de uma análise utilizada na construção de um diagnóstico específico, não sendo recomendada como exame de rotina, e que apresenta valores diferentes conforme o estágio clínico do indivíduo (quadro 1.8).

Quadro 1.8. Valores de referência para os testes envolvendo a análise da glicose.

Estágio	Teste		
	Glicemia de jejum (GJ)	Glicemia aleatória (GA)	TOTG/glicemia após 2 horas
Normal	menor ou igual a 99 mg/dL	–	menor ou igual a 140 smg/dL
Intolerância glicêmica	entre 100 e 125 mg/dL	–	maior de 140 e menor de 200 mg/dL
Diabetes	maior ou igual a 126 mg/dL	GA maior ou igual a 200 mg/dL associada à sintomatologia clássica	maior ou igual a 200 mg/dL

1.4.1.3 Curva glicêmica

A curva glicêmica é uma análise de perfil glicídico muito realizada em gestantes com o objetivo de controlar o diabetes gestacional, quadro que acarreta complicações fetais. Trata-se de um TOTG, porém com algumas diferenças. Realiza-se a coleta de sangue basal (glicemia de jejum) e, após a ingestão de 100 g de glicose anidra, efetuam-se outras três coletas. Essas três últimas coletas para determinação da glicemia são realizadas de hora em hora – 60, 120 e 180 minutos após a ingestão da sobrecarga glicídica. A presença de duas ou mais glicemias acima dos valores apresentados no quadro 1.9 é indicativa de diabetes gestacional.

Quadro 1.9. Valores de referência para a curva glicêmica.

Hora da coleta	Glicemia (mg/dL)
Glicemia de jejum	95
60 minutos	180
120 minutos	155
180 minutos	140

1.4.1.4 Hemoglobina glicosilada

Trata-se de uma hemoglobina que apresenta carboidratos, constituinte normal do sangue, em sua estrutura. Num primeiro momento, não foram identificadas as suas funções fisiológicas específicas, porém os estudos realizados puderam relacionar, nos indivíduos diabéticos, um aumento da hemoglobina glicosilada (HG) não observado em não diabéticos.

De modo lento e gradual, a hemoglobina glicosilada é formada em duas etapas, pela ligação da glicose com o N terminal da cadeia β da hemoglobina, por meio de uma reação não enzimática. Essa ligação é contínua e irreversível, refletindo as concentrações médias da glicose nos dois a três meses que precedem o exame. A dosagem da HG proporciona monitoramento a longo prazo da glicose no sangue, visto que suas breves alterações não influenciam a taxa.

A análise da HG se dá por cromatografia, técnica que permite a separação da fração mais rápida (HG) da hemoglobina total (HT).

1.4.1.5 Glicose urinária

A glicosúria, ou seja, presença de glicose na urina, geralmente ocorre quando a glicose sanguínea alcança valores em torno de 180 mg/dL. Porém, disfunções na taxa de filtração glomerular, na taxa de reabsorção tubular e no fluxo urinário também podem influenciar o seu aparecimento. Outras situações, como infecções, queimaduras, doenças neurológicas e uso de esteroides orais, também podem provocar glicosúria. Quando são analisadas amostras isoladas de urina, a presença de glicose não está necessariamente relacionada com os níveis de glicose sanguínea, pois eles refletem momentos diferentes. Dessa forma, é indicado utilizar a urina coletada num período de 24 horas.

1.4.1.6 Frutose

A frutose é a maior fonte de energia para os espermatozoides, e o principal elemento da sua motilidade. A frutose é produzida nas vesículas e ampolas seminais a partir da glicose, através da via fosforilativa.

A dosagem de frutose é realizada por meio do método de Seliwanoff, no qual pentoses e hexoses reagem com o resorcinol em pH ácido e temperatura elevada, originando um composto de coloração vermelha cuja intensidade é diretamente proporcional à concentração de frutose.

1.4.2 Análise de componentes lipídicos

O perfil lipídico alterado encontra-se entre as causas de doença arterial coronariana (DARC). Com isso, o estudo e a dosagem dos lipídios plasmáticos ganharam inestimável interesse clínico. Cerca de 80% dos casos podem ser diagnosticados por uma simples interpretação dos níveis de colesterol total, colesterol HDL e de triglicerídeos, associada à avaliação do aspecto do soro após refrigeração, o que permite evidenciar opalescência ou a presença de quilomícrons. Um colesterol total elevado somado a um valor de colesterol HDL baixo constitui um fator de risco independente para o desenvolvimento de DARC.

É importante salientar que, para avaliar e acompanhar corretamente o perfil lipídico, a qualidade da amostra é fundamental. A amostra deve ser coletada mediante confirmação do jejum de 12 a 14 horas. No dia anterior ao da cole-

ta, o indivíduo deve alimentar-se normalmente, evitando o consumo de álcool e os exercícios físicos. Deve ser evitada também a coleta em pessoas enfermas, durante a fase aguda e nas três semanas posteriores à recuperação. Deve-se avaliar sempre o uso de medicamentos.

1.4.2.1 Colesterol total

O colesterol total compreende todo o colesterol encontrado em várias lipoproteínas: cerca de 60% a 70% transportados pela LDL-lipoproteína; 20% a 35% pela HDL-lipoproteína; e 5% a 12% pela VLDL-lipoproteína. Um colesterol alto, maior ou igual a 240 mg/dL em adultos acima de 20 anos, ou maior ou igual a 200 mg/dL em crianças e adolescentes (de 2 a 19 anos) eleva o risco para DARC. Recomenda-se uma dieta estável nas três semanas que antecedem a coleta. A postura anterior ao teste também pode ser significativa (após 20 minutos em repouso, os valores podem ficar de 10% a 15% mais baixos).

Quadro 1.10. Possíveis causas de alteração do teor de colesterol total.

Níveis aumentados	Níveis diminuídos
<ul style="list-style-type: none"> • hipercolesterolemia primária, por fatores alimentares ou ambientais • hipercolesterolemia secundária: pancreatite, hepatopatia obstrutiva, síndrome nefrótica • alguns casos de <i>diabetes mellitus</i> • hipotireoidismo • cirrose biliar primária • gravidez 	<ul style="list-style-type: none"> • abetalipoproteinemia • hipertireoidismo • alguns casos de carcinoma, anemia sideroblástica e talassemia • má absorção • má nutrição • leucemia mielocítica crônica • metaplasia mieloide • mieloma • policitemia vera

Atualmente, a determinação dos níveis de colesterol total é realizada por meio de métodos enzimáticos colorimétricos, e, dependendo dos reagentes utilizados, os valores de referência variam. Os valores de referência atualmente

considerados, que têm pequenas variações relacionadas à faixa etária, são apresentados no quadro 1.11.

Quadro 1.11. Valores de referência utilizados atualmente para o colesterol total.

Colesterol	Resultado
< 200 mg/dL	desejável
200 a 239 mg/dL	limítrofe
³ 240 mg/dL	aumentado

1.4.2.2 Colesterol HDL (C-HDL)

A fração HDL (do inglês *high density lipoprotein*) do colesterol tem relação inversa com o risco de doença coronariana: para cada 1 mg/dL de HDL reduzido, o risco para DARC se eleva de 2% a 3%. Isso ocorre porque a fração HDL está envolvida no chamado transporte reverso do colesterol a ser metabolizado no fígado, onde ocorre a sua maior excreção.

Valores de C-HDL dependem de sexo e idade, e tendem a diminuir temporariamente após infarto agudo do miocárdio. Em doenças da tireoide, os valores do C-HDL não devem ser usados como estimativa de risco de DARC, pois no hipotireoidismo ocorre o aumento dos seus níveis e no hipertireoidismo, a diminuição. A terapia de reposição hormonal em mulheres na menopausa aumenta seus índices, reduzindo o risco de DARC. Preconiza-se uma dieta estável nas três semanas que antecedem a coleta. A variação individual para o HDL é de 3,6% a 12,4%.

Quadro 1.12. Valores de colesterol HDL em humanos.

Sexo	Desejável	Médio risco	Alto risco
Masculino	> 55 mg/dL	35 a 55 mg/dL	< 35 mg/dL
Feminino	> 65 mg/dL	45 a 65 mg/dL	< 45 mg/dL

1.4.2.3 Colesterol LDL (C-LDL) e colesterol VLDL (C-VLDL)

A lipoproteína de baixa densidade LDL (do inglês *low density lipoprotein*) é a maior carreadora de colesterol no plasma. Seus valores estão associados diretamente ao risco de desenvolver DARC. Vários estudos mostram que o risco de DARC tem maior correlação com os altos níveis de LDL do que com o colesterol total. Sua dosagem tem servido como fator determinante para o início de terapias e dietas. Indivíduos com níveis elevados de LDL (≥ 160 mg/dL) possuem alto risco de desenvolver doença coronariana e devem ser tratados para reduzir os níveis de colesterol. Indivíduos com níveis entre 130 mg/dL e 159 mg/dL (*borderline*) devem ser tratados caso possuam outros dois fatores de risco para DARC.

A lipoproteína de muito baixa densidade VLDL (do inglês *very low density lipoprotein*) transporta triglicerídeos e colesterol sintetizados no fígado, derivados provavelmente de precursores da dieta, como ácidos graxos livres, glicerol e carboidratos.

A determinação dos níveis de LDL e VLDL pode ser realizada por cálculo, de acordo com o procedimento-padrão da fórmula de Friedewald. Essa fórmula depende da exatidão de três dosagens diferentes (colesterol total, colesterol HDL e triglicerídeos) e não pode ser usada quando os níveis de triglicerídeos estiverem acima de 400 mg/dL, ou na presença de quilomícrons.

Atualmente, novas técnicas, envolvendo antissoros policlonais em partículas de látex com afinidade para lipoproteínas específicas humanas, possibilitam a dosagem, mesmo com níveis de triglicerídeos acima de 400 mg/dL, pois removem HDL e VLDL da amostra.

O quadro 1.13 traz a relação entre os níveis de colesterol e suas frações com o risco de doença coronariana.

Quadro 1.13. Relação entre os níveis de colesterol e o risco de doença coronariana.

Analito	Valor desejável	Risco moderado	Alto risco
Colesterol total	< 200 mg/dL	200 a 239 mg/dL	≥ 240 mg/dL
LDL	< 130 mg/dL	130 a 159 mg/dL	≥ 160 mg/dL
HDL (homens)	> 55 mg/dL	35 a 55 mg/dL	< 35 mg/dL
HDL (mulheres)	> 65 mg/dL	45 a 65 mg/dL	< 45 mg/dL
VLDL	< 30 mg/dL	30 a 40 mg/dL	> 40 mg/dL
Triglicerídeos	< 150 mg/dL	150 a 200 mg/dL	> 200 mg/dL

1.4.2.4 Índices de Castelli (I e II)

Alguns autores usam correlações entre o colesterol sérico total, o HDL e o LDL como uma maneira de visualizar a influência combinada de importantes fatores de risco de doença coronariana. O índice de Castelli I é a razão entre o colesterol total e o HDL e o índice de Castelli II é a razão entre o LDL e o HDL.

$$\text{Índice de Castelli I} = [\text{colesterol total}] / [\text{C-HDL}]$$

$$\text{Índice de Castelli II} = [\text{C-LDL}] / [\text{C-HDL}]$$

1.4.2.5 Triglicerídeos

O aumento de triglicerídeos é indicativo de distúrbios no metabolismo e, quando associado ao aumento do colesterol total, é fator de risco para DARC. A taxa de triglicerídeos sofre aumento em seus valores no *diabetes mellitus*, na síndrome nefrótica, na pancreatite, em doenças coronarianas e na arteriosclerose. Valores acima de 2.000 mg/dL aumentam o risco de pancreatite aguda. Alguns medicamentos, como a prednisona, podem elevar os níveis séricos dos triglicerídeos. É necessário jejum de 12 a 14 horas para realizar a dosagem de triglicerídeos, além de dieta estável durante as três semanas que

antecedem a coleta e abstenção de álcool por três dias. Se possível e apenas com orientação médica, suspender drogas que possam afetar as concentrações de triglicerídeos no sangue.

Os níveis de triglicerídeos podem estar diminuídos por interferência de substâncias com o glucagon e a heparina endovenosa. Ocorre aumento dos níveis de triglicerídeos pela interferência bacteriana, tabagismo, consumo de álcool e administração de estrógenos. Outras causas de aumento da concentração de triglicerídeos são cirrose hepática, *diabetes mellitus*, síndrome nefrótica e hiperlipidemia essencial.

1.4.3 Análise de componentes nitrogenados

1.4.3.1 Ácido úrico

O ácido úrico é o produto final do catabolismo das purinas. Seus níveis séricos estão diretamente relacionados com a velocidade de sua formação e são inversamente proporcionais à capacidade e à velocidade de sua excreção. Outros fatores, como predisposição genética, sexo, idade, peso corporal, ingestão de álcool, raça, diabetes, dislipidemia, dieta e uso de medicamentos, também exercem influência sobre os seus níveis séricos. Tanto a hiperuricemia – aumento dos níveis séricos de ácido úrico – quanto a hipouricemia – redução dos níveis séricos de ácido úrico – podem ser provocadas por diversas causas, relacionadas no quadro 1.14.

É excretado por via urinária e, por ser o produto final do metabolismo dos compostos purínicos derivados de nucleoproteínas exógenas e endógenas, sua excreção está relacionada com a ingestão e o catabolismo das nucleoproteínas. O ácido úrico urinário é analisado a partir de uma amostra de urina coletada num período de 24 horas e, por sofrer influência de diversas drogas – como aspirina, warfarina, vitamina C e diuréticos –, o uso de qualquer medicação deve ser informado ao entregar a amostra para análise. A hiperuricosúria (aumento dos níveis de ácido úrico na urina) pode ser causada por gota aguda, anemias hemolíticas, leucemias, defeito tubular renal, dieta rica em purinas,

uso de diuréticos e drogas uricosúricas, tratamento com quimioterápicos e radioterápicos. Já a hipouricosúria (redução do ácido úrico urinário) é observada na gota crônica e em indivíduos com uma dieta pobre em purinas.

Quadro 1.14. Causas de aumento ou diminuição dos níveis séricos de ácido úrico.

Hiperuricemia	Hipouricemia
<ul style="list-style-type: none"> ● aumento da produção: alterações enzimáticas – por exemplo, deficiência de glicose-6-fosfato. ● aumento do metabolismo das nucleoproteínas: leucemias, anemias hemolíticas, policitemia, anemia perniciosa, quimioterapia, neoplasias, psoríase, mononucleose infecciosa. ● diminuição da velocidade de excreção: alterações da função renal, jejum prolongado, intoxicação por chumbo, hiperparatireoidismo, hipercalcemia, dieta/perda de peso, exercício muscular intenso, acidose láctica, drogas (efeitos hiper ou hipourícos, dependendo da dose), tiazídicos, furosemida e salicilatos. 	<ul style="list-style-type: none"> ● aumento da velocidade de excreção: defeito da reabsorção tubular, carcinoma de pulmão, leucemia mieloide aguda. ● aumento da secreção tubular: hiperparatireoidismo, hipervolemia. ● drogas (efeitos hiper ou hipourícos, dependendo da dose): aspirina, fenilbutazona, probenecida, salicilatos, tiazídicos e warfarina . ● diminuição da produção: dieta pobre em purinas, deficiência de adenosina desaminase, porfiria intermitente aguda, inibidores da xantina oxidase, alopurinol e síndrome paraneoplásica (adenocarcinoma metastático de pulmão).

1.4.3.2 Creatinina

A creatinina é um produto metabólico formado pela descarboxilação da creatina-fosfato no músculo. Assim, possui relação direta com a massa muscular. Homens e atletas produzem maiores quantidades de creatinina do que crianças,

idosos e mulheres. Deve-se considerar a perda de massa muscular no idoso na interpretação dos resultados. Geralmente, a creatinina não é afetada pela dieta, porém, se houver aumento excessivo na ingestão de carnes, os seus níveis séricos poderão sofrer aumento por um período de 48 horas. A redução do fluxo sanguíneo renal promove a elevação da creatinina, porém de forma mais lenta do que a ureia. De modo geral, a concentração de creatinina só começa a se elevar quando a velocidade de filtração glomerular é menor do que 75 mL/min.

Os níveis séricos da creatinina encontram-se aumentados em casos de insuficiência cardíaca congestiva, choque, desidratação, glomerulopatias, obstrução do trato urinário, intoxicação por metanol, uso de metildopa, trimetoprim, hidantoína, cefalosporinas e vitamina C. Baixas concentrações séricas são observadas nos casos de desnutrição, diminuição da massa muscular, doença hepática severa e processo gestacional.

A creatinina é livremente filtrada pelos glomérulos e excretada constantemente. A determinação da creatinina urinária (mg/kg em 24 horas) é um parâmetro indicativo do volume correto da urina colhida durante um dia inteiro. A secreção tubular da creatinina pode ser inibida por drogas, como cimetidina, trimetoprim e probenecida. A creatinina urinária é avaliada laboratorialmente em conjunto com a determinação da creatinina sérica, e o resultado dessa avaliação é importante nos casos de insuficiência renal aguda ou crônica.

Exercícios severos e ingestão de altas quantidades de carne podem provocar aumentos significativos na excreção de creatinina; já a diminuição da massa muscular nos idosos provoca a diminuição na excreção.

- **Clearance de creatinina**

É o índice de depuração renal de creatinina que avalia o nível de filtração glomerular. Quando comparado à avaliação dos níveis séricos de ureia e creatinina isolados, esse índice possibilita um diagnóstico mais precoce de alteração da função renal. As provas de depuração exigem um controle rígido dos tempos e da coleta de urina, sem perda do volume urinário. São tecnicamente rigorosas, exigindo dosagens simultâneas da creatinina no soro e na urina, e a correção da superfície corporal do paciente pela superfície corporal-padrão.

A velocidade de filtração glomerular encontra-se elevada durante a gravidez; do mesmo modo, exercícios físicos também podem elevar o *clearance* de creatinina. Além disso, drogas como trimetoprim, cimetidina e probenecida interferem na excreção desse analito.

Para o *clearance*, o método mais utilizado é o método de Jaffé, baseado na reação entre a creatinina presente na amostra e o picrato alcalino. O produto formado, o ácido picrâmico, possui coloração alaranjada, medida fotometricamente.

1.4.3.3 Ureia

A ureia é o metabólito quantitativamente mais importante do catabolismo proteico e da desaminação dos aminoácidos – ciclo da ornitina, que libera NH_2 -amoniaco. É a principal fonte de excreção do nitrogênio nos seres humanos e compreende de 80% a 90% do nitrogênio urinário total excretado. Produzida no fígado, passa para a circulação sanguínea, onde é degradada e eliminada pelo suor, pelo trato gastrointestinal e pelo rim. É filtrada livremente pelos glomérulos e, dependendo do estado de hidratação do indivíduo, entre 40% a 80% de seu volume sofrem reabsorção tubular. Sua concentração varia em indivíduos saudáveis, sendo influenciada por diversos fatores, como grau de hidratação, dieta proteica e função renal. É utilizada para avaliar o estado do funcionamento renal e, em conjunto com a creatinina plasmática, sua dosagem auxilia na diferenciação entre a azotemia pré e pós-renal. A designação **azotemia** denomina qualquer aumento significativo na concentração sérica de componentes nitrogenados não proteicos, principalmente ureia e creatinina, e é classificada como pré-renal, renal e pós-renal.

Em comparação com a creatinina, a ureia sofre maior variação com a dieta, eleva-se mais precocemente nos casos de insuficiência renal e não é influenciada pela massa muscular. Glicocorticoides e hormônios tireoidianos (que exercem efeito catabólico proteico) tendem a aumentá-la, ao passo que androgênios e hormônio de crescimento, por causa de seus efeitos anabólicos, diminuem sua formação.

Algumas condições em que a ureia pode estar aumentada ou diminuída no organismo encontram-se listadas no quadro 1.15.

Quadro 1.15. Causas de aumento ou diminuição dos níveis de ureia no organismo.

Níveis aumentados	Níveis diminuídos
<ul style="list-style-type: none"> • pré-renal: redução da circulação renal, desidratação, redução do volume sanguíneo (hemorragias digestivas), catabolismo proteico aumentado (febre, estresse), insuficiência cardíaca. • renal: diminuição da filtração glomerular causada por doença renal aguda ou crônica, nefropatias, tratamento com glicocorticoides (efeito antianabólico). • pós-renal: obstrução do trato urinário (cálculo, obstrução prostática). 	<ul style="list-style-type: none"> • ingesta proteica diminuída • insuficiência hepática aguda • gravidez • diluição sanguínea • infância

A dosagem de ureia urinária é utilizada na avaliação dos compostos urinários nitrogenados não proteicos e na medida da taxa de produção de ureia. Como a sua produção depende de inúmeras variáveis não renais, como dieta e síntese hepática, o *clearance* de ureia tem pouca utilidade como medida da taxa de filtração glomerular, pois pode subestimá-la. A ureia urinária encontra-se aumentada quando ocorre aumento do catabolismo proteico, nas dietas hiperproteicas e no hipertireoidismo. Seus níveis encontram-se diminuídos nos casos de dietas pobres em proteínas, na insuficiência hepática, na insuficiência renal, na gravidez e na obstrução do trato urinário.

Um dos métodos utilizados para a análise da concentração de ureia é o método da diacetilmonoxima. Nele, ocorre a reação da ureia com a diacetilmonoxima, na presença de tiossemicarbazida, em meio ácido, para formar um produto colorido, que pode ser medido fotometricamente e é proporcional à concentração de ureia.

Um método enzimático também utilizado para esse fim é o método da urease. Nele, a ureia sofre a ação da enzima urease e converte-se em dióxido de carbono e amônia. Essa reage com o fenol e o hipoclorito alcalino, sob a ação catalítica do

nitroprussiato, para formar o azul de indofenol. A intensidade da coloração formada é proporcional à concentração de ureia e pode ser medida fotometricamente.

1.4.3.4 Mucoproteínas

A mucoproteína é uma glicoproteína típica das secreções mucosas, com conteúdo superior a 4% de hexosamina. Denominada inicialmente seromucoide, após estudos realizados por Winzler e colaboradores (Winzler et al., 1948) passou a ser também conhecida como mucoproteína, baseando-se em sua capacidade de permanecer em solução de ácido perclórico 0,6 M, enquanto outras glicoproteínas precipitam. Seus níveis estão consideravelmente aumentados nos processos inflamatórios agudos e ela é um importante índice da atividade reumática, pois se mantém elevada quando outras provas já se normalizaram. Níveis reduzidos são observados em casos de insuficiência hepática – hepatite aguda, cirrose –, insuficiência da suprarrenal e insuficiência hipofisária.

Para a análise de mucoproteínas, o método mais utilizado é o método de Winzler, que envolve a desproteinização da amostra com ácido perclórico. As mucoproteínas permanecem em solução e são posteriormente precipitadas pela ação do ácido fosfotúngstico, sendo quantificadas com a utilização do reagente de Folin-Ciocalteu.

1.4.3.5 Proteínas totais e frações

As proteínas são compostas por aminoácidos e são sintetizadas no fígado e no sistema reticuloendotelial. São essenciais para a manutenção da pressão osmótica e têm diversas funções no organismo, incluindo ação enzimática, autoimune e hormonal, e fatores de coagulação e de transporte, por meio de suas ligações no sangue com substâncias hormonais ou não hormonais. Sua dosagem é utilizada como parâmetro para avaliar o estado nutricional do indivíduo e a presença de doenças sistêmicas severas. Seus índices podem estar reduzidos (hipoproteïnemia) em casos de deficiências nutricionais, infecções graves e prolongadas, defeito de síntese (insuficiência hepatocelular), anemias graves e perdas cutâneas (queimaduras).

Na urina, normalmente não são detectadas proteínas ou são detectadas em baixas quantidades (até 150 mg em 24 horas). São principalmente proteínas

séricas de baixo peso molecular, filtradas de forma seletiva pelos glomérulos (por exemplo, albumina). Somente as proteínas de baixo peso molecular são pequenas o suficiente para atravessar a membrana e alcançar o filtrado glomerular, sendo grande parte delas reabsorvida pelos túbulos renais.

Por sua predominância sérica, a albumina é a principal fração proteica encontrada na urina normal. Outras proteínas, também de baixo peso molecular, são detectadas em menores quantidades, como algumas frações da globulina. As principais causas patológicas para a proteinúria (presença de albumina na urina) são lesão glomerular, distúrbios da reabsorção tubular e aumento dos níveis séricos de proteínas de baixo peso molecular. Conforme a gravidade, uma lesão glomerular pode ou não levar à perda de seletividade, permitindo a passagem de proteínas de alto peso molecular. Quando a proteinúria é decorrente de defeitos na reabsorção tubular (por exemplo, mieloma múltiplo), as proteínas presentes na urina têm baixo peso molecular.

A velocidade de excreção das proteínas varia em 24 horas. Assim sendo, para uma melhor avaliação, o teste deve ser feito em uma amostra de urina coletada num período de 24 horas. A determinação da proteinúria de 24 horas é útil no diagnóstico e no controle de diversas patologias em que ocorre perda de proteínas, como síndrome nefrótica, intoxicação por metais e lúpus eritematoso sistêmico. Indivíduos com diabetes mellitus correm maior risco de sofrer dano renal e, por esse motivo, o aumento subclínico da excreção da albumina urinária é tido como preditivo de nefropatia diabética. Reações falso positivas ocorrem ocasionalmente por causa do uso de salicilatos, contrastes radiológicos e doses maciças de penicilinas.

Um dos métodos mais utilizados para a dosagem de proteínas é o método do biureto. Nesse método, ocorre a reação entre os compostos com mais de duas ligações peptídicas presentes na amostra com íons de cobre (Cu^{+2}) em meio alcalino, gerando um complexo de cor violeta. A intensidade da cor formada é medida fotometricamente.

- **Albumina**

A dosagem dos níveis de albumina auxilia na avaliação do estado nutricional, da síntese hepática e da perda renal do paciente. Índices abaixo

de 1,5 g/dL são considerados alarmantes; em casos de edema, os níveis séricos da albumina encontram-se entre 2 g/dL e 2,5 g/dL. Com a idade, gradativamente ocorre o decréscimo de seus níveis. O aumento dos seus níveis é registrado nos quadros de desidratação – vômitos e diarreias graves – e em casos de uso excessivo de diuréticos. A redução de seus níveis ocorre nos casos de queimaduras graves, síndrome nefrótica, desnutrição, hepatopatias, neoplasias, estado gestacional, alcoolismo crônico e uso de anticoncepcionais.

Para a análise da albumina, utiliza-se o método do verde de bromocresol, método que envolve uma reação, em meio tamponado, entre a albumina e o reagente verde de bromocresol, gerando um composto de coloração verde, medida fotometricamente.

1.4.3.6 Bilirrubinas séricas

A bilirrubina é proveniente da quebra da hemoglobina. É formada pelo sistema reticuloendotelial e circula no sangue ligada à albumina, sob a forma de fração não conjugada. A fração não conjugada da bilirrubina chega ao fígado e sofre conjugação com o ácido glicurônico, convertendo-se em fração conjugada, a qual é hidrossolúvel e pode ser eliminada pelo rim. A bilirrubina conjugada também é excretada pelos canalículos hepáticos no intestino delgado, onde parte dela é desconjugada, transformada pela flora bacteriana em estercobilinogênio e eliminada pelas fezes. O estercobilinogênio, por sua vez, também pode entrar no ciclo entero-hepático ou ser excretado, como urobilinogênio, pela via renal. Níveis elevados de bilirrubina sérica total, geralmente acima de 2,5 mg/dL, provocam icterícia clínica, que é caracterizada pela cor amarelada da pele e mucosas.

Para determinar a dosagem de bilirrubina total utiliza-se um reagente diazo, o qual produz uma reação colorida que pode ser medida com o auxílio de um espectrofotômetro. A fração conjugada da bilirrubina reage diretamente com o diazo, sendo por isso denominada “bilirrubina direta”. Já a fração não conjugada necessita de um catalisador para auxiliar na reação, por isso é chamada “indireta”.

Nos casos de aumento dos níveis de bilirrubina sérica (hiperbilirrubinemia), a investigação diagnóstica deve considerar qual a fração predominante, se a

conjugada ou a não conjugada. Dentre as possíveis causas para a hiperbilirrubinemia, estão as hepatopatias e as hemoglobinopatias. Em recém-natos, os valores de bilirrubina total variam com o tempo e com o estado de maturidade. Geralmente, ocorre um aumento fisiológico nas primeiras 48 horas de vida, seguido por uma queda desses níveis entre o 3º e o 5º dia de vida. Algumas causas da hiperbilirrubinemia em recém-nascidos estão relacionadas à icterícia fisiológica, deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase, reabsorção de hematomas, infecções congênitas (toxoplasmose, sífilis, citomegalovírus, rubéola), anemias hemolíticas e a patologias menos frequentes, como galactosemia e hipotireoidismo congênito. O quadro 1.16 apresenta algumas causas de alteração dos níveis das frações de bilirrubina.

Quadro 1.16. Causas de alteração dos níveis das frações de bilirrubina.

Aumento da bilirrubina conjugada (direta)	Aumento da bilirrubina não conjugada (indireta)
<ul style="list-style-type: none"> ● falha na excreção da bilirrubina conjugada: síndrome de Dubin-Johnson. ● disfunção hepatocelular: hepatite, cirrose hepática, colestase intra-hepática (drogas, cirrose biliar, sepse, pós-operatório), mononucleose, linfomas. ● obstrução biliar: coledocolitíase, carcinoma (vias biliares, fígado ou pâncreas), verminoses (<i>Ascaris lumbricoides</i>), abscessos, pancreatites, doenças congênitas das vias biliares. 	<ul style="list-style-type: none"> ● alteração no transporte: mecanismo de competição de drogas pelo sítio de ligação da albumina, acidose metabólica, hipoalbuminemia. ● aumento da oferta: reação transfusional, anemia hemolítica (autoimune, hemoglobinopatias, drogas), infecções virais e bacterianas, queimaduras, reabsorção de hematomas, infarto pulmonar. ● redução da captação: contrastes radiológicos, distúrbio transitório após hepatite, imaturidade neonatal, alguns casos de síndrome de Gilbert. ● alteração na conjugação: deficiência total ou parcial da enzima glicuroniltransferase (síndrome de Gilbert), imaturidade neonatal.

1.4.3.7 Enzimas

As reações bioquímicas que ocorrem no corpo humano normalmente são catalisadas pelas enzimas. Neste tópico, serão apresentadas algumas das inúmeras enzimas avaliadas nas análises clínicas e suas aplicações no diagnóstico de diferentes condições patológicas.

- **Amilase**

Hidrolase de origem predominantemente pancreática e da glândula salivar, cuja função é degradar complexos de carboidratos. São conhecidas duas isoenzimas: a pancreática e a salivar, na proporção de 30:70 em soro de indivíduos sadios. As dosagens de amilase sérica e urinária são largamente utilizadas no diagnóstico de doenças do pâncreas e na investigação da função pancreática. A maioria dos pacientes com pancreatite aguda possui níveis séricos que se elevam entre 2 e 12 horas após o início do episódio, atingindo concentrações máximas em 24 horas, que retornam à faixa de normalidade entre 48 e 72 horas. As altas concentrações de amilase sérica não estão diretamente relacionadas à gravidade do envolvimento pancreático, mas indicam grande probabilidade de um quadro clínico de pancreatite aguda. Aumentos da amilase sérica (hiperamilasemia), no entanto, não se devem necessariamente à pancreatite, pois tumores de pulmão e de ovário podem elevar seus níveis em cerca de 50 vezes o intervalo de referência. Ao redor de 25% da amilase sérica é eliminada pela urina, e na insuficiência renal a amilase sérica mantém-se elevada proporcionalmente à extensão do comprometimento do órgão. Aproximadamente 20% dos indivíduos com pancreatite aguda apresentam índices normais de amilase sérica. Em episódios agudos de pancreatite crônica, esses níveis podem estar ligeiramente aumentados, porém frequentemente permanecem normais. A amilase pode ligar-se a proteínas, formando complexos de alto peso molecular (macroamilases). Esse fato é caracterizado por valores de amilase sérica persistentemente elevados sem causa aparente, acompanhados de dosagem urinária normal ou baixa. Deve suspeitar-se de macroamilasemia quando a relação entre o *clearance* de amilase e o

clearance de creatinina é $< 1\%$ (relação normal entre 1% e 4%). No quadro 1.17 estão listadas algumas causas de hiper e hipoamilasemia.

Quadro 1.17. Principais causas de hiperamilasemia e hipoamilasemia.

Hiperamilasemia	Hipoamilasemia
<ul style="list-style-type: none"> • parotidite • pancreatite aguda • macroamilasemia • queimaduras graves • lesão de glândula salivar • doença intra-abdominal (peritonite, apendicite aguda) • intoxicação alcoólica • insuficiência renal grave • câncer de pâncreas • obstrução das vias biliares • obstrução do canal pancreático • neoplasias de pulmão ou ovário 	<ul style="list-style-type: none"> • insuficiência pancreática • fibrose cística avançada • hepatopatias graves

Para a análise de amilase presente em soro ou plasma heparinizado, utiliza-se o método de Caraway modificado. A α -amilase presente na amostra hidrolisa o amido do substrato, gerando a maltose. A solução de iodo utilizada no ensaio reage com o amido que sobrou da reação com a α -amilase. A atividade enzimática é medida de acordo com a intensidade da cor azul formada (complexo iodo-amido).

- **Colinesterase**

A colinesterase é encontrada no organismo sob duas formas: a colinesterase verdadeira – acetilcolinesterase ou colinesterase eritrocitária –, encontrada nas hemácias e nas sinapses do sistema nervoso central, e a pseudocolinesterase – benzoilcolinesterase ou colinesterase plasmática –, encontrada no soro e no fígado. As duas são muito importantes para o diagnóstico da intoxicação por organofosforados, condição na qual se apresentam em níveis reduzidos. Na suspeita de intoxicação crônica, indica-se a dosagem da acetilcolinesterase; na exposição aguda, recomenda-se determinar a taxa de pseudocolinesterase. A terapia pós-intoxicação pode ser acompanhada pela determinação da concentração de acetilcolinesterase, uma vez que níveis reduzidos dessa enzima levam a coma e convulsões. Os níveis de colinesterase também podem estar reduzidos nos casos de anemias, desnutrição, distrofia muscular, doenças hepáticas (hepatite viral, cirrose, congestão hepática e amebíase hepática), doença renal crônica, infarto do miocárdio, infecções agudas e uso de contraceptivos orais, estrogênios e corticoides. Níveis aumentados podem ser observados nos casos de alcoolismo, câncer de mama, síndrome nefrótica e obesidade. Para a dosagem de colinesterase em soro ou plasma, utiliza-se o método de Ellman modificado. Nesse ensaio, ocorre a hidrólise do iodeto de acetiltiocolina, com formação de iodeto de tiocolina e ácido acético. A tiocolina reage com o ácido dinitrobenzoico presente no meio reacional, gerando um composto de coloração amarela, cuja intensidade é medida fotometricamente (avaliação cinética).

- **Creatinoquinase**

A creatinoquinase (CK), também denominada ATP-creatina-N-fosfo-transferase, funciona como importante enzima reguladora da produção e da utilização de fosfatos de alta energia nos tecidos contráteis. A creatinoquinase total é encontrada em altas concentrações na musculatura esquelética e cardíaca e, em menores quantidades, no cérebro, intestino e pulmões. Trata-se de um dímero composto por duas cadeias distintas, denominadas M (muscle = músculo) e B (brain = cérebro), que

podem estar combinadas de três formas, criando as isoenzimas da CK: CK-MM, CK-MB e CK-BB. A CK-MM é encontrada principalmente na musculatura estriada; a CK-BB está presente no cérebro, cólon, íleo, estômago e bexiga; e a CK-MB encontra-se principalmente no miocárdio, mas pode estar presente em menor proporção no músculo estriado esquelético (1% a 4%, sendo o restante CK-MM).

A CK é utilizada para realizar o diagnóstico e o acompanhamento de patologias que envolvem os músculos esqueléticos, como a dermatomiosite e o hipotireoidismo. Sua importância no infarto agudo do miocárdio atualmente é limitada, uma vez que sua elevação ocorre mais lentamente após o início da dor precordial (4 a 6 horas), além de não ser específica para a musculatura cardíaca e de apresentar uma faixa de referência bastante ampla – por exemplo, pode apresentar-se normal em indivíduos sedentários com infarto agudo do miocárdio.

Assim sendo, marcadores cardíacos mais específicos, que se elevam mais precocemente, como CK-MB e as troponinas (I e T), atualmente substituem a CK total nos quadros de infarto agudo do miocárdio. Os níveis de CK podem estar elevados nos casos de infarto do miocárdio, exercício físico recente, miopatias congênitas e adquiridas, acidente vascular cerebral, doenças infecciosas, convulsões generalizadas e neoplasias de próstata, vesícula e trato gastrointestinal. Em casos onde ocorre diminuição da massa muscular, em doenças do tecido conjuntivo e em doença alcoólica do fígado, os níveis de CK se encontram diminuídos.

- **Creatinoquinase fração MB**

A creatinoquinase fração MB (CK-MB) é considerada um dos marcadores bioquímicos para o diagnóstico de lesão miocárdica, sendo a base para a comparação com outros marcadores. Em termos de diagnóstico, apesar de ser específica para lesão do miocárdio, a CK-MB também pode estar elevada em paciente com lesões concomitantes na musculatura esquelética e cardíaca, e isso pode diminuir sua especificidade cardíaca; para aumentar a sua especificidade, no caso da dosagem de CK-MB, pode ser calculado um índice relativo, conforme a equação:

$$\text{Índice de CK-MB} = (\text{CK-MB/CK total}) \times 100.$$

Essa equação permite avaliar, em termos percentuais, se a fração MB está aumentada em relação à CK total. Embora existam variações entre diferentes autores, valores acima de 5% estão associados com provável origem cardíaca para a CK-MB, indicando lesão do miocárdio. Por outra parte, níveis acima de 25% indicam possível interferência na dosagem causada pela presença da CK-BB ou CK, dado que pacientes com infarto agudo do miocárdio raramente têm concentração percentual de CK-MB superior a esse limite. A elevação e a queda características da CK-MB em uma dosagem seriada são quase decisivas para o diagnóstico de infarto do miocárdio. O aumento inicial dos níveis de CK-MB ocorre entre 4 e 6 horas após o início dos sintomas, atingindo níveis máximos depois de 24 horas e retornando ao nível normal entre 48 e 72 horas. Para um diagnóstico com alta sensibilidade e especificidade, é recomendada a dosagem seriada ao longo de um período de 8 a 12 horas. A CK-MB também é um componente importante para o diagnóstico de um novo episódio de infarto ou para avaliar a extensão da área de infarto.

Apesar de seu excelente desempenho, existem algumas limitações no uso da CK-MB como marcador ideal no infarto agudo do miocárdio, pois em alguns casos sua elevação só ocorre após 8 a 12 horas do início dos sintomas, uma vez que ela é transportada para a circulação estritamente através do sistema linfático. Em comparação com a mioglobina – que atinge a corrente sanguínea mais rapidamente porque não passa pela circulação linfática –, a fração CK-MB compromete a rapidez do diagnóstico de infarto agudo do miocárdio, além de não ser totalmente específica para o miocárdio. Para essa análise, utiliza-se o método de Rosalki.

- **Desidrogenase láctica (lactato desidrogenase)**

A lactato desidrogenase (LDH), uma enzima tetramérica, pertence a uma classe de enzimas que catalisam reações de oxirredução amplamente distribuídas em todos os tecidos humanos. Dependendo da

sua origem, a LDH apresenta pequenas diferenças. Os mamíferos possuem basicamente duas cadeias proteicas que compõem a LDH. Essas cadeias, quando combinadas, formam as isoenzimas LDH₁, LDH₂, LDH₃, LDH₄ e LDH₅, separáveis eletroforéticamente. A LDH localiza-se no citoplasma e seu aumento sérico ocorre após lise celular. As isoenzimas da LDH existem em diferentes proporções nos vários tecidos: no músculo cardíaco, rim e eritrócitos, predominam a LDH₁ e a LDH₂; as isoenzimas LDH₄ e a LDH₅ são as formas dominantes no fígado e no músculo esquelético. Como as concentrações da LDH dentro das células são cerca de quinhentas vezes maiores do que no soro, qualquer aumento na atividade da LDH no sangue sugere lesão tissular, e a fração isoenzimática predominante identifica o órgão de origem.

Após um infarto agudo do miocárdio, as atividades séricas da CK e da CK-MB elevam-se antes do aumento da LDH. Presente no miocárdio, a LDH₁ frequentemente acompanha a atividade da LDH total, elevando-se entre 8 e 12 horas após o início da dor precordial e atingindo seus níveis máximos em 24 a 72 horas. Como a LDH e suas isoenzimas estão presentes em todos os tecidos, é necessário realizar, na suspeita de infarto agudo do miocárdio, o diagnóstico diferencial com outras patologias ocasionadas por injúria tecidual, como infarto renal agudo, infarto mesentérico, neoplasia, hemólise aguda, hipotireoidismo, pancreatite e pneumonia.

Para a análise de LDH em soro ou plasma, utiliza-se o método de Wroblewski e colaboradores modificado. Nesse teste, a LDH converte reversivelmente o piruvato em lactato, com oxidação simultânea do NADH para NAD⁺. A diminuição da concentração de NADH é proporcional à atividade de LDH.

- **Fosfatase ácida total**

Enzima presente em tecidos, como ossos, próstata e baço, e nas células sanguíneas (hemácias, plaquetas e leucócitos). Sua elevação ocorre em processos de destruição plaquetária, doenças hemolíticas, doença de

Paget, metástase óssea, mieloma múltiplo e no câncer de próstata. Em indivíduos do sexo masculino, a fração prostática representa aproximadamente 50% da fosfatase ácida total, sendo o restante proveniente do fígado e da desintegração das plaquetas e eritrócitos.

- **Fosfatase ácida prostática**

Enzima que auxilia no diagnóstico e no monitoramento da terapia do carcinoma prostático, mas não substitui o antígeno prostático (PSA), uma vez que seus níveis podem se manter normais nos quadros iniciais da doença. Além do adenocarcinoma de próstata, pode estar elevada na leucemia mielocítica, na prostatite e na retenção urinária. Da mesma forma que o PSA, seus resultados sofrem interferência da manipulação prostática, como no toque de próstata e na ultrassonografia de próstata. Um dos métodos utilizados para a análise de fosfatase ácida em soro é o método de Bessey-Lowry modificado. Nesse método, a fosfatase ácida hidrolisa o p-nitrofenilfosfato em pH ácido (4,8), formando p-nitrofenol e fosfato. Em meio alcalino, o p-nitrofenol encontra-se sob a forma ionizada, apresentando coloração amarela que pode ser medida fotometricamente.

- **Fosfatase alcalina**

Enzima presente em muitos tecidos, principalmente no epitélio intestinal, túbulo renal, osteoblastos, fígado e placenta. No soro de adultos normais, a forma predominante origina-se principalmente no fígado e no esqueleto, e depende acentuadamente da idade. Sua função no metabolismo, que ainda não está bem compreendida, parece estar associada ao transporte lipídico no intestino e a processos de calcificação óssea. Sua dosagem é importante na investigação de doenças hepatobiliares e ósseas associadas à hiperatividade osteoblástica. A fosfatase alcalina tem seus níveis aumentados nos casos de doenças hepáticas e do trato biliar, na doença de Paget e nas metástases ósseas e de fígado (funciona como marcador tumoral). Em processos de crescimento ósseo fisiológico, também ocorrem aumentos nos níveis séricos da enzima: mulheres

no terceiro trimestre de gravidez podem apresentar níveis até três vezes acima do normal em decorrência da fração placentária adicional, dado que a atividade osteoblástica é elevada no feto. Os níveis de fosfatase alcalina podem estar diminuídos em casos de hipotireoidismo e durante o uso de estrogênios simples e conjugados com androgênio.

Para a dosagem de fosfatase alcalina em soro, o método mais utilizado é o Bessey-Lowry modificado. Nesse método, ocorre a reação da fosfatase alcalina com o p-nitrofenilfosfato, que é hidrolisado a p-nitrofenol e ácido fosfórico. Em meio alcalino, o p-nitrofenol encontra-se sob a forma ionizada, apresentando coloração amarela que pode ser medida fotometricamente.

- **Lípase**

A lípase é uma enzima que hidrolisa triglicerídeos, formando monoglicerídeos, e atua retirando a molécula de glicerol e liberando ácidos graxos livres. É produzida predominantemente no pâncreas exógeno, sendo um marcador de pancreatite. Na doença pancreática, a elevação de seus níveis séricos nem sempre coincide com a da amilase, e, frequentemente, ela permanece elevada por um período mais longo. Enquanto a amilase tende a aumentar os seus níveis mais precocemente na pancreatite aguda, a lípase eleva-se nas primeiras 12 horas após o início do episódio, mantendo os seus níveis aumentados por sete a dez dias.

Ao contrário da amilase, não existe interferência da lípase nos casos de parotidites agudas, uma vez que ela não está presente nas glândulas parótidas. E o aumento de seus níveis, quando comparado ao aumento da amilase, é menos pronunciado na doença renal crônica e aguda.

Para a dosagem de lípase em soro, que deve ser sem hemólise e não ictérico, o método mais utilizado é o de Vogel e Zieve modificado. Nesse método, a lípase presente na amostra catalisa a hidrólise dos ésteres presentes no óleo de oliva tamponado. São realizadas duas leituras de absorbância, e a diferença entre essas leituras representa a atividade enzimática da lípase.

- **Gama-glutamyltransferase (GGT/gGT)**

Enzima originada particularmente do sistema hepatobiliar e que possui a função de transferir o ácido glutâmico através das membranas celulares. Seus níveis encontram-se elevados especialmente nas colestases intra ou extra-hepáticas e também em casos de hepatoma, carcinoma de cabeça de pâncreas, carcinoma metastático de fígado, doença crônica alcoólica, cirrose, hepatite, hipertireoidismo e lúpus eritematoso sistêmico. No hipotireoidismo, os níveis da enzima encontram-se reduzidos.

O uso de álcool, agudo ou crônico, também pode ser verificado pela dosagem dessa enzima hepática, pois seus níveis séricos tornam-se pelo menos duas vezes mais elevados que o seu valor de referência após a ingestão. A liberação da GGT no soro reflete o efeito tóxico do álcool e de drogas como fenitoína, fenobarbital e ácido valproico sobre a estrutura microssomal dos hepatócitos.

Para a análise de GGT em soro e plasma, o método utilizado é o método de Szasz modificado. Esse método envolve a reação entre o substrato γ -glutamyl-p-nitroanilina e a enzima GGT presente na amostra analisada. A enzima transfere o radical glutamyl para a glicilglicina presente no meio reacional, liberando a p-nitroanilina, que é responsável pela formação de coloração amarela, medida fotometricamente.

- **Transaminases (aminotransferases)**

A atividade enzimática é um indicador comumente utilizado para avaliar possível dano hepatocelular. Duas das enzimas que podem ser utilizadas para esse fim são a alanina aminotransferase (ALT) e a aspartato aminotransferase (AST).

A ALT, também chamada transaminase glutâmico-pirúvica (TGP), está presente em grandes quantidades no fígado e no rim, e em pequenas quantidades na musculatura esquelética e no coração. Na avaliação da função hepática, a ALT é mais sensível para a detecção de danos do hepatócito do que para quadros de obstrução biliar e, por esse motivo, é considerada um excelente marcador hepatocelular.

A AST, ou transaminase glutâmico-oxalacética (TGO), é encontrada no miocárdio, fígado, musculatura esquelética, rim e cérebro. A dosagem dessa enzima auxilia no diagnóstico de doenças cardíacas, hepáticas e musculares.

Cerca de 80% da AST dos hepatócitos é mitocondrial. Já a ALT é citoplasmática. Essa diferença é muito importante e auxilia no diagnóstico e prognóstico de doenças hepáticas. Nos danos hepatocelulares graves, ocorre aumento da AST, ao passo que, nos casos onde as lesões hepáticas são leves, a forma predominante no soro é a citoplasmática, ou seja, ocorre elevação da ALT. A relação AST/ALT (índice de DeRittis) geralmente é menor que 1 em indivíduos com danos hepatocelulares agudos e é alta em casos graves.

A ALT encontra-se elevada na hepatite infecciosa e tóxica, doença pancreática, mononucleose, cirrose, icterícia obstrutiva e carcinoma metastático. Pacientes com infarto do miocárdio apresentam níveis de ALT geralmente normais ou levemente elevados.

Os níveis de AST elevam-se nas primeiras 12 horas após um infarto do miocárdio, atingindo seus valores máximos em 24 horas e normalizam-se após cerca de cinco dias. Ocorre também seu aumento significativo na necrose hepática, pancreatite aguda, anemias hemolíticas, hepatites, cirrose hepática, icterícia obstrutiva, hipotireoidismo, trauma e infarto cerebral, queimaduras severas e lesões da musculatura esquelética. Podem ocorrer pequenas elevações durante a gravidez. Drogas como a isoniazida, a eritromicina, a progesterona e os esteroides anabólicos podem elevar seus níveis; por isso, essa enzima é útil no monitoramento de terapias com substâncias hepatotóxicas.

Para a análise de AST em soro e plasma, utiliza-se o método de Reitman-Frankel modificado para AST. Nesse método, a enzima AST transfere o grupo amino da molécula de aspartato para o α -cetoglutarato, formando glutamato e oxalacetato. Esse último reage com a 2,4-dinitrofenil-hidrazina, presente no meio reacional, para formar a hidrazona correspondente, que em meio alcalino apresenta coloração diretamente proporcional à atividade enzimática e que pode ser medida fotometricamente.

Uma variação desse método também é utilizada para a análise de ALT. Nela, a enzima ALT transfere o grupo amino da molécula de alanina para o α -cetoglutarato, formando glutamato e piruvato. Esse último reage com a 2,4-dinitrofenil-hidrazina presente no meio reacional para formar a hidrazona correspondente, que, em meio alcalino, apresenta coloração que pode ser medida fotometricamente e é diretamente proporcional à atividade enzimática.

1.4.4 Eletrólitos

1.4.4.1 Cálcio

O cálcio é o quinto componente mineral mais abundante no organismo e é encontrado principalmente nos ossos (98%), nos dentes e nas cartilagens. Atua de forma importante na contração e relaxamento do miocárdio, no processo de ossificação, na coagulação sanguínea, na condução neuromuscular, na manutenção da integridade da membrana celular, no mecanismo de ação de alguns hormônios e na ativação de algumas enzimas.

No trato gastrointestinal, o cálcio sofre a ação do suco gástrico, sendo absorvido em seguida no duodeno e no íleo. Essa absorção ocorre por um processo ativo, mediado por proteínas intestinais específicas, cujos níveis aumentam pela ação da vitamina D_3 , do paratormônio (PTH) e de esteroides sexuais, e diminuem pela ação de corticoides e algumas drogas anticonvulsivantes. O PTH atua na mobilização de cálcio e fósforo do osso, aumentando a reabsorção tubular de cálcio e a eliminação do fosfato pela urina. A calcitonina inibe a reabsorção óssea e tubular de cálcio, e a vitamina D aumenta a mineralização do tecido ósseo. Os glicocorticoides e os hormônios tireoidianos reabsorvem cálcio e fósforo do osso; já o hormônio de crescimento aumenta a massa óssea, com a manutenção de cálcio e fósforo na matriz óssea. O cálcio sanguíneo pode estar ionizado sob forma ativa (50%), associado à albumina e globulina (45%), ou formando complexos com citrato, fosfato e bicarbonato (5%).

Níveis elevados de cálcio (hipercalcemia) provocam lesões no rim e litíase renal, distúrbios neurológicos e neuromusculares. A hipocalcemia (níveis redu-

zidos de cálcio) provoca hiperexcitabilidade neuromuscular, com espasmos e contraturas musculares. A análise dos níveis de cálcio sérico é um teste bioquímico de triagem muito comum e confiável para diagnosticar o hiperparatireoidismo primário ou secundário. No quadro 1.18 encontram-se listadas algumas possíveis causas de hipercalcemia e hipocalcemia.

Quadro 1.18. Causas de aumento e redução dos níveis de cálcio sanguíneo.

Hipercalcemia	Hipocalcemia
<ul style="list-style-type: none"> • hiperparatireoidismo • hipervitaminose D • doença de Paget • doenças malignas com comprometimento ósseo • carcinoma de mama, gástrico ou de pulmão • nefropatias 	<ul style="list-style-type: none"> • hipoparatiroidismo • deficiência de vitamina D • acidose crônica • esteatorreias • má absorção intestinal • uremias

Outra análise que reflete a absorção intestinal, a reabsorção óssea e a perda renal de cálcio é a **dosagem de cálcio urinário**. Essa dosagem auxilia no acompanhamento das terapias de reposição, nas doenças ósseas, na avaliação do metabolismo do cálcio, na nefrolitíase, nas hipercalcúrias idiopáticas e nas doenças da paratireoide. Na determinação desses valores, deve-se considerar a ingestão de cálcio nos dias que antecedem a coleta de urina. Para a realização dessa análise, o indivíduo deve realizar uma dieta pobre em cálcio, evitando leite e derivados nos quatro a sete dias que antecedem a coleta, ou conforme solicitação médica.

Para a análise de cálcio em soro ou urina (coletada num período de 24 horas), utiliza-se o método de Bachra modificado. Esse método envolve a titulação direta do cálcio pelo EDTA, em meio alcalino, com o ácido calconcarboxílico como indicador. O magnésio interfere no método, porém o pH

12 do meio reacional minimiza essa interferência. Outro método utilizado é o método compleximétrico, no qual o cálcio reage com a cresolftaleína complexona em meio alcalino, formando um complexo colorido que é determinado fotometricamente.

1.4.4.2 Cloro (íons cloreto)

O cloreto (Cl) é o principal ânion extracelular e, juntamente com o sódio, representa a maioria dos constituintes osmoticamente ativos do plasma. Está envolvido no balanço hidroeletrolítico e na manutenção da pressão osmótica. A maior parte do cloreto ingerido é absorvida; seu excesso é excretado na urina. Os níveis de cloreto, portanto, sofrem alterações nos distúrbios ácido-básicos e nos hidroeletrolíticos. O quadro 1.19 relaciona algumas causas de aumento e redução dos níveis de cloreto no sangue.

Quadro 1.19. Causas de aumento e diminuição dos níveis de cloreto no sangue.

Níveis aumentados	Níveis diminuídos
<ul style="list-style-type: none"> ● insuficiência renal aguda ● acidose metabólica por perda de bicarbonato ● acidose tubular renal ● alcalose respiratória ● intoxicação por salicilato ● desidratação 	<ul style="list-style-type: none"> ● vômito prolongado (perda de secreção gástrica) ● alcalose metabólica ● nefrite com perda de sal ● acidose respiratória ● doença de Addison ● hipersudorese

Para a análise de cloreto em sangue e em urina coletada num período de 24 horas, utiliza-se o método de Schales e o método de Schales modificado. Nesses métodos, ocorre a reação dos íons cloreto com os íons mercúrio, formando o cloreto de mercúrio, não dissociado e solúvel. Os íons mercúrio

em excesso se combinam com a difenilcarbazona presente no meio reacional, gerando um complexo de coloração azul-violeta. Também é utilizado o método colorimétrico, no qual os íons cloreto ligam-se ao mercúrio do reagente cloroanilato de mercúrio, formando o cloreto de mercúrio, que é solúvel, mas não ionizável. Ocorre também a liberação de ácido cloroamílico, que possui coloração vermelha e pode ser medido fotometricamente.

1.4.4.3 Ferro

A dosagem do ferro sérico é fundamental para o diagnóstico das anemias ferroprivas (hipocrômicas e microcíticas), nas quais há deficiência desse analito. A avaliação dos níveis séricos de ferro também é importante nas alterações hematológicas em que ocorre o excesso desse analito, como é o caso da hemocromatose e da hemossiderose.

Sua determinação pode ser feita isoladamente ou em conjunto com a ferritina e hemossiderina, que avaliam as reservas de ferro no organismo. Na anemia megaloblástica por carência de B12, pode ocorrer uma carência de ferro após a reposição da vitamina, por causa do aumento do consumo de ferro pelas hemácias. Nas anemias hemolíticas, o ferro sérico pode variar de normal até aumentado, dependendo do tempo em que o processo hemolítico foi iniciado.

Para a dosagem de ferro em soro, utiliza-se o método TPTZ, que envolve uma reação de redução do ferro em meio ácido. O ferro ligado à transferrina é liberado, reagindo, posteriormente, com o TPTZ (2,3,5-cloreto de trifeniltetrazolium). Ocorre a formação de um produto colorido, cuja intensidade é medida fotometricamente.

• **Transferrina**

Glicoproteína sintetizada no fígado, com meia-vida de aproximadamente sete dias. É a principal proteína plasmática transportadora de ferro, e, por esse motivo, seus níveis sofrem variações em consequência da deficiência de ferro ou de doenças crônicas, voltando ao normal após o tratamento. Em condições normais, apenas um terço da transferrina plasmática encontra-se sob a forma saturada. Sua concentração está diretamente relacionada à

capacidade total de ligação do ferro (TIBC), por isso, é útil nos casos de dosagens pediátricas, uma vez que exige pequenas quantidades de amostra quando comparada com a técnica do TIBC.

Os níveis de transferrina encontram-se aumentados na anemia ferropriva, no período gestacional e durante o uso de contraceptivos orais. A redução dos níveis de transferrina é observada nos estados inflamatórios crônicos, nas doenças hepáticas crônicas e nos casos de doença renal.

• Capacidade total de ligação do ferro

A capacidade total de ligação do ferro (TIBC) representa a porção total de ferro ligada à transferrina. Em patologias que reduzem as reservas de ferro (anemia ferropriva, deficiência do metal ou perda sanguínea), na insuficiência hepática ou em situações em que a produção de transferrina encontra-se aumentada (gestação e uso de anticoncepcional oral), a capacidade total de combinação do ferro aumenta. Na hemocromatose, patologia em que os níveis de ferro estão elevados, a TIBC diminui. A redução da produção hepática de transferrina na cirrose hepática, as nefropatias, hepatopatias crônicas e as perdas proteicas na síndrome nefrótica também diminuem a capacidade total de combinação do ferro.

Para a avaliação dessa ligação, utiliza-se a capacidade do ferro de precipitar na presença de carbonato de magnésio. No soro, a transferrina é totalmente saturada após o tratamento com excesso de ferro. O ferro não combinado é precipitado com o carbonato de magnésio presente no meio reacional, e o ferro combinado pode ser determinado no sobrenadante.

• Índice de saturação da transferrina

O índice de saturação da transferrina é usado na distinção das causas comuns de anemias. Ele estabelece a relação entre a quantidade de ferro sérico e a quantidade de transferrina ou com a capacidade total de fixação do ferro (TIBC) presente. Normalmente, aumentos da TIBC ocorrem em resposta ao decréscimo nos níveis de ferro sérico (deficiência de ferro), porém, em geral, a TIBC apresenta-se

normal em doenças inflamatórias crônicas. O índice de saturação da transferrina é obtido pelo seguinte cálculo:

$$\text{saturação (\%)} = \frac{\text{ferro sérico (\mu\text{g/dL})} \times 100}{\text{transferrina (\mu\text{g/dL})}} \quad (\text{valores de referência: 20\% a 55\%})$$

O quadro 1.20 apresenta a comparação entre os níveis de ferro sérico, a TIBC e o índice de saturação da transferrina em diferentes quadros clínicos.

Quadro 1.20. Comparação entre níveis de ferro, TIBC e índice de saturação.

Quadro clínico	Ferro	TIBC	Índice de saturação
• deficiência de ferro	reduzido	aumentada	reduzido
• infecção crônica	reduzido	reduzida	reduzido
• malignidade	reduzido	reduzida	reduzido
• menstruação	reduzido	normal	reduzido
• envenenamento por ferro	aumentado	aumentada	aumentado
• anemia hemolítica	variado	variada	variado
• hemocromatose	aumentado	normal/reduzida	aumentado
• infarto do miocárdio	reduzido	normal	reduzido
• gravidez tardia	reduzido	aumentada	reduzido
• uso de contraceptivo oral	aumentado/ normal	aumentada	normal
• hepatite viral	aumentado	aumentada	normal/ aumentado
• nefrose	reduzido	reduzida	aumentado
• talassemia	aumentado	reduzida	aumentado

1.4.4.4 Fósforo

O fósforo é um elemento amplamente distribuído no organismo sob a forma de fosfato orgânico ou inorgânico. Nos indivíduos adultos, aproximadamente

85% do fósforo inorgânico estão presentes no esqueleto. O percentual restante encontra-se combinado com carboidratos, proteínas e lipídios, e incorporado a outras substâncias orgânicas, como fosfolipídios, fosfoproteínas, ácidos nucleicos e outros compostos de alta energia envolvidos na integridade celular, com função de estocagem e troca de energia.

Três órgãos estão principalmente comprometidos com o equilíbrio homeostático do fósforo: o intestino delgado, responsável pela sua absorção, os rins, encarregados das funções de filtração e reabsorção do fósforo, e o esqueleto, que promove o seu armazenamento. Cerca de dois terços do fosfato ingerido sofre absorção ativa, principalmente no jejuno; o restante é excretado por via fecal.

O aumento do fosfato sérico ocorre por redução da filtração glomerular, aumento da reabsorção tubular renal e aporte exógeno ou endógeno. Os níveis de fosfato encontram-se aumentados na hipocalcemia, em casos de hipervitaminose D, na osteoporose, na metástase óssea, na insuficiência renal etc. A ação do paratormônio também influi nesse aumento, como provável efeito indireto do metabolismo da vitamina D. Cerca de 90% do fosfato é filtrado pelos glomérulos e reabsorvido pelos túbulos. A diminuição ocorre por desordens tubulares de reabsorção e aumento das perdas. Os níveis de fosfato encontram-se reduzidos na hipovitaminose D, no raquitismo, em indivíduos que fazem uso de antiácidos e diuréticos e no alcoolismo. O PTH inibe sua reabsorção tubular renal, ou seja, no hiperparatireoidismo primário encontramos elevação do fósforo urinário. Os níveis séricos dependem da alimentação. Recomenda-se a coleta pela manhã por causa de relatos de variações diurnas.

Os níveis de fosfato urinário variam com a idade, a função renal, a massa muscular, a hora do dia, a dieta e a ação do PTH. A dosagem de fosfato urinário auxilia no diagnóstico das doenças ósseas, como a osteomalacia e a doença de Paget.

A análise de fosfato urinário é realizada em urina coletada num período de 24 horas. Para isso, utiliza-se o método de Fiske e Subbarow. Nesse método, a amostra é desproteinizada com ácido tricloroacético, e o fosfato presente reage com o molibdato de amônio para formar o fosfomolibdato de amônio. Esse, na presença do ácido aminonaftolsulfônico, gera o azul de molibdênio (óxido de molibdênio), cuja intensidade de coloração é medida fotometricamente.

1.4.4.5 Magnésio

O magnésio é o quarto cátion mais abundante no organismo humano. Atua como cofator indispensável para as enzimas ligadas aos processos de respiração celular, glicólise e transporte de cálcio e sódio através da membrana. Num adulto, o magnésio total encontra-se distribuído da seguinte forma: aproximadamente 60% nos ossos, 20% na musculatura esquelética, 19% em outros tecidos e 1% no líquido extracelular. Cerca de dois terços do magnésio sérico existem predominantemente como íons livres, um terço está ligado a proteínas, principalmente à albumina, e um pequeno percentual forma complexos de ânions. O magnésio ingerido é absorvido no intestino delgado e excretado pela via urinária. Essa eliminação é controlada pela reabsorção tubular.

A redução dos níveis de magnésio sérico (hipomagnesemia) está associada à hipocalcemia (redução do cálcio) e à hipocalemia (redução do sódio). Dentre as causas mais comuns de diminuição do magnésio, estão o alcoolismo agudo, a pancreatite aguda, as perdas gastrointestinais (má absorção, uso abusivo de laxantes e vômitos) e as perdas renais (diuréticos, necrose tubular, acidose tubular renal). Deficiências severas estão ligadas a disfunções neuromusculares, como tetania, fraqueza, convulsões, irritabilidade e delírio.

A hipermagnesemia é comumente causada pelo uso de antiácidos contendo magnésio, enemas com magnésio, intoxicação por lítio e nutrição parenteral; também é observada em indivíduos com nefrolitíase, insuficiência renal aguda ou crônica.

A determinação dos níveis de magnésio urinário é indicada para auxiliar o diagnóstico da hipomagnesemia, quando o indivíduo apresenta sintomas neurológicos e gastrointestinais sem, no entanto, apresentar redução do magnésio sérico. Na ausência de condições que promovam a excreção do magnésio, o indivíduo tende a apresentar níveis urinários acima dos valores de referência (25 mg em 24 horas), o que sugere o quadro de hipomagnesemia.

Para a dosagem de magnésio em soro ou em urina (coletada num período de 24 horas), utiliza-se o método de Sky-Peck. Esse método envolve a formação de um complexo de coloração vermelha proveniente da reação entre o magnésio e o amarelo titan em meio alcalino. A intensidade da coloração é medida fotometricamente.

1.4.4.6 Potássio

O potássio está presente em elevadas concentrações no espaço intracelular e tem grande importância na manutenção do equilíbrio eletrolítico através da membrana celular. As variações em suas concentrações prejudicam a capacidade de contração muscular, tanto da musculatura lisa quanto da musculatura estriada. Os níveis séricos de potássio encontram-se aumentados (hiperpotassemia) em casos de hemólise maciça, insuficiência renal e aumento do catabolismo celular. Patologias que evoluem com hiperplaquetemia por liberação do potássio intraplaquetário também podem apresentar hiperpotassemia artificial. A hipopotassemia (níveis reduzidos de potássio no sangue) pode ser observada nas seguintes condições: vômitos e diarreias excessivos, nefrites e administração de diuréticos, digitálicos, cortisona e testosterona. Amostras hemolisadas são inadequadas para essa análise, pois aumentam sensivelmente os níveis séricos de potássio.

1.4.4.7 Sódio

O sódio é um cátion presente em grande quantidade no líquido extracelular. As variações em seus níveis séricos, seja a redução (hiponatremia) ou o aumento (hipernatremia), provocam alterações na osmolaridade. Graças ao seu grande poder osmótico, o sódio possui a capacidade de distribuir água por todo o corpo. Quase todo o sódio proveniente da dieta é excretado por via urinária. Níveis reduzidos resultam em alterações neurológicas que vão desde fraqueza muscular até alterações de comportamento, distúrbios de equilíbrio e coma.

A dosagem do sódio urinário é importante para a avaliação das hiponatremias por perda renal (rins policísticos, acidose tubular proximal), nas oligúrias pré-renais (sódio urinário < 10 mEq/L) ou oligúria renal (sódio urinário > 10 mEq/L).

O quadro 1.21 apresenta algumas causas de aumento ou redução dos níveis de sódio no sangue e na urina.

Quadro 1.21. Causas de aumento ou redução de sódio no sangue e na urina.

Sangue		Urina	
Níveis aumentados	Níveis reduzidos	Níveis aumentados	Níveis reduzidos
<ul style="list-style-type: none"> • terapia excessiva com salina • acidose diabética • desidratação (vômito, diarreia) • sudorese excessiva 	<ul style="list-style-type: none"> • ingesta baixa de sódio • reposição inadequada • uso abusivo de diuréticos • hipotireoidismo 	<ul style="list-style-type: none"> • diuréticos • dieta rica em sódio • secreção inapropriada de ADH • hipotireoidismo 	<ul style="list-style-type: none"> • dieta pobre em sódio • necrose tubular • síndrome nefrótica • retenção pré-menstrual

Uma solução que entre em contato com uma chama é atomizada, emitindo luz. Cada elemento químico analisado emite radiações específicas, que são isoladas de outras radiações e podem ser medidas. A separação do espectro de emissão de cada elemento é realizada por filtros ópticos e prismas. A intensidade da emissão é proporcional à concentração do elemento analisado. Devido à precisão e à rapidez de análise, é possível determinar os níveis de mais de um analito simultaneamente. O sódio possui a capacidade de emitir luz quando atomizado em chama, e essa característica pode ser utilizada em sua dosagem. O sódio emite luz amarela quando atomizado.

Referência bibliográfica

WINZLER, Richard L. et al. Studies on the Mucoproteins of Human Plasma. I. Determination and Isolation. *Journal of Clinical Investigation*, v. 27, n. 5, p. 609-616, 1948.

Bibliografia complementar

BERG, Jeremy M.; TYMOCZKO, John L.; STRYER, Lubert. *Bioquímica*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

HILL, Stephen A.; McQUEEN, Matthew J. Reverse Cholesterol Transport-A Review of the Process and Its Clinical Implications. *Clinical Biochemistry*, v. 30, p. 517-525, 1997.

LEHNINGER, Albert L.; NELSON, David L.; COX, Michael M. *Princípios de bioquímica*. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 1995.

LIMA, A. Oliveira et al. *Métodos de laboratório aplicados à clínica: técnica e interpretação*. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

MARTINELLO, Flávia; SILVA, Edson Luiz da. Ascorbic Acid Interference in the Measurement of Serum Biochemical Parameters: In Vivo and In Vitro Studies. *Clinical Biochemistry*, v. 39, p. 396-403, 2006.

MARZZOCO, Anita; TORRES, Bayardo Baptista. *Bioquímica básica*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

MILLER, Otto; GONÇALVES, Raul Reis. *Laboratório para o clínico*. 8. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

MORITA, Tokio; ASSUMPÇÃO, Rosely M. V. *Manual de soluções, reagentes e solventes*. 2. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2007.

MORRISON, Robert Thornton; BOYD, Robert Neilson. *Química orgânica*. 10 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1993.

MOURA, Roberto de Almeida et al. *Técnicas de laboratório*. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2002.

SOLICHOVA, Dagmar et al. Biochemical Profile and Survival in Nonagenarians. *Clinical Biochemistry*, v. 34, p. 563-569, 2001.