

BIOQUÍMICA EM MEDICINA

Vol. II

Metodologias e Programas de Estudo

**Os Editores agradecem a generosa comparticipação financeira  
da Fundação Calouste Gulbenkian que tornou possível  
a publicação desta obra**

BIOQUÍMICA EM MEDICINA

Vol. II

Metodologias e Programas de Estudo

Editores

*J. Martins e Silva*

*Carlota Saldanha*



Edições Colibri

**Título** Bioquímica em Medicina – Vol. II  
Metodologias e Programas de Estudo

**Editores** © J. Martins e Silva e Carlota Saldanha

**Edição** Edições Colibri

**ISBN** 978-972-772-977-7

**Depósito legal** 307 109/10

**Data de edição** Março de 2010

# Índice

## VOLUME I

### Análises e Perspectivas

Prefácio .....	9
----------------	---

#### **Capítulo 1 – Acesso ao Ensino de Bioquímica em Medicina e Avaliação Diagnóstica de Conhecimentos**

1 – Preparação real dos alunos candidatos ao curso de Medicina, na área da química. In: J Soc Ciên Méd Lisboa 1984; 148:28-32 .....	15
2 – Ensino de bioquímica. In: Boletim FML 1986; 16:1-2 .....	23
3 – Apreciação de uma avaliação diagnóstica precedente ao ensino de bioquímica em 1986/1987. In: Actas do IV Cong Nac Educ Méd, Lisboa 9-11/Janeiro/1987 .....	25
4 – Avaliação diagnóstica dos interesses, vivências e conhecimentos de química dos alunos admitidos à FML em 1989/1990. In: Acta Méd Port 1991; 4:37-42 .....	37
5 – Acesso à Faculdade de Medicina de Lisboa. Avaliação dos conhecimentos específicos de química e perfil sócio-cultural dos alunos admitidos nos anos lectivos de 1989/90 e 1990/91. In: Boletim FML 1991; Série II, 8:20, 5-15 .....	51
6 – Análise de alguns factores académicos e demográficos potencialmente preditores do rendimento na disciplina de bioquímica pelos estudantes de medicina admitidos na Faculdade de Medicina de Lisboa em 1990/1991. In: Educ Méd 1992, 3 (3): 106-124 .....	69

- 7 – Proposta de re-estruturação das perguntas de química nas provas específicas de biologia, física e química e suas implicações.  
In: Educ Méd 1993, 4 (1), 18-26 ..... 87
- 8 – Insuficiente escolaridade de química orgânica do ensino pré-universitário Português.  
In: Rev. Química 1994, 55:10 ..... 99
- 9 – Um cuidado adicional na pré-graduação.  
In: Rev FML 1996; III (3-4) 63-64 ..... 103
- 10 – Hábitos de estudo e estilos de aprendizagem dos alunos do 1º ano da Faculdade de Medicina de Lisboa – caracterização e evolução.  
In: Rev FML 2000; Série III 5 (5): 313-317 ..... 107
- 11 – Self-learning habits of students.  
In: *Medical Education in Europe. Anthology of Med-Net Conference Presentations* 1998, Lille and 1999, Maastricht, pg 75-80, 1999 ..... 113

### Capítulo 2 – Bioquímica na formação médica

- 12 – Relevância da bioquímica no curriculum médico. Ensaio sobre a educação médica e a sua dependência da investigação e ciências experimentais.  
In: J. Soc. Ciên. Méd Lisboa. 1984; CXLVIII: 81-94 . ..... 121
- 13 – A bioquímica no progresso médico.  
In: Boletim FML 1986, 16:1-2 ..... 145
- 14 – Considerações sobre algumas modalidades de formação pós-graduada em bioquímica patológica.  
In: Educ Méd 1989, 3 (2): 160-165 ..... 149
- 15 – Ensino pós-graduado em bioquímica.  
In: Rev Medicina 1990; 6:3-7 ..... 159

### Capítulo 3 – Relatórios Pedagógicos

- 16 – Relatório pedagógico. – J. Martins e Silva, 1978 ..... 169
- 17 – Relatório pedagógico. – Carlota Saldanha, 2004 ..... 195

**VOLUME II****Metodologias e Programas de Estudo****Capítulo 4 – Programas de Estudo**

- 18 – Programas de estudo (Programas, sumários e procedimentos seguidos nas disciplinas de Bioquímica e Bioquímica Fisiológica. Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa)  
In: Edição do Instituto de Bioquímica/Instituto de Biopatologia Química, FML (2005) ..... 11
- 19 – A aprendizagem de bioquímica por métodos experimentais  
In: Actas do IV Congresso Nacional de Educação Médica, Lisboa, 9-11 de Janeiro 1987 ..... 239
- 20 – Curso de iniciação à investigação científica – uma experiência pedagógica no âmbito da bioquímica  
In: Rev FML1995; Série II (2) 102-104 ..... 257
- 21 – Uma experiência de ensino-aprendizagem baseado em problemas com alunos de medicina sem aproveitamento anterior em bioquímica fisiológica  
In: Comunicação apresentada em *Annual Conference of the Association for Medical Education in Europe*, Beer Sheva, Israel, 27-30/Agosto/2000 ..... 261

**Capítulo 5 – Metodologias**

- 22 – Estágio de investigação laboratorial em bioquímica: acção *in vitro* e *in vivo* do LPS  
In: Rev. FML 2002; Série III, 7 (6): 279-286 ..... 291
- 23 – Cursos livres de bioquímica experimental para alunos de medicina: 15 Anos de uma Iniciativa Pedagógica  
In: Edição do Instituto de Bioquímica, FML (1997) ..... 307
- 24 – Seminários pré-graduados de bioquímica: uma proposta didáctica para melhorar a interacção intra e interdisciplinar no curso de medicina  
In: Rev FML 1995; Série II, I(4):182-184 ..... 337
- 25 – Seminários multidisciplinares de bioquímica (1989/90-2006-07)  
In: Actas de Bioquímica, volume 8, 2007 ..... 343

**VOLUME III****Temas e Mapas Metabólicos de Bioquímica Fisiológica****Capítulo 6 – Problemas e casos clínicos de aplicação bioquímica**

- 26 – Temas de Bioquímica Fisiológica.  
In: Edição do Instituto de Bioquímica, FML (1ª Ed: 1996; 2ª Ed 1997) ..... 11
- 27 – Temas de Bioquímica Fisiológica (Colectânea de problemas e casos clínicos seleccionados para o ensino-aprendizagem de estudantes de Medicina na disciplina de Bioquímica Fisiológica, de 1998 a 2005).  
In: Edição do Instituto de Bioquímica/Instituto de Biopatologia Química, FML (2005) ..... 39

**Capítulo 7 – Diagramas**

- 28 – Mapas metabólicos e outros esquemas ..... 201



## Capítulo 4

### Programas de Estudio



**PROGRAMAS DE ESTUDO**  
(Programas, sumários e procedimendos  
seguidos nas disciplinas de Bioquímica e Bioquímica Fisiológica.  
Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa)

*J. Martins e Silva, Carlota Saldanha*

### **Apresentação**

Entendemos que teria interesse agrupar nesta secção um conjunto de programas sob a nossa responsabilidade<sup>1</sup>, de 1978/79 e 2004/5, por incumbência do Conselho Científico, para o ensino das disciplinas de Bioquímica do currículo de Medicina, da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa. Parte daqueles programas foi também utilizada na leccionação de estudantes da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa, mediante protocolo interinstitucional que vigorou entre 1993 e 1999.

A disciplina de Bioquímica (que depois da revisão curricular em 1994/95 passou a ter a designação acrescida com a referência “Celular”) tem integrado quase sempre o 1º semestre do 1º ano do curso, enquanto a disciplina de Bioquímica Fisiológica (que até aquela revisão teve a designação de Química Fisiológica) com escolaridade anual, faz parte do programa do 2º ano do curso.

Desde o iniciar daquelas incumbências, tivemos como primeiro objectivo o de possibilitar um esquema de ensino – aprendizagem da matéria de Bioquímica que se afigurasse pedagogicamente atractivo e motivador dos alunos. Nessa perspectiva, num contexto de ensino tradicional centrado no docente e ao longo do período referenciado, foram experimentados diversos instrumentos pedagógicos, designadamente a transmissão de conhecimentos e factos sobre a matéria programada, a que acresciam aulas para discussão temática e resolução de problemas, filmes técnicos e seminários de base clínica.

---

<sup>1</sup> São incluídos os seguintes programas e sumários nos seguintes anos lectivos:  
Disciplina de Bioquímica (Celular): 1981/82, 1993/94, 1998/99, 2004/5;  
Disciplina de Bioquímica Fisiológica: 1994/95, 2004/5.

Até ao ano lectivo de 1994/95 não houve ensino laboratorial, primeiro porque não havia evidência internacional (nem a experiência que tínhamos sobre aquela opção diferida) quanto à respectiva utilidade pedagógica em cursos de Medicina e, segundo, porque simplesmente não existiam condições logísticas nem instalações adequadas para o efeito. Por conseguinte, o ensino baseava-se em aulas teóricas e teórico-práticas (inicialmente designadas por “aulas de aplicação”), que tinham por finalidades genéricas (a) preparar os alunos para aprenderem e demonstrarem conhecimentos exactos sobre a matéria fundamental do programa estabelecido, (b) para observarem, interpretar e resolverem situações novas relacionadas com o programa, e (c) analisarem e sintetizarem conhecimentos. Porém, para instilar nos alunos uma perspectiva conceptual de base experimental e conferir ao estudo uma dinâmica de aplicação prática, foram criados cursos<sup>2</sup> extracurriculares (que decorriam no período de férias, com duração quinzenal, em regime de voluntariado e intensivo) em que um grupo seleccionado e restrito de alunos tinha de desenvolver de um pequeno projecto laboratorial orientado.

Após 1994/95 aquele tipo de iniciativa deu lugar a um curso optativo curricular. Receou-se então que, o espírito que impregnava aquela iniciativa se perdesse, ao ser substituída por uma motivação diferente dos alunos, quiçá mais atraídos pelo valor elevado dos créditos curriculares conseguidos do que pelo entusiasmo pela descoberta. Porém, tal não se verificou sendo o preenchimento das vagas realizado por selecção entre os candidatos com classificação mínima de 14 valores na disciplina e por entrevista pessoal. Na mesma data foi reintroduzido o ensino laboratorial em Bioquímica Celular, com programa próprio de aulas práticas.

A par de alguma evolução dos objectivos iniciais, foram progressivamente introduzidas inovações metodológicas, com destaque para a inclusão (no programa ou extra-programa) de seminários contextualizando situações clínicas paradigmáticas, com génese em deficiências metabólicas. A calorosa adesão dos alunos, e também dos docentes, aquelas sessões (que por vezes ocupavam toda uma manhã) incentivou-nos a reorganizar algumas aulas teórico-práticas de modo que os sucessivos capítulos do programa fossem apresentados no âmbito de exemplos e problemas clínicos, reais ou simulados.

O modelo desenvolvido em Bioquímica Celular foi posteriormente extrapolado (desde 1994/95) à disciplina de Bioquímica Fisiológica, ainda que limitado a aulas teóricas, seminários da disciplina e multidisciplinares, e aulas teórico-práticas. Estas duas últimas modalidades eram apresentadas como desenvolvimento em situações clínicas comuns, nas quais os alunos eram estimulados a integrar os seus conhecimentos anteriores de matéria de bioquímica, e a desenvolverem hipóteses e soluções bioquímicas apropriadas. Uma parte crescente das aulas teóricas foi ilustrada com exemplos e

---

<sup>2</sup> Vide texto 21 desta Colectânea.

conteúdos clínicos em que a matéria era contextualizada como aplicação potencial. Apenas numa situação especial, no ano lectivo de 1998/99) representado por um numeroso grupo de estudantes repetentes que se acumulavam e estavam há diversos anos retidos sem aproveitamento na disciplina, foi utilizada metodologia pura de sistema PBL<sup>3</sup>.

O material aqui apresentado representa uma amostragem que se pretende representativa dos programas anuais das duas disciplinas no período referido e dos docentes que os leccionaram, de modo a ser observada a continuidade dos objectivos e processos, junto com algumas inovações e mudanças pontuais. Na 1.<sup>a</sup> Parte são incluídos todos os elementos respeitantes à disciplina de Bioquímica Celular, sendo a 2.<sup>a</sup> Parte reservada para idêntica discriminação da disciplina de Bioquímica Fisiológica.

Lisboa, Outubro de 2005

---

<sup>3</sup> Programa não incluído neste conjunto, analisado, vide texto 16 desta Colectânea).



## **1.ª Parte**

### **Disciplina de Bioquímica Celular**

- Docentes
  
- Programa e Conteúdos
  - Anolectivo de 1980/81
  - Anolectivo de 1994/95
  - Anolectivo de 2004/05





## 1. DISCIPLINA DE BIOQUÍMICA CELULAR

### 1.1 – Lista de docentes

DOCENTES DE BIOQUÍMICA (1979 A 2005)		
Nome	Cargo/ Função Docente	Anos lectivos
J. Martins e Silva	Coordenador de Área da Bioquímica	1994/95-2004/05
	Regente	1978/79-1997/98
M. Carlota Proença/ /Saldanha	Assistente Prof. Auxiliar	1979/80, 1980/81, 1981/82, 1982/83, 1983/84, 1984/85, 1985/86
	Regente – Prof. Associado	1986/87, 1987/88, 1988/89, 1989/90, 1990/91, 1991/92, 1992/93, 1993/94
	Regente – Prof. Associado c/ Agregação	1998/99, 1999/00, 2000/01, 2001/02, 2002/03, 2003/04, 2004/05
Lúcio Botas dos Santos	Assistente Assistente convidado	1981/82, 1982/83, 1983/84, 1984/85, 1985/86, 1986/87, 1987/88, 1988/89, 1989/90, 1990/91, 1990/92
M <sup>a</sup> . Helena Ribeiro	Assistente Assistente convidado	1981/82, 1982/83, 1983/84 1984/85, 1985/86
Helena Geada	Assistente	1979/80, 1980/81,
Lurdes Mira	Assistente	1980/81
F. Levy Cruz	Assistente	1980/81, 1981/82
J. Pedro Freitas	Assistente	1979/80, 1980/81,
	Assistente convidado	1981/82, 1982/83, 1983/84 1984/85, 1985/86, 1986/87, 1987/88
J. Paulo Barroca	Assistente	1979/80, 1981/82, 1982/83, 1983/84
Ana Machado	Assistente Assistente convidado	1979/80, 1980/81 1981/82, 1982/83 1983/84 1984/85
Joaquim Raposo Ferreira	Monitor	1979/80, 1980/81, 1981/82
Elsa A. Pina	Monitor	1979/80, 1980/81, 1981/82
M. Dulce Segurado	Assistente	1982/83, 1983/84, 1984/85, 1985/86
J. Nunes	Monitor	1982/83, 1983/84
	Assistente	1984/85
J. M. Martins	Monitor	1982/83, 1983/84
		1984/85, 1985/86
Carlos Moreira	Monitor voluntário	1982/83
	Monitor	1983/84, 1984/85,
	Assistente convidado	1985/86, 1986/87, 1987/88,

	Assistente estagiário Assistente	1988/89, 1989/90 1990/91, 1991/92, 1992/93, 1993/94,
Marília R. Cascalho	Monitora voluntária	1982/83
Sandra Marques	Assistente	1983/84, 1984/85, 1985/86
M. Margarida M. Ferreira	Assistente	1981/82, 1984/85, 1985/86
M. Amália Nunes	Assistente	1984/85,
Luís Cardoso	Monitor Assistente convidado Assistente estagiário	1984/85, 1985/86 1986/87, 1987/88 1988/89
Yolanda Pinto	Assistente estagiário Assistente	1986/87, 1987/88, 1988/89, 1989/90, 1990/91, 1991/92, 1992/93, 1992/93,
Manuela Nunes	Assistente	1986/87, 1987/88, 1988/89 1989/90, 1990/91, 1991/92, 1992/93, 1993/94, 1994/95 1995/96
Ana Isabel Santos	Assistente convidado	1986/87, 1987/88, 1988/89,
João Paulo Guimarães	Monitor Assistente convidado	1986/87, 1987/88 1989/90, 1990/91, 1992/93, 1993/94, 1994/95, 1995/96, 1996/97, 1997/98, 1998/99, 1999/00
José Loureiro	Monitor Assistente convidado	1986/87, 1987/88 1989/90, 1990/91, 1992/93, 1993/94, 1994/95, 1995/96
Teresa Quintão	Monitor Assistente convidado	1986/87, 1987/88 1989/90, 1990/91, 1993/94, 199/95, 1995/96, 1996/97
Gabriela Pereira	Monitor	1992/93, 1993/94, 1994/95
Isabel Goulão	Monitor voluntário	1992/93, 1993/94, 1994/95, 1995/96, 1996/97, 1997/98
João Paulo Janeiro	Monitor voluntário	1992/93, 1993/94
Luís Sargento	Monitor voluntário	1992/93, 1993/94
Elsa Branco	Assistente Estagiário	1991/92, 1992/93, 1993/94, 1994/95
Jorge Martins	Assistente Estagiário	1993/94
Pedro Pessegueiro	Monitor	1997/98
Isabel Margarida Ribeiro	Prof. Auxiliar	1998/99, 1999/00, 2000/01
Isabel M <sup>a</sup> . Fernandes Neto	Prof. Auxiliar	1998/99, 1999/00, 2000/01
Isabel M <sup>a</sup> . Júlio da Silva	Prof. Auxiliar	1998/99, 1999/00, 2000/01
Teresa Oliveira Gonçalves	Prof <sup>a</sup> . Auxiliar	1997/98, 1998/99, 1999/00, 2000/01
Leyre Zabala	Assistente estagiário	1998/99,
Nuno Santos	Assistente estagiário Prof. Auxiliar	1999/00 2000/01, 2001/02, 2002/03, 2003/04, 2004/05
Carlos Miranda	Assistente convidado	1998/99, 1999/00, 2000/01, 2001/02, 2002/03, 2003/04, 2004/05

Rui Mesquita	Assistente estagiário	1999/00, 2000/01, 2001/02, 2002/03
Teresa Pacheco	Assistente	2001/02, 2002/03, 2003/04, 2004/05
Filomena Fernandes	Assistente estagiário	2001/02
Sónia do Vale	Assistente convidado	2001/02, 2002/03, 2003/04, 2004/05
Catarina Resende	Assistente convidado	2001/02, 2002/03, 2003/04, 2004/05
Teotónio Albuquerque	Docente livre	2001/02, 2002/03, 2003/04, 2004/05
M <sup>a</sup> . José Ferreira	Docente livre	2001/02, 2002/03, 2003/04, 2004/05
Filomena Carvalho	Assistente estagiário	2002/03, 2003/04, 2004/05,
Ángelo Calado	Prof. Auxiliar	2002/03, 2003/04, 2004/05
Henrique Sobral do Rosário	Assistente	2002/03, 2003/04, 2004/05, 2005/06
Sandra Garcês	Assistente convidado Monitor	2002/03, 2005/06 2003/04, 2004/05
Tiago Santos	Monitor livre Monitor	2002/03, 2003/04, 2004/05,
Ana Santos Silva	Assistente estagiário	2004/05

## 1.2 – PROGRAMAS DE ESTUDO

### 1.2.1 – Ano lectivo de 1980/81

#### Programa e conteúdos

##### I – Objectivos gerais

1. Pretende-se que a aprendizagem de Bioquímica assente essencialmente na racionalização e aplicação concreta das noções teóricas fornecidas. Nesse sentido, os conhecimentos gerais anteriormente aprendidos por cada aluno serão desenvolvidos e integrados ao longo do curso de Bioquímica, de forma a possibilitarem a compreensão dos mecanismos que fundamentam a estrutura e actividades das células e tecidos.
2. A matéria do programa será utilizada como instrumento de trabalho, permitindo que cada aluno adquira conhecimentos em bases científicas e os saiba aplicar a situações concretas inter-relacionadas.
3. Cada aluno que frequentar com aproveitamento o curso de Bioquímica deverá, ao fim do período de aprendizagem, estar apto a:
  - a) Demonstrar conhecimentos exactos sobre a matéria fundamental do programa estabelecido (Anexo 3) quer nos seus aspectos isolados quer, sobretudo, numa perspectiva de conjunto.

- b) Observar, interpretar e resolver situações novas, relacionadas com a matéria ensinada.
- c) Analisar e sintetizar conhecimentos.

## **II – Métodos de ensino/aprendizagem**

O ensino a ministrar é subdividido em duas actividades gerais – aulas teóricas e aulas de aplicação. Essas actividades serão desenvolvidas num total aproximado de 60 horas/aluno/ /semestre (10 semanas úteis), correspondendo a 33 horas para aulas teóricas e o restante a aulas de aplicação.

Por semana estão programadas 3 aulas teóricas (de 60 minutos) e duas aulas de aplicação (com a duração de 120 minutos cada).

**1 – Aulas teóricas** – Perspectivam a matéria pela integração gradual de noções já conhecidas traçando linhas gerais de orientação, através de informações seleccionadas que facilitem a preparação individual. Exclui-se, ao máximo possível, a transmissão exaustiva da matéria, cujos pormenores devem ser obtidos nos textos de apoio aconselhados (secção v). O conteúdo geral de cada aula é apresentado no Anexo 1.

**2 – Aulas de aplicação** – Substituem as aulas práticas com carácter laboratorial. Destinam-se a grupos restritos de alunos (módulos de 20) orientados por um assistente.

Só excepcionalmente serão aulas de informação. Na generalidade, baseiam-se no diálogo docente-discente, em que o docente orienta a aprendizagem activa do discente.

O aluno terá conhecimento antecipado da matéria geral de cada aula (Anexo 2), de modo a poder estudá-la cuidadosamente. Serão ainda facultadas como sumário, algumas perguntas de auto-avaliação. Estas perguntas, sem carácter classificativo, permitem que cada aluno possa verificar a eficácia do seu estudo, familiarizando-o com o tema da aula e suscitando dúvidas concretas. Permitem ainda aprofundar a informação geral obtida nas aulas teóricas. Deste modo, cada aluno, após as aulas teóricas, poderá estudar por si o assunto apresentado e, pelas perguntas de auto-avaliação, verificar se o compreendeu em toda a extensão pretendida. Caso não lhes tenha sido possível resolver as questões apresentadas, poderá, nas aulas de aplicação, sob orientação do assistente, esclarecer todas as dúvidas resultantes.

## **III – Matéria geral da disciplina de Bioquímica**

Abrange os seguintes capítulos gerais de Bioquímica Celular, com aplicação ao organismo humano.

Química geral, Biomoléculas, Bioenergética, Enzimologia. Oxidações biológicas Metabolismo (dos glícidos, lípidos, proteínas e ácidos nucleicos), Membranas e Mecanismos de transporte, Mecanismos gerais de Acção hormonal.

#### IV – Avaliação

Cada aluno pode optar por um dos seguintes tipos de avaliação:

Prova final única

Provas parcelares de integração progressiva na matéria

**1. Prova Final única** – a realizar em duas épocas (Abril e/ou Setembro). Os alunos que optarem por esta modalidade realizarão uma única prova após o termo das aulas, abrangendo toda a matéria do programa. As perguntas e problemas apresentados têm características idênticas às das provas parcelares. A classificação mínima para se obter aproveitamento é de 10 valores.

**2. Provas parcelares** – em número de três (3), são realizadas ao longo do curso, simultaneamente com as aulas. Cada uma das provas abrange toda a matéria dada no momento. A classificação mínima de cada prova é de 10 valores, para se obter aproveitamento nesta modalidade. A classificação final será a média aritmética das três provas.

A obtenção de classificação, em qualquer das provas, inferior a 10 valores anula a continuidade da avaliação parcelar. Neste caso, os alunos realizarão exclusivamente a prova final, sem se tomarem conta com as classificações parcelares obtidas (inferiores, iguais ou superiores a 10 valores).

#### V – Textos de apoio aconselhados

Tendo como base orientadora a matéria do curso de Bioquímica, discriminada no anexo 3, cada aluno poderá efectuar a sua preparação pelos tratados que entender. A matéria desenvolvida nas aulas não abrange todos os objectivos específicos do curso. O aluno é orientado nas aulas através dos exemplos relevantes. O conhecimento preciso da matéria resultará fundamentalmente da preparação individual, pelo estudo de uma manual adequado.

Os textos mencionados são os que se consideram mais adequados para a aprendizagem pretendida:

1 – **Matéria de Química geral** (introdução ao metabolismo) “Fisicoquímica Fisiológica”, por J. Vargas e Macarulla, Editorial Interamericana, S.A. 3ª edição (1971) ou mais recente.

ou

“Química Organica y Bioquímica”, por Donald.J. Burton e Joseph I. Routh, Editorial Interamericana, S.A., 1977.

ou

“Introdução à Bioquímica Médica”, por J. A. Martins e Silva, Helena Geada e Ana Freire, Ed. Fundação Calouste Gulbenkian.

2 – **Metabolismo**

“Biochemistry”, por A.L. Lehninger, Worth Publishers, Inc 1975.

ou

“Review of Physiological Chemistry”, por H.A. Harper, Lange Medical Publications, 1977.

ou

“Biochemistry” por R. Montgomery, R.L. Dryer, T.W. Conway e A.A. Spector, C.V. Mosby Company, 1974 (ou mais recente).

**Nota:** Serão facultados textos sobre assuntos específicos, habitualmente muito dispersos na literatura.

#### ANEXO 1 – Programa e conteúdo geral das aulas teóricas

Aula nº	Matéria	Aula nº	Matéria
1	Introdução ao curso	16	Catabolismo anaeróbico e aeróbio da glicose
2	Água e soluções	17	Cadeia de transporte de electrões e fosforilação oxidativa mitocondrial
3	pH e tampões	18	Integração glicólise/ciclo do Krebs. Sistemas reguladores
4	Glicídios -composição e reactividade química	19	Sistemas de transporte de oxigénio às células
5	Introdução às Biomoléculas. Introdução às biomoléculas. Lípidos – composição e reactividade química	20	Hidratos de carbono Digestão, absorção e transporte às células. Origens e destinos da glicose-6-fosfato
6	Proteínas e ácidos nucleicos - Composição e reactividade química	21/22	$\beta$ -oxidação dos ácidos gordos e cetogénese
7	Estrutura dos lípidos	23	Oxidação dos aminoácidos. Ciclo da ureia
8	Estrutura dos glícídios	24/25	Biossíntese dos hidratos de carbono. Glíconeogénese
9	Estrutura das proteínas	26	Biossíntese dos lípidos
10	Estrutura dos ácidos nucleicos	27	Porfirinogénese. Síntese e degradação ao heme
11	Composição celular. Biomoléculas. Organização celular. Conceito de membrana	28	Síntese e degradação dos nucleótidos e ácidos nucleicos
12	Enzimas e coenzimas	29	Membrana celular e mecanismos de transporte
13	Cinética e mecanismos de acção enzimática	30/31	Mecanismos gerais de acção hormonal e integração metabólica
15	Metabolismo – Bases energéticas e ciclo do ATP		

**ANEXO 2 – Programa e conteúdo geral das aulas de aplicação (teórico-práticas)**

<b>2ª Semana</b>	1ª Aula Soluções	2ª Aula pH
<b>3ª Semana</b>	3ª Aula Tampões	4ª Aula Química Orgânica
<b>4ª Semana</b>	5ª Aula Biomoléculas	6ª Aula Enzimologia

1ª Prova Parcelar

<b>5ª Semana</b>	7ª Aula Metabolismo e actividade celular. Compartimentos corporais	8ª Aula Compostos de alta energia
<b>6ª Semana</b>	9ª Aula Oxidação metabólica da glicose	10ª Aula Fosforilação oxidativa mitocondrial
<b>7ª Semana</b>	11ª Aula Fornecimento e utilização do oxigénio às células	12ª Aula Integração das reacções catabólicas do citosol e mitocondriais

2ª Prova Parcelar

<b>8ª Semana</b>	13ª Aula $\beta$ -oxidação dos ácidos gordos e cetogénese	14ª Aula Catabolismo geral dos aminoácidos
<b>9ª Semana</b>	15ª Aulas Biossíntese dos hidratos de carbono	16ª Aulas Biossíntese dos ácidos gordos e derivados lipídicos
<b>10ª Semana</b>	17ª Aula Síntese e degradação dos nucleótidos	18ª Aula Integração do metabolismo e acção hormonal específica

3ª Prova Parcelar

**Anexo 3 – Objectivos específicos**

Esquema Programático	Objectivos específicos dos alunos deverão:
1. Química Geral 1.1. Água e Soluções	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Propriedades do átomo, molécula e ligações químicas</li> <li>-Compreender as propriedades e significado biológico da água</li> <li>-Conhecer os diversos tipos de soluções e respectivas propriedades</li> <li>-Identificar solutos e solventes</li> <li>-Resolver problemas relacionados com concentração de solutos</li> </ul>
1.2. pH e Tampões	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Reacções químicas, com aplicação da lei de acção da massa</li> <li>-Reversibilidade e constantes</li> <li>-Principais tipos de reacções químicas (com e sem transferência de electrões)</li> <li>-Dissociação da água, pH e pOH</li> <li>-Acidez e alcalinidade</li> <li>-Conceito de ácido e respectiva força</li> <li>-Neutralização e sais</li> <li>-Tampões</li> <li>-Importância das noções anteriores a nível biológico</li> </ul>
2. Biomoléculas – Química Orgânica 2.1. Lípidos	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Conhecer as propriedades do carbono</li> <li>-Saber o significado de grupo funcional</li> <li>-Identificar um ácido gordo</li> <li>-Reconhecer as propriedades de dois grupos funcionais: ácido e álcool</li> <li>-Compreender a reacção de esterificação e hidrólise</li> <li>-Interpretar o poder emulsionante das gorduras</li> </ul>
2.2. Glicídios	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Identificar as funções aldeído e cetona</li> <li>-Compreender o significado do carbono assimétrico</li> <li>-Identificar os diversos tipos de isomerismo e respectiva importância biológica</li> <li>-Descrever as interconversões possíveis dos aldeídos e cetonas</li> <li>-Compreender interconversões de forma linear de um monossacárido em cíclica</li> <li>-Compreender a formação da ligação glicosídica</li> </ul>
2.3. Proteínas e ácidos nucleicos	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Identificar as funções amina amida</li> <li>-Conhecer compostos heterocíclicos</li> <li>-Reconhecer os diversos tipos de aminoácidos naturais</li> <li>-Compreender a formação das ligações peptídicas e fosfodiéster</li> </ul>
3. Biomoléculas – Estrutura 3.1. Lípidos	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Conhecer, compreender e aplicar o conceito de biomolécula no âmbito da estrutura e função celular</li> <li>-Constituição e propriedades dos ácidos gordos,</li> </ul>



	triglicéridos, fosfoglicéridos, esfingolípido e derivados saponificáveis -Importância biológica (reserva energética, protecção e inclusão nos mecanismos celulares)
3.2. Glicídios	<u>Monossacáridos</u> -Constituição -Nomenclatura -Isomeria -Derivados <u>Oligossacáridos e polissacáridos</u> -Constituição da lactose, maltose, sacarose, glicogénio e derivados conjugados -Propriedades químicas -Importância biológica
3.3. Proteínas	<u>Aminoácidos</u> -Tipos e propriedades -Reacções químicas -Métodos gerais de separação (electroforese e cromatografia) <u>Péptidos</u> -Estrutura -Propriedades -Ligação peptídica <u>Proteínas</u> -Configuração e conformação -Tipos e propriedades -Estrutura helicoidal -Ligações próprias -Desnaturação -Métodos gerais de separação (electroforese e cromatografia)
3.4. Ácidos nucleicos	-Composição e nomenclatura -Propriedades -Importância biológica
3.5. Compostos celulares	-Organização molecular -Membranas – estrutura e composição
4. Enzimologia	-Natureza e estrutura enzimática -Cofactores enzimáticos -Cinética enzimática (com aplicação do conceito de bioenergética) Ordem de reacção Constantes Equação de Michaelis-Menten Influência exercida na actividade enzimática pelo pH e temperatura Tipos de inibição enzimática -Mecanismos de acção enzimática Especificidade – centro activo Grupos funcionais Factores que asseguram a eficiência catalítica

	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Regulação da acção enzimática</li> <li>Alosterismo</li> <li>Cinética própria</li> <li>Mecanismos de regulação (alostéricos e covalência)</li> <li>-Isoenzimas</li> <li>-Importância de noções anteriores a nível celular</li> </ul>
5. Metabolismo 5.1. Generalidades	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Finalidades do metabolismo</li> <li>-Dependência da energia e matéria para a vida celular</li> <li>-Anabolismo e catabolismo</li> <li>-Ciclo energético celular</li> <li>-Mecanismos gerais de regulação do metabolismo através da actividade catalítica, concentração enzimática e produtos endócrinos</li> </ul>
5.2. Relações entre o oxigénio e energia celular	<p>Interpretar e aplicar os conceitos de termodinâmica ao nível da função celular através de:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Ciclo do ATP</li> <li>-Estrutura, ocorrência e propriedades do ATP e derivados</li> <li>-Formação e hidrólise do ATP e respectivas variações energéticas</li> <li>-Relação de energia livre standard com a ligação fosfato de alta energia</li> <li>-Outros compostos fosforilados</li> <li>-Transferência do grupo fosfato em reacções metabólicas fundamentais</li> <li>-Proveniência e fornecimento de oxigénio às células; factores intervenientes</li> <li>-Obtenção da energia pela célula na presença e ausência do oxigénio por transferência de electrões entre dadores e aceitadores próprios.</li> </ul>
6. Catabolismo 6.1. Catabolismo da glicose	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Importância para a manutenção das estruturas e funções celulares</li> <li>-Proveniência da glicose celular</li> <li>-Digestão e absorção gastrointestinal</li> <li>-Transporte para as células</li> <li><u>Glicólise</u></li> <li>-Localização intracelular</li> <li>-Etapas e enzimas, com destaque para as enzimas reguladoras</li> <li>-Produtos finais – piruvato e lactato</li> <li>-Formação e utilização do ATP</li> <li>-Variações energéticas totais</li> <li>-Mecanismos reguladores</li> <li>-Intervenção hormonal</li> <li><u>Ciclo dos ácidos carboxílicos</u></li> <li>-Localização intracelular</li> <li>-Etapas e enzimas, sobretudo reguladores</li> <li>-Finalidades</li> <li>-Variações energéticas</li> <li>-Mecanismos reguladores</li> <li><u>Cadeia respiratória mitocondrial</u></li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Constituição</li> <li>-Reacções de oxidação-redução inerentes e diferenças em relação às oxigenases</li> <li>-Radicais do oxigénio e sistemas de destruição</li> <li>-Fosforilação oxidativa – mecanismos, inibição e desacoplamento</li> <li><u>Integração final</u></li> <li>-Equilíbrio energético de oxidação da glicose</li> <li>-Utilização da energia mitocondrial no transporte de metabolitos</li> <li>-Sistemas de transferência electrónica entre o citoplasma e mitocôndria</li> <li>-Integração da glicólise e respiração:</li> <li>-Efeito Pasteur</li> </ul>
6.2. Outras vias	<ul style="list-style-type: none"> <li><u>Vias das fosfopentoses</u></li> <li>-Localização</li> <li>-Enzimas e intermediários principais</li> <li>-Utilidades</li> <li>-Regulação e dependência hormonal energética</li> <li><u>Glicogenólise</u></li> <li>-Localização</li> <li>-Enzimas e intermediários principais</li> <li>-Utilidades</li> <li>-Regulação e dependência hormonal energética</li> <li><u>Interconversão metabólica da manose, frutose e galactose em glicose</u></li> </ul>
6.3. Oxidação dos ácidos gordos	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Proveniência dos ácidos gordos</li> <li><u>Mecanismos de digestão e absorção gastrointestinal</u></li> <li><u>Via de oxidação</u></li> <li>-Localização</li> <li>-Enzimas e intermediários</li> <li>-Finalidades</li> <li>-Equilíbrio energético</li> <li><u>Cetogénese</u></li> <li>-Localização</li> <li>-Utilidade e desvantagens</li> <li>-Aproveitamento</li> <li>-Energética</li> <li>-Regulação e dependência hormonal</li> </ul>
6.4. Oxidação dos aminoácidos	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Proveniência dos aminoácidos</li> <li><u>Proteólise – Mecanismos de digestão e absorção gastrointestinal</u></li> <li>-Aproveitamento da parte carbonada pelo ciclo de Krebs; utilidade</li> <li>-Aproveitamento da parte aminada; utilidade</li> <li>-Transaminação</li> <li>-Desaminação oxidativa</li> <li>-Descarboxilação</li> <li><u>Ciclo de ureia e formação de amoníaco</u></li> <li>-Localização</li> <li>-Utilidade</li> <li>-Energética</li> <li>-Regulação geral e influência hormonal</li> </ul>

<p>7. Anabolismo</p> <p>7.1. Biossíntese dos hidratos de carbono</p>	<p><u>Gliconeogénese</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Localização</li> <li>-Utilidade</li> <li>-Enzimas e intermediários</li> <li>-Regulação integrada com a glicólise</li> <li>-Transformação da glicose-6-fosfato em outras hexoses e derivados, dissacáridos, glicogénio, outros compostos</li> <li>-Regulação integrada da glicogénese e glicogenólise</li> <li>-Dependência hormonal</li> <li>-Energética</li> </ul>
<p>7.2. Biossíntese dos lípidos</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Utilidade</li> <li><u>Formação de ácidos gordos saturados</u></li> <li>-Localização</li> <li>-Enzimas intermediárias</li> <li>-Regulação e dependência hormonal</li> <li>-Crescimento da cadeia de ácidos gordos</li> <li>-Localização</li> <li>-Mecanismos</li> <li><u>Formação de triglicéridos, fosfoglicéridos, esfingolípido</u></li> <li><u>Biossíntese do colesterol</u></li> <li>-Etapas, enzimas e intermediários principais</li> <li>-Formação de esteres de colesterol</li> <li>-Regulação</li> <li><u>Biossíntese de outros esteroides e prostaglandinas</u></li> <li>-Energética</li> </ul>
<p>7.3. Porfirinogénese e degradação do heme</p>	<p>Precusores metabólicos</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Enzimas reguladoras</li> <li>-Dependência de cofactores</li> <li>-Formação do heme; importância do ferro</li> <li>-Degradação do heme em bilirrubina; fracção reaproveitada</li> <li>-Degradação da bilirrubina e ciclo enterohepático</li> </ul>
<p>7.4. Síntese e degradação de nucleótidos e ácidos nucleicos</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Localização</li> <li>-Utilidade</li> <li>-Vias principais e precursores metabólicos</li> <li>-Regulação</li> <li>-Degradação das purinas</li> <li>-Degradação das pirimidinas</li> </ul>
<p>8. Membranas e mecanismos de transporte</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Tipos de transporte</li> <li>-Energética do transporte activo</li> <li>-Mediadores de transporte e enzimas envolvidas</li> <li>-Sistema ATPase-<math>\text{Na}^+</math>, <math>\text{K}^+</math> dependente</li> </ul>
<p>9. Mecanismos gerais de acção hormonal e integração metabólica</p>	<p><u>Organização do sistema endócrino e mecanismos gerais de regulação</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Receptores hormonais</li> <li>-AMP cíclico e GMP cíclico</li> <li>-Mecanismos de acção metabólica da insulina, glicagina, epinefrina, esteroides e hormonas tiroideias</li> </ul>

## **Sumários das Aulas Teóricas**

### **1ª Aula – Apresentação do programa**

1. Abertura do Curso de Bioquímica. Funcionamento geral e perspectivas.
  2. Matéria viva e matéria inerte. Diferenças de composição química. Consequências sobre as funções e propriedades correspondentes.
  3. Perspectivas celulares; compartimentos, estruturas próprias e funções mais específicas. Relação com a constituição química.
  4. Composição química de algumas substâncias celulares com propriedades diferentes.
- 

### **2ª Aula – Introdução à estrutura das biomoléculas. Átomo de carbono**

1. Ciclo de energia biológica – células fotossintéticas e heterotróficas. Degradação dos principais nutrientes da dieta. Diferentes graus de oxidação dos compostos orgânicos.
  2. Estrutura do átomo de carbono. Formação de híbridos  $sp^3$  – ligações covalentes simples ( $\tau$ ). Formação de híbridos  $sp^2$  – ligações duplas ( $\tau$  e  $\pi$ ); isómeros cis e trans
  3. Formação de híbridos  $sp$  – ligações triplas (1 ligação  $\tau$  e duas ligações  $\pi$ ).
  4. Conceito de série homóloga, função química e grupo funcional. Introdução das funções químicas mais comuns – álcool, aldeído, cetona, ácido éter.
  5. Hidrocarbonetos. Alcanos. Alcenos. Isoprenos. Alcinos. Hidrocarbonetos aromáticos.
  6. Ácidos. Diácidos.
- 

### **3ª Aula – Introdução à estrutura das biomoléculas (cont.). Compostos de azoto, enxofre e fósforo**

1. Compostos de azoto – Derivados de amoníaco. Formação do ião amónio. Grupos funcionais com azoto – Aminas primárias, secundárias, terciárias, amidas, imidas e iminas. Classificação das aminas, sua nomenclatura e propriedades.

2. Compostos de função mista –  $\alpha$  aminoácidos Carácter anfotérico dos aminoácidos. Ligações peptídicas – suas características.
  3. Compostos heterocíclicos. Estrutura das purinas e pirimidinas e suas interrelações.
  4. Compostos com enxofre. Existência de enxofre em compostos com a cisteína e metionina, além de intervir em ligações de alta energia como na molécula de acetil-coenzima A. Nomenclatura destes compostos.
  5. Compostos com fósforo. Estrutura da molécula de ATP.
- 

#### **4ª e 5ª Aulas – Glicídios: composição e reactividade química**

1. Definição
  2. Classificação
  3. Estrutura e propriedades dos monossacáridos
  4. Série D e L dos monossacáridos
  5. Isomerismo óptico. Enantiómeros, epímeros. Mistura racémica. Mutarrotação
  6. Estrutura cíclica dos monossacáridos. Anómeros  $\alpha$  e  $\beta$
  7. Principais monossacáridos e seus derivados de importância biológica
  8. Reações dos monossacáridos. Formação de hemiacetais. Glicosídeos. Formação de dissacáridos. Redução. Oxidação
  9. Oligossacáridos. Dissacáridos. Sacarose, lactose e maltose. Grupos sanguíneos
  10. Polissacáridos. Celulose, amido e glicogénio. Ácido hialurónico, sulfato de condroitina e heparina. Digestão dos polissacáridos.
- 

#### **6ª e 7ª Aula – Estrutura dos lípidos, reactividade química**

1. Importância e definição de substâncias lipídicas. Classificação dos lípidos.
  2. Triglicéridos – estrutura. Importância dos ácidos gordos. Fosfolípidos – estrutura e função como componentes das membranas. Estruturas dos esfingolípidos, cerebrósidos e gangliósidos.
  3. Esteroides – derivados do ciclopentanoperidrofenantreno. Colesterol. Sais biliares. Hormonas – corticoides, sexuais femininas e sexuais masculinas.
  4. Outros compostos. Vitaminas A, E e K – derivados do isopreno. Vitamina D – derivada dos esteroides. Lipoproteínas. Prostaglandinas.
-

**8ª Aula – Aminoácidos e Proteínas**

1. Aminoácidos  
Classificação dos aminoácidos com base na polaridade do grupo R.  
Natureza anfotérica dos aminoácidos  
*Zwitterion*. Ponto isoelétrico
  2. Ligação peptídica. Péptidos e polipéptidos
  3. Proteínas  
Composição química  
Conformação das proteínas  
    Fibrosas  
    Globulares  
Estrutura  
Funções biológicas  
Desnaturação proteica
- 

**9ª Aula -Ácidos nucleicos e seus componentes**

1. Composição dos ácidos nucleicos – bases azotadas, pentoses e ácido fosfórico. Formação dos nucleósidos e tipo de ligações existentes entre os seus componentes. Nucleótidos mono- di- e trifosfatados e nucleótidos cíclicos. Funções gerais dos nucleótidos.
  2. Polímeros de nucleótidos – formação dos ácidos nucleicos. Estrutura em dupla hélice do ácido desoxirribonucleico – complementaridade das bases A-T, G-C. Estrutura dos ácidos ribonucleicos. Tipos principais celulares; RNA mensageiro, RNA de transferência, RNA ribossómico.
  3. Outros nucleótidos intracelulares – coenzimas FAD, NAD, NADP e coenzima A.
- 

**10ª Aula -Água. Soluções. Compartimentos corporais**

1. Estrutura da água. Importância da água e suas propriedades.
  2. Conceito de solução. Classificação das soluções, soluções verdadeiras, soluções coloidais e dispersões. Estados de agregação das soluções coloidais: soluções verdadeiras, soluções coloidais e dispersões. Estados de agregação das soluções coloidais: sol, gel, emulsão e aerossol. Propriedades coligativas das soluções verdadeiras – pressão osmótica. Características das soluções hipertónicas e isotónicas. Alguns aspectos fisiológicos da água.
  3. Compartimentos corporais. Compartimento intracelular e compartimentos extracelulares: plasma, líquido intersticial e linfa, tecidos densos e líquidos transcelulares. Composição do plasma e líquido intracelular.
-

**11ª Aula – pH e tampões**

1. Dissociação da água. Produto iónico da água. Base da escala de pH. Conceitos de pH e pOH. Soluções ácidas, neutras e básicas. Importância da determinação de pH nos líquidos biológicos.
  2. Mecanismo de manutenção do pH. Conceito de tampão. Mecanismo de acção dos tampões. Introdução da equação de Henderson-Hasselbalch. Tampões fisiológicos mais importantes – bicarbonato/ácido carbónico, fosfatos, proteínas (plasmáticas) e hemoglobina. Sistema bicarbonato/ácido carbónico. Princípio iso -hídrico. Relação de eficiência dos diversos tampões intracelulares.
- 

**12ª Aula – Enzimas e coenzimas**

1. Equilíbrio químico – reacções químicas reversíveis e irreversíveis. Lei da acção das massas. Constante de equilíbrio.
  2. Equilíbrio cinético – velocidade das reacções químicas. Factores influentes: natureza e concentração de reagentes. Teoria de colisão e estado de transição. Energia de activação.
  3. Enzimas. Postulados de Ostwald. Natureza e estrutura geral das enzimas. Classificação das enzimas quanto à função exercida. Holoenzimas e apoenzimas. Cofactores – metais e coenzimas.
- 

**13ª Aula – Cinética enzimática**

1. Mecanismo geral de acção enzimática: barreira de activação e relações com energia livre padrão das reacções catalisadas
  2. Equação de Michaelis-Menten:  $K_m$  e  $V_{max}$ . Elaboração gráfica da equação de Lineweaver-Burk
  3. Efeito de pH e temperatura nas reacções enzimáticas
  4. Especificidade e poder catalítico: grupos funcionais envolvidos
  5. Factores influentes no poder catalítico das enzimas: aproximação e orientação do substrato, catálise covalente, catálise ácido-base, distorção da conformação enzimática. Teoria de Fischer e Koshland para o complexo enzima substrato.
- 

**14ª Aula – Mecanismos de regulação enzimática**

1. Inibição enzimática e tipos (reversível e irreversível) subtipos reversíveis (competitivo, incompetitivo e não competitivo). Elaboração gráfica.
2. Enzimas reguladoras, tipos: 1) Alostéricos ou modulação não covalente; 2) Modulação covalente
3. Noção de cooperativismo, positivo e negativo



4. Isoenzimas
  5. Activação dos zimogénios
- 

### **15ª Aula – Metabolismo. Conceitos gerais e sistemas reguladores**

1. Conceito de metabolismo. Actividade própria. Relação célula-ambiente, nas transferências de matéria e energia
  2. Fontes de carbono e energia – classificação dos seres vivos em autotróficos e heterotróficos ou fototróficos e quimiotróficos (quimioorganotróficos e quimiolitotróficos). Células aeróbias, anaeróbias, facultativas e anaeróbias restritas. Reacções de oxidação-redução e acção de oxigénio, nas transferências de electrões.
  3. Ciclos de carbono, oxigénio e azoto. Fluxo de energia na biosfera e execução do trabalho biológico; relação com os princípios da termodinâmica. Interdependência das espécies e tipos celulares quanto ao fornecimento e consumo de matéria e energia.
  4. Catabolismo e anabolismo – interrelação e caracterização. Flexibilidade e economia dos sistemas metabólicos. Participação e tipo de sistemas multienzimáticos, com regulação independente, localização distinta e parcialmente reversíveis.
- 

### **16ª Aula – Metabolismo. Bases energéticas e ciclo do ATP**

Fluxo de energia celular; acção do sistema ATP/ADP e participação do sistema redutor (NADP/NADPH).

1. O ATP como intermediário comum energético entre as reacções catabólicas e anabólicas; relação com a estrutura. Derivados do ATP; ADP; AMP; ligações químicas e propriedades.
2. Energia livre padrão de hidrólise do ATP. Conceito do composto fosfato de alta energia e ligação fosfato de alta energia. Comparação da energia livre padrão de hidrólise de outros compostos fosforilados. Posição relativa do ATP, numa escala energética.
3. Conservação da energia de oxidação como energia química, sob a forma estrutural de ATP. Interrelação das reacções exergónicas, através do sistema ATP/ADP. Outros compostos fosforilados que actuam na transferência e reserva da energia química.
4. Enzimas reguladores da glicólise Hexocinase (glicocinase), fosfofrutocinase e piruvato-cinase, na catálise de etapas irreversíveis; importância da desidrogenase do gliceraldeído 3-fosfato.
5. Outros destinos metabólicos da glicose-6-fosfato (generalidades)
6. Obtenção da glicose-6-fosfato do glicogénio (glicogenólise) Estrutura do glicogénio e importância metabólica; enzimas da glicogenólise; fosforilase do glicogénio; 1,6-amiloglicosidase, fosfoglicomutase.

7. Aproveitamento de outras hexoses (frutose, galactose e manose), pentoses e glicerol (livre e sob a forma de glicerol-3-fosfato) pela glicólise; enzimas intervenientes.
  8. Equilíbrio energético da glicólise
- 

### **17ª, 18ª e 19ª Aulas – Catabolismo anaeróbico da glicose**

1. Noção de fermentação e respiração celular Origens e destinos metabólicos da glicose; comparação do equilíbrio energético e aceptadores utilizados em anaerobiose e aerobiose.
  2. Glicólise Destinos dos átomos, fosfato e electrões. Fases da glicólise: 1ª fase – preparação dos substratos para a fosforilação; necessidades de energia química; 2ª fase – oxi-redução e formação de ATP. Utilidade de participação dos metabolitos na forma fosforilada.
  3. 1ª Fase de glicólise Formação do gliceraldeído 3-fosfato. Substratos utilizados e enzimas participantes. Variação da energia livre padrão de cada etapa.
  4. 2ª Fase de glicólise Utilização do gliceraldeído 3-fosfato; formação do piruvato e/ou lactato. Participação do sistema NAD/NADH. Etapas da fosforilação ligadas ao substrato. Etapas enzimáticas e variações de energia livre padrão de cada etapa.
  5. Relação das etapas oxidativas do ciclo com a cadeia respiratória Reacções de oxi-redução. Dadores e aceptadores de electrões
  6. Regulação do ciclo de Krebs Importância das etapas catalisadas pelo citrato sintase, desidrogenase isocítrica e desidrogenase succínica.
- 

### **20ª e 21ª Aulas – Oxidação aeróbia da glicose – ciclo de Krebs**

1. Destinos metabólicos do piruvato e lactato. Relação do ciclo de Krebs com a glicólise
2. Oxidação do piruvato. Transformação em acetil-CoA pelo complexo da desidrogenase pirúvica; coenzimas intervenientes; regulação. Outras origens do acetil-CoA.
3. Ciclo de Krebs, dos ácidos tricarboxílicos ou do ácido cítrico. Localização e utilidade metabólica. Condensação do acetil-CoA com o oxaloacetato; aproveitamento do citrato e conversão em isocitrato; oxidação em  $\alpha$ -cetogluturato; descarboxilação oxidativa e formação do succinato; oxidação do succinato em fumarato; formação do malato e regulação do oxaloacetato. Enzimas participantes e etapas reguladoras. Origens dos átomos de hidrogénio e etapas descarboxilativas.
4. Características anfibólicas do ciclo de Krebs. Relação com as etapas do catabolismo e utilidade na biossíntese. Participação de intermediários do ciclo de Krebs como precursores de aminoácidos, ácidos gor-

dos e regeneração do piruvato. Importância da piruvato carboxilase, na intertransformação do oxaloacetato em piruvato; condições em que se verifica a transformação num ou outro sentido.

---

### **22ª Aula – Cadeia respiratória e fosforilação oxidativa mitocondrial**

1. Mitocôndria. Características estruturais (generalidades) e relação com a localização das actividades oxidativas e transporte de electrões.
  2. Escala de potencial redox. Relação com a cadeia respiratória; direcção do fluxo de electrões nas oxidações biológicas.
  3. Moléculas proteicas (enzimas) e não -proteicas envolvidas no transporte de electrões. Desidrogenases piridínicas e flavínicas, proteínas ferro-enxôfre, citocromios e coenzimas Q. Características estruturais e funcionais; formas oxidada e reduzida.
  4. Cadeia de transporte de electrões (cadeia respiratória). Sequência e relação com potencial redox; etapas de grande declínio energético. Transporte dos átomos de hidrogénio; fluxo de protões e transferência de electrões para o aceitador final (oxigénio). Importância das variações de valência dos metais presentes nos citocromios e proteínas ferro-enxôfre, no transporte de electrões.
  5. Fosforilação oxidativa. Etapas em que se verifica e relação com a variação energética. Factores de acoplamento ( $F_0$  e  $F_1$ -ATPase). Estados 3 e 4 da respiração mitocondrial; relação P/O e coeficiente respiratório. Consumo de oxigénio na fosforilação oxidativa. Equação geral da fosforilação oxidativa e rendimento energético.
  6. Teoria químio-osmótica da fosforilação oxidativa.
- 

### **23ª Aula – Desacoplamento e inibição da fosforilação oxidativa.**

#### **Translocases. Outras actividades mitocondriais**

1. Desacoplamento e inibição da fosforilação oxidativa. Mecanismos e relação com o estado intermediário de alta energia.
  2. Translocases. Localização e importância. Sistemas principais. Participação na acumulação intramitocondrial do cálcio; gradientes de  $H^+$ , fosfato. Relação com o transporte de electrões.
  3. Sistemas de transferência dos equivalentes redutores do citosol. Glicerol fosfato e malato-aspartato. Trans -desidrogenases piridínicas – utilidades metabólicas.
  4. Mono e dioxigenases. esquema funcional
  5. Radicais de oxigénio. Origem; participação do superóxido dismutase e catalase.
  6. Efeito Pasteur. Regulação associada da glicólise e ciclo de Krebs.
-

### **24ª Aula – Sistema de oxigenação celular. Porfirinogénese e síntese do heme**

1. Componentes do sistema de transporte de oxigénio aos tecidos. Características da oxigenação tecidual – cilindro de Krogh. Gradientes de oxigénio. Hipoxia, hiperoxia e disoxia.
  2. Características químicas e funcionais da hemoglobina eritrocitária. Forma oxigenada (oxi-hemoglobina) desoxigenada (desoxi-hemoglobina). Efeito cooperativo do oxigénio; curva de dissociação da oxi-hemoglobina.
  3. Moduladores da afinidade da hemoglobina para o oxigénio. Protões, dióxido de carbono, temperatura e fosfatos orgânicos eritrocitários. Efeito Bohr. Via de Rapoport-Luebering.
  4. Porfirinogénese e síntese do heme. Precursores das porfirinas. Formação do ácido  $\delta$ -aminolevulínico (ALA) porfobilinogénio (PBG). Formação de tetrapirrois; uroporfirinas (I e III), coproporfirinas (I e III) e protoporfirina III<sub>9</sub>. Síntese do heme.
  5. Regulação da porfirinogénese e síntese do heme. Importância da sintetase do ALA e ferroquelatase.
- 

### **25ª Aula – Membranas e mecanismos de transporte.**

#### **Receptores celulares. Mecanismos gerais de acção hormonal**

1. Membranas. Estrutura e composição, em geral; funções.
  2. Transporte através das membranas. Difusão a favor e contra gradientes de concentração. Exemplos celulares e funções gerais de transporte. Energética de transporte activo e passivo; tipos de mecanismos de transporte: não -mediado e mediado. Exemplos e características. Translocases. Organização e sistemas de transporte: homocelular, transcelular e intracelular. ATPase – Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> dependente; transporte activo da glicose e aminoácidos.
  3. Receptores celulares. Localização e características.
  4. Hormonas. Caracterização e tipos (péptido e esteroides). Relação com os receptores específicos de membranas celulares ou receptores intracelulares. Activação da adenilato-ciclase ou guanilato-ciclase; os nucleótidos cíclicos como 2ºs mensageiros hormonais. Importância do cálcio intracelular; dependência do AMP cíclico. A fosfodiesterase, na inactivação do AMP cíclico ou GMP cíclico.
- 

### **26ª Aula – Metabolismo do glicogénio – Acção hormonal**

1. Receptores hormonais. Diferenças das hormonas peptídicas com os estrogénios; localização de receptores específicos; mecanismo geral de acção das hormonas esteroides; mecanismo geral de acção das hormonas peptídicas; activação de proteína-cinase.

2. Glicogenólise e glicogénese. Revisão da glicogenólise; passos enzimáticos; importância reguladora da fosforilase do glicogénio: forma activa (a) e inactiva (b); controlo alostérico (metabolitos) e covalente (proteínas-cinase). Glicogénese: passos enzimáticos; diferenças da glicogenólise; importância reguladora da glicogénio-sintetase: forma D (inactiva) e forma I (activa); controlo alostérico (metabolitos) e covalente (proteína-cinase).
  3. Regulação conjunta da glicogenólise e glicogénese. Importância das etapas reguladoras de cada via e influência de factores alostéricos ou covalentes; resposta simultânea à activação ou inactivação das proteínas-cinase, por variação da concentração do AMP cíclico. Relação com os níveis circulatórios da epinefrina e glicagina; tecidos onde actuam e receptores específicos locais. Sistemas em cascata.
  4. Mobilização das reservas do glicogénio e lípidos. Influência do estado energético celular e dependência da epinefrina ou glicagina versus insulina.
- 

### **27ª Aula – Origens e aproveitamento metabólico dos lípidos**

Tecido adiposo. Caracterização de reservas lipídicas. Valor calórico/energético. Renovação. Dependência hormonal. Lipólise. Transporte dos ácidos gordos para tecidos onde são oxidados.

1.  $\beta$ -oxidação dos ácidos gordos. Activação pré-oxidativa no citosol. Transferência para a mitocôndria. Enzimas envolvidos.  $\beta$ -oxidação. Etapas enzimáticas. Destinos dos equivalentes redutores; produto final. Diferenças na oxidação dos ácidos gordos com número par e ímpar de carbonos. Balanço energético.
  2. Cetogénese. Corpos cetónicos; síntese e aproveitamento; utilidade metabólica.
- 

### **28ª Aula – Oxidação metabólica dos aminoácidos.** **Gliconeogénese. Ciclo da ureia**

1. Aminoácidos corporais. Origens e utilização metabólica. Conversão em piruvato, acetil-CoA ou intermediários do ciclo de Krebs; tipos de aminoácidos: glicogénicos, cetogénicos e mistos.
2. Degradação (oxidação) dos aminoácidos. Destinos do grupo amina-do; transaminases (ou aminotransferases;  $\alpha$ -cetogluturato-glutamato; importância do fosfato piridoxal. Desaminação oxidativa – desidrogenase glutâmica e oxidases de aminoácidos, D e L. Importância reguladora da desidrogenase glutâmica; moduladores da actividade. Descarboxilação de alguns aminoácidos.

3. Formação de produtos de excreção azotada. Formação da ureia; ciclo; enzimas e sequência; relação com o ciclo de Krebs; dependência energética.
  4. Gliconeogénese. Etapas e enzimas envolvidos. Conversão do piruvato em fosfoenolpiruvato; conversão da frutose 1,6-fosfato em frutose 6-fosfato; formação da glicose a partir da glicose-6-fosfato. Outros produtos derivados da glicose 6-fosfato, por gliconeogénese. Ciclo da glicose-alanina e ciclo de Cori.
  5. Regulação da gliconeogénese e glicólise. Etapas reguladoras; moduladores alostéricos e influência hormonal.
  6. Glicemia. Definição; manutenção pela dieta, glicogenólise e gliconeogénese.
- 

### **29ª Aula – Biossíntese dos lípidos. Vias das fosfopentoses**

1. Origem do poder redutor. Via das fosfopentoses, desidrogenase isocítrica e enzima málica. Importância da via das fosfopentoses; tecido onde se apresenta mais activa; etapas enzimáticas.
2. Obtenção de acetil-CoA e conversão em malonil-CoA. Passagem do acetil-CoA para o citosol; enzima de clivagem do citrato; participação da carnitina ou translocase do citrato. Carboxilação do acetil-CoA em malonil-CoA: acetil-CoA carboxilase; acção reguladora.
3. Biossíntese dos ácidos gordos. Sintetase dos ácidos gordos: enzimas e proteínas transportadoras do grupo acilo (ACP). Sequência enzimática. Formação do palmitato, ou palmitoil-CoA ou incorporação em outros lípidos complexos. Acção reguladora do palmitoil-CoA na sintetase dos ácidos gordos ou translocase do citrato. Importância do poder redutor. Alongamento dos ácidos gordos.
4. Biossíntese de triglicéridos. Etapas enzimáticas; dependência do glicerol-3-fosfato. Acção moduladora da insulina.
5. Formação do colesterol. Etapas principais: formação do mevalonato, formação do esqualeno, formação do colesterol. Importância reguladora da hidroximetilglutaril-CoA redutase.
6. Sistema de transferência do equivalente redutor do citosol para a mitocôndria: malato/citrato – ácidos gordos.

**Fim das Aulas teóricas**

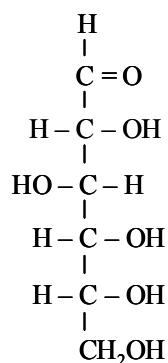
---

**Anexo**

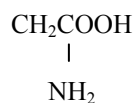
– **Sumários, de aulas de aplicação e perguntas de auto-avaliação.**  
**Exemplares de provas finais –**  
**1ª, 2ª e 3ª Aulas de aplicação – Biomoléculas**

Sumário:

Estruturas, conformações e funções dos glícidos, lípidos, proteínas e ácidos nucleicos.  
 Interrelação com as funções químicas correspondentes.  
 Ligações químicas subjacentes.

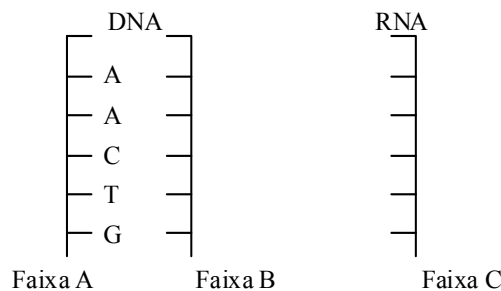
Perguntas de auto-avaliação

- a) Descreva as possíveis fórmulas estruturais desta molécula.
  - b) Explique a formação da ligação química entre duas moléculas deste tipo.
  - c) Explique a hidrólise dum dissacárido.
  - d) É esta molécula solúvel em água? Justifique.
  - e) Que compostos podem ser obtidos por oxidação da molécula referida?  
E por redução.
2. a) Identifique os grupos funcionais e o respectivo nome da seguinte forma estrutural:



- b) Se este composto estiver numa solução de pH ácido como se comporta?  
Explique.

- c) No caso de um hidrogénio ser substituído por um grupo funcional R que tipo de isomeria resultaria?
3. Qual é o significado, na química dos glícidos, dos seguintes termos: aldose, cetose, compostos D e L?
  4. É a maltose um dissacárido redutor? Justifique.
  5. São as gorduras insolúveis em água? Justifique.
  6. Quais os produtos obtidos por hidrólise completa dos seguintes compostos:
    - a) Ácido fosfatídico
    - b) Lecitina
    - c) Cefalina
  7. Com o auxílio de um diagrama, explique a desnaturação proteica. Poderá ser um processo irreversível? Justifique.
  8. Como explica a grande variedade de compostos lipídicos existentes?
  9. a) Explique a formação da estrutura secundária de uma proteína.  
b) De que modo é a conformação de uma proteína relacionada com a respectiva função?
  10. a) Como distingue um nucleótido de um nucleósido?  
b) Que tipos de ligações químicas identificam um nucleósido?
  11. a) Que diferenças de composição existem entre o DNA e o RNA?  
b) Qual a diferença estrutural entre o mRNA e DNA?  
c) Qual é a importância e o significado biológico destes ácidos nucleicos?
  12. No seguinte diagrama são dadas as bases numa das faixas da molécula de DNA.



- a) Complete o diagrama, mostrando a sequência apropriada das bases da faixa B.
  - b) Qual é a sequência das bases na faixa C do RNA complementar à faixa A.
13. Considere duas proteínas A e B, com pontos isoelétricos respectivamente, de 8 e 15 em soluções a pH 7. Por electroforese, qual será a disposição de ambas as proteínas relativamente aos pólos + e -? Justifique.
-

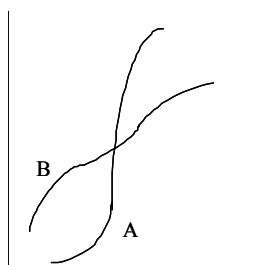


**4ª Aula de aplicação – Equilíbrio ácido-base**Sumário:

Noção e importância biológica do pH  
 Formas de determinação  
 Definição e constituição dos tampões  
 Aplicação: regulação do equilíbrio ácido-base  
 Tampões fisiológicos  
 Problemas

Perguntas de auto-avaliação

1. Defina o conceito de pH
2. Explique que o valor de pH 14 corresponde à menor concentração hidrogeniônica possível numa solução aquosa.
3. Calcular o valor de pH dum ácido forte 0,1N.
4. Na figura estão traçadas duas curvas de neutralização A e B



- a) A que tipo de neutralização corresponde cada uma das curvas?
  - b) Explique o andamento das duas curvas.
5. Uma solução de KOH tem um pH = 13. Calcular o pH que teria ao diluir a solução 8 vezes.
  6. Qual é o pH fisiológico do sangue?
  7. Explique o conceito de solução tampão. Qual a sua importância bioquímica?
  8. Quais os tampões fisiológicos que conhece?
  9. Misturam-se duas soluções aquosas contendo respectivamente 2 moles de ácido acético e 6 moles de acetato de sódio. Calcular o pH da mistura (pK do ácido acético = 4,75).
  10. Uma solução 0,1M de um ácido orgânico puro tem um pH = 2,85. Dez mililitros desta solução neutralizam exactamente com NaOH. Em seguida juntam-se 10ml da solução ácida. Determinar a constante de dissociação e o pH final da mistura.
-

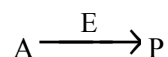
**5ª, 6ª e 7ª Aulas de aplicação – Equilíbrio químico e cinético das reacções; enzimologia**

Sumário:

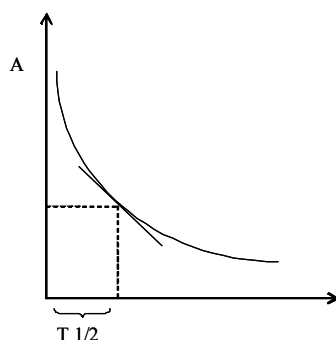
Catálise enzimática e não-enzimática  
 Estrutura e reactividade das enzimas  
 Cofactores influentes na velocidade das reacções enzimáticas  
 Estudo cinético das reacções enzimáticas  
 Inibição das reacções enzimáticas  
 Problemas e gráficos

Perguntas de auto-avaliação

1. Considere a seguinte reacção catalisada pela enzima E



- a) Em que unidades pode exprimir a actividade enzimática?  
 b) Tendo em conta o gráfico seguinte respeitante à mesma reacção, como a classifica em termos cinéticos (ordem de reacção)? Justifique.



Inclinação da tangente :=  $\frac{d[A]}{dt}$

[A] = concentração de A  
 t = tempo

- c) Como definiria a variável Vmax (velocidade máxima)?  
 d) Considere agora que A pode variar mas que a enzima é sempre a mesma, como no quadro abaixo indicado.

A	Vmax relativa
D -tirosina	297
D -metionina	125
D -valina	55

(E = D -amino oxidase)

D -histidina	9,7
Glicina	0,0

Que conclusões retira da análise deste quadro?

2. Uma enzima catalisa uma reacção à velocidade de 35 micromoles/min, quando  $S = 0,01M$ . O  $K_m$  é  $= 2,10^{-5} \mu M$ . Calcule a velocidade inicial para as seguintes concentrações de S:

$$a = 3,5 \times 10^{-3} \mu M$$

$$b = 4 \times 10^{-4} \mu M$$

$$c = 1,2 \times 10^{-6} \mu M$$

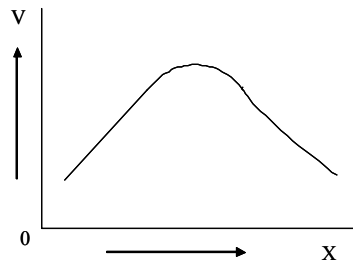
3. Considere os valores seguintes, numa reacção catalisada pela hexocinase:

S	Vmax relativa	$K_m$ ( $\mu M$ )	Condições
D -glicose		$1,0 \times 10^{-4}$	pH = 7,4 t = 30°C
D -frutose		$7,0 \times 10^{-4}$	
D -manose		$5,0 \times 10^{-5}$	
<u>Inibidor</u>			$K_i$
Glicose-6-fosfato			$9,1 \times 10^{-3} \mu M$

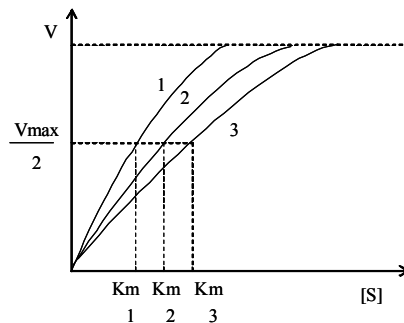
- a) Tendo em atenção o quadro e considerando o substracto glicose, determine a velocidade inicial duma reacção enzimática em que  $S = 1,0 \times 10^{-6}$ . Entre com o valor relativo de Vmax.
- b) Compare esta velocidade inicial com a velocidade duma reacção catalisada pela mesma enzima mas com o substracto D -frutose na mesma concentração.
- c) Se a E (enzima) quadruplicar quais serão as velocidades?
- d) Que tipo de inibidor é a glicose -fosfato? Considere a glicose como substracto da hexocinase.
4. As seguintes observações dão-nos o inverso da velocidade de uma reacção enzimática:

S (mM)	1/s (M-1)	1/v (m)
1,0	1000	0,014
0,5	2000	0,018
0,25	4000	0,005
0,167	6000	0,033
0,125	8000	0,040

- a) Correspondem estes pontos à equação de Michaelis -Mentem?
- b) Caso pertençam determine o  $K_m$  e a Vmax.
5. Considere o esquema seguinte:



- a) Poderá esta curva ilustrar o efeito do pH na velocidade de uma reacção enzimática? Justifique.
  - b) Poderá esta curva ilustrar o efeito da temperatura na velocidade duma reacção enzimática? Justifique.
6. Considere a Fig a seguir indicada, que representa a cinética de uma reacção catalisada por uma enzima



- a) Qual das curvas deverá representar a cinética de reacção na ausência de qualquer modulador? Justifique.
  - b) Qual das curvas deverá representar a cinética da reacção em presença de um activador alostérico? Justifique.
  - c) Qual das curvas deverá representar a cinética da reacção em presença de um inibidor alostérico? Justifique.
  - d) Em qual das curvas poderá estar presente um inibidor competitivo? E um não competitivo? Justifique.
7. De que modo pode a actividade enzimática ser influenciada?
  8. Em que condições é a concentração do produto de determinada reacção enzimática influente na sua continuidade?
  9. Como explica quimicamente a modificação da actividade enzimática na presença de um inibidor alostérico?
  10. Poderá a actinomicina D, ao bloquear a transcrição, justificar a diminuição da actividade de determinada enzima ou sistema enzimático? Justifique.
-

**8ª, e 9ª Aulas de aplicação – Bioenergética e compostos  
fosfato de alta energia**

Sumário:

Princípios de bioenergética  
Energia livre. Ligações fosfato de alta energia  
Conservação da energia química como ATP  
Ciclo do ATP  
Compostos de alta energia; posição central do ATP  
Reacções endergónicas e exergónicas  
Utilização do ATP para o trabalho biológico

Perguntas de auto-avaliação:

1. Poderá o 2º princípio da termodinâmica ser explicado aos seres vivos? Justifique.
  2. Diferencie os seguintes temas: entalpia, entropia e energia livre padrão.
  3. Qual a origem da designação do ATP como composto fosfato de alta energia?
  4. Enumere algumas razões que justifiquem a importância biológica do ATP.
  5. Como justifica que a glicose-6-fosfato ( $\Delta G^{\circ} = -3,30$ ) seja energeticamente mais pobre que o ATP?
  6. Calcule a variação da energia livre padrão da hidrólise da glicose-6-fosfato, conhecendo o valor de K (171).
  7. Existem em todas as reacções químicas celulares variações de energia livre padrão? Justifique.
  8. Quantas moléculas de ATP podem ser formadas em associação com a hidrólise do fosfoenolpiruvato ( $\Delta G^{\circ} = -14,80$ )? Justifique.
  9. Em termos energéticos, como define uma reacção espontânea?
  10. Poderá o AMP ser um composto fosfato de alta energia? Justifique.
- 

**10ª e 11ª Aulas de aplicação – Oxidação biológica,  
cadeia respiratória e fosforilação oxidativa mitocondrial**

Sumário:

Reacções de oxi-redução. Redutores e oxidantes  
Aerobiose e anaerobiose  
Estrutura mitocondrial e componentes da cadeia respiratória  
O oxigénio como aceitador final de electrões -fosforilação oxidativo

Mecanismos reguladores da fosforilação oxidativa  
Sistema de transporte de oxigênio. Pressão parcial do oxigênio e dióxido de carbono  
Importância do eritrócito. Via de Rapoport-Luebering  
Hemoglobina: Estrutura, concentração circulante e afinidade para o oxigênio. Desoxi – e oxi-hemoglobina  
Oxigenação celular

#### Perguntas de auto-avaliação

1. Será vantajosa a participação dos vários componentes no transporte de electrões, para a energética celular? Justifique.
2. Qual é a importância do oxigênio para o funcionamento da cadeia respiratória mitocondrial?
3. Em condições de menor disponibilidade celular em oxigênio, haverá alterações na formação do ATP? Justifique.
4. Explique a teoria químico-osmótica da formação do ATP.
5. Na presença de cianeto, como se processa a fosforilação oxidativa?
6. Que consequências origina o 2,4-dinitrofenol na fosforilação oxidativa?
7. É o transporte de electrões mitocondrial sinónimo de fosforilação oxidativa? Justifique.
8. Havendo aumento da relação ATP/ADP, como se processa a fosforilação oxidativa?
9. O que entende por estado 4 da respiração mitocondrial?
10. Considere que obtêm uma relação  $P/O = 2$ , utilizando o piruvato como substrato experimental da fosforilação oxidativa. Que conclusões retira daquele valor?
11. Considere que a  $PaO_2$  é de 50mmHg. Poderá a oxigenação tecidual ser afectada nestas condições? Justifique.
12. Considere que os eritrócitos são hemolisados. Que consequências são de esperar sobre a oxigenação tecidual? Justifique.
13. Na ausência de 2,3-difosfoglicerato-mutase poderá ser afectada a afinidade da hemoglobina para o oxigênio? Justifique.
14. Que consequências são de prever quanto à captação e dissociação do oxigênio por hemoglobinas anormais? Justifique.
15. De que modo é induzida a transformação da desoxi -hemoglobina em oxi-hemoglobina, ao nível dos pulmões?
16. Quando o pH plasmático aumenta, que consequências são de esperar relativamente à curva de dissociação da oxi-hemoglobina? Justifique.
17. Considere que determinado indivíduo tem cerca de metade da concentração normal de hemoglobina circulante. De que modo poderá a oxigenação tecidual ser afectada e quais os mecanismos que, ao desenvolverem-se, obstem aquele acontecimento?
18. Poderá em hipoxia ser controlado o fornecimento local de oxigênio? Justifique.

19. Considere que, por esforço intenso, aumenta a concentração circulante de lactato. Como interpreta este facto, relativamente ao sistema de oxigenação celular?
  20. Considera que P50 de determinado indivíduo é 15mmHg. Poderá este valor ser desvantajoso para a oxigenação dos respectivos tecidos?
  21. Compare as vantagens e desvantagens de cada um dos modelos da estrutura da membrana para explicar o mecanismo de transporte activo transmembranar.
  22. Qual dos modelos de estrutura da membrana estudados será mais estável sob o ponto de vista termodinâmico? Justifique.
  23. Qual a importância da existência de enzimas na membrana.
  24. Discuta o conceito de “poro” da membrana citoplásmica.
  25. Na sua opinião quais as condições que deverá ter uma substância para passar de um lado para o outro da membrana celular?
- 

**12ª, e 13ª Aulas de aplicação – Integração glicólise/ciclo de Krebs.**  
**Sistemas reguladores. Metabolismo da glicose**

Sumário:

Breve resumo da digestão alimentar dos hidratos de carbono  
Captação da glicose pelas células. Diferenças teciduais  
Glicólise e via dos poliois  
Via das fosfopentoses  
Glicogenólise e AMP cíclico. Glicogénese  
Ciclo de Krebs  
Envolvimento hormonal e regulação sectorial  
Via das fosfopentoses  
Glicogenólise e glicogénese  
Via dos poliois  
Intervenção das hexoses

Perguntas de auto-avaliação

1. Como explica que a captação da glicose seja diferente para o músculo e fígado, p.ex?
2. Poderá a fosforilação da glicose captada da circulação condicionar o respectivo aproveitamento metabólico?
3. Em que condições poderá aumentar a síntese dos poliois?
4. Que alteração (ões) poderá a inibição da desidrogenase da glicose-6-fosfato ocasionar na glicólise? Justifique.
5. Como se reflectirá um aumento da concentração celular do ATP, na actividade glicolítica?

6. Quais são os enzimas reguladores da glicólise?
  7. Quais são os destinos metabólicos da diidroxiacetona-fosfato?
  8. Quais são os destinos metabólicos do piruvato, em anaerobiose?
  9. Em anaerobiose, como se processará a actividade do ciclo de Krebs. Justifique?
  10. Qual é a utilidade metabólica do ciclo de Krebs?
  11. Poderá a concentração do citrato celular influenciar o catabolismo da glicose? Justifique. Poderá nessas condições aumentar a glicogénese? Justifique.
  12. Em condições de menor disponibilidade em oxaloacetato, que consequências são de esperar, quanto ao ciclo de Krebs? Justifique.
  13. Na ausência de insulina, será afectada a glicogenólise? Justifique.
  14. Sendo inibida a fosfodiesterase, haverá maior ou menor degradação do glicogénio. Justifique.
  15. Explique o mecanismo que desencadeia a glicogenólise.
  16. É a vida das fosfopentoses uma sequência oxidante? Justifique.
  17. Poderá a carência em Vit. B1 afectar a via das fosfopentoses? Justifique.
  18. Havendo aumento da relação celular NADH/NAD poderá ser afectada a via das fosfopentoses. Justifique.
  19. Qual é a utilidade metabólica da frutose?
  20. Na ausência de hexose 1-fosfato uridil-transferase, que consequências são de esperar?
  21. É o aumento da concentração da glicose-6-fosfato intracelular um factor influente na glicogénese? Justifique.
  22. De que factores é a fosforilase do glicogénio dependente?
  23. Poderá o glicogénio muscular manter a glicemia a níveis constantes? Justifique.
  24. Qual é o mecanismo de acção das proteínas-cinase na regulação da glicogenólise e glicogénese?
  25. Poderá a via dos poliois compensar um efeito de utilização de glicose pelas células? Justifique.
- 

#### **14ª Aulas de aplicação – Metabolismo dos ácidos gordos**

##### Sumário:

Absorção intestinal dos lípidos e transporte em circulação  
Depósitos lipídicos e  $\beta$ -oxidação  
Cetogénese  
Utilização periférica dos corpos cetónicos  
Interesse energético  
Biossíntese dos ácidos gordos e triacilglicerol



Perguntas de auto-avaliação

1. Qual é a utilidade metabólica da  $\beta$ -oxidação
  2. Qual é a razão química que justifica a designação  $\beta$ -oxidação para a oxidação dos ácidos gordos?
  3. Como interpreta a necessidade de clivagem de um pirofosfato do ATP na reacção de activação dos ácidos gordos?
  4. Na ausência de carnitina poderá haver  $\beta$ -oxidação dos ácidos gordos? Justifique.
  5. É a  $\beta$ -oxidação dos ácidos gordos com número par de átomos de carbono idêntica à dos ácidos gordos com número impar de carbonos? Justifique.
  6. Em que situações aumenta a produção de corpos cetónicos?
  7. Em que situações aumenta a concentração circulante dos corpos cetónicos?
  8. São os corpos cetónicos prejudiciais ou úteis ao organismo?
  9. Como justifica a baixa do pH corporal em situações de cetose?
  10. Quais os destinos metabólicos do  $\beta$ -hidroximetilglutaril-CoA?
  11. É a acção da insulina antagónica da epinefrina ao nível da lipólise? Justifique.
  12. Em que situações metabólicas pode ser favorecida (ou estimulada) a biossíntese dos ácidos gordos? Justifique.
  13. É a biossíntese dos ácidos gordos um processo endergónico? Justifique.
  14. Como explica a estimulação exercida pelo citrato na biossíntese dos ácidos gordos?
  15. Considera que os depósitos lipídicos são metabolicamente estáveis? Justifique.
  16. Indique os destinos potenciais do acetil-CoA em situações de abundância de glicídios celulares.
  17. Poderá a carência de vitamina do complexo B afectar a biossíntese de lípidos? Justifique.
  18. De que modo é controlada a biossíntese dos ácidos gordos, a nível celular?
  19. Considere a transformação do ácido palmítico em ácido oleico. Em que sectores celulares e de que modo pode ser efectividade?
  20. Quais são os destinos potenciais do glicerol circulante?
  21. Poderá a síntese do colesterol ser efectividade em jejum prolongado? Justifique.
-

### **15ª Aulas de aplicação – Metabolismo dos aminoácidos**

#### Sumário:

Reacções de transaminação, desaminação oxidativa e descarboxilação  
Destino do grupo aminado. Ciclo da ureia  
Destino do grupo carbonado  
Relação com o ciclo de Krebs e gliconeogénese

#### Perguntas de auto-avaliação

1. Em que situações tende a aumentar o catabolismo dos aminoácidos?
  2. É o catabolismo dos aminoácidos um fenómeno natural ou anormal? Justifique.
  3. Como justifica a utilidade metabólica das reacções catalisadas pela transaminase aspártica?
  4. Qual a importância da desidrogenase glutâmica no metabolismo dos aminoácidos?
  5. Que relação metabólica encontra entre o amoníaco e a ureia?
  6. Poderá, em situações de cetoacidose, coexistir eliminação exagerada de iões amónio? Justifique.
  7. Pensa que o aumento do catabolismo dos aminoácidos poderá ser vantajoso para a manutenção da glicemia? Justifique.
  8. Interfere o ciclo da ureia com o ciclo de Krebs? Justifique.
  9. Qual o risco da hiperamoniemia em indivíduos com função hepática anormalmente diminuída?
  10. Justifique a importância da  $\gamma$ -glutamyltransferase.
- 

### **16ª Aulas de aplicação – Integração metabólica**

#### Sumário:

Organismo do sistema endócrino  
Mecanismos de regulação geral  
Receptores hormonais  
Nucleótidos cíclicos  
Mecanismos gerais de acção hormonal – insulina, glicagina, epinefrina, esteroides e hormonas da tiroideia

#### Perguntas de auto-avaliação

1. Poderá a síntese das hormonas da tiroideia ser indirectamente dependente de estímulos nervosos? Justifique.

2. Como explica que a epinefrina actue em determinados órgãos (p.ex., fígado e músculo) e seja ineficaz em outros?
  3. Considere que a fosfodiesterase é inibida por determinada substância. Poderá a acção mediada pela glicagina na lipólise ser reforçada nestas condições? Justifique.
  4. Como se explica que a acção lipolítica da glicagina seja acompanhada por estimulação de gliconeogénese hepática?
  5. Poderá a ausência de fenilalanina hidroxilase comprometer a síntese da epinefrina? Justifique.
  6. Como explica o aumento de consumo de oxigénio induzido por excesso de produção de tiroxina?
  7. De que factores depende e qual o mecanismo que explica a estimulação da gliconeogénese pelos glicocorticoides?
  8. Como explica a possibilidade de haver aumento de glicogénese?
  9. Poderá a administração de insulina opor-se ao efeito lipolítico induzido pela glicagina? Justifique.
  10. Poderá um repressor da síntese proteica impedir o consumo de glicose induzido pela insulina no fígado? Justifique.
  11. Qual é a importância funcional da organização celular em compartimentos?
  12. Como explica que determinado metabolito possa penetrar facilmente em determinado compartimento e ser aí retido?
  13. Em que medida é a estrutura da membrana plasmática influente na selectividade de solutos ou metabolitos necessários a determinada célula e dispensáveis por outra?
  14. Como justifica que as células do mesmo tecido se mantenham intimamente aderentes entre si?
  15. Como justifica que as células do mesmo tecido reajam simultaneamente (ou quase) a determinado agente exterior?
  16. Poderá o teor lipídico corporal influenciar a distribuição da água? Justifique.
- 

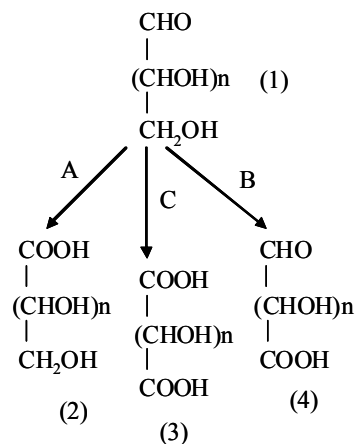
**Exemplo de prova final (1ª época, 1ª chamada, 21/3/81)**

Avisos habituais

- a) Escreva o seu nome na primeira linha de cada folha da prova.
- b) Responda, justificando cada pergunta, sem o que não será valorizada.
- c) Responda em sequência, deixando um espaço para perguntas a que, eventualmente, não responde.
- d) Toda a prova deverá ser respondida em papel almaço, no espaço máximo de 3 folhas. O excedente não será valorizado.
- e) A prova dura 180 minutos.

Perguntas

1. Considere o esquema, em que 1 se transforma por reacções químicas nos produtos 2, 3 e 4.

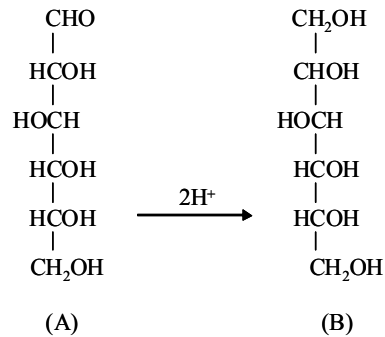


- a) Que tipo de reacções representa A, B e C?  
 b) Como designa genericamente os compostos 1, 2, 3 e 4?
- Como justifica que as proteínas possam ser identificáveis, entre outros processos, pelo ponto isoeléctrico?
  - Considere a hidrólise progressiva de um ácido ribonucleico.
    - Que produtos obtém durante esse hidrólise?
    - Que ligações são hidrolisadas no processo?
  - Considere a estrutura de um ácido gordo insaturado.
    - Analise os seus componentes estruturais mais importantes.
    - Explique em que se fundamenta a insaturação dessa estrutura.
  - Determinada solução tem pH de 8. Justifique que essa solução tem características alcalinas.
  - Considere determinada quantidade fixa de uma enzima, específica para a transformação de um dado substrato. De que forma evolui a velocidade de reacção à medida que aumenta a concentração desse substrato no meio? Justifique.
  - Como justifica que as enzimas alostéricas não evidenciem, em geral, comportamento cinético do tipo de Michaelis-Menten?
  - É a osmose um fenómeno idêntico à pressão osmótica. Justifique.
  - A difusão facilitada e o transporte activo através de membranas semi-permeáveis partilham alguns factores comuns.
    - Quais são esses factores?
    - Como distingue ambos os mecanismos entre si?

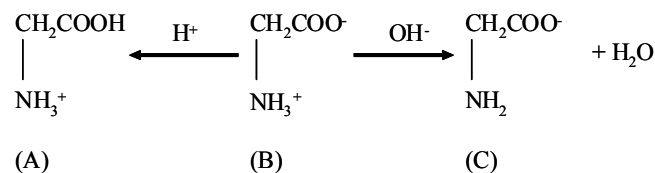
9. A porfirinogénese é um processo metabólico extremamente bem regulado. De que forma é assegurado esse controlo? Pormenorize.
  10. De que factores depende a elevada energia livre padrão da hidrólise de compostos fosforilados? Justifique.
  11. Os valores de Km da hexocinase e glicocinase são, respectivamente, 100 $\mu$ M e 10mM.
    - a) Em que condições metabólicas é utilizada uma e outra enzimas, no fígado? Justifique.
    - b) É a reacção, catalisada por aquela enzima, reversível? Justifique.
  12. Considere a seguinte reacção:  
$$\alpha\text{-cetogluturato} + \text{NAD}^+ + \text{CÔA} \rightleftharpoons \text{succinil-CoA} + \text{NADH} + \text{H}^+$$
$$\Delta G_0 = -8,0 \text{ Kcal/mole}$$
    - a) Poderá esta reacção ser metabolicamente reversível? Justifique
    - b) Poderá a carência de tiamina (Vit B1) afectar aquela reacção? Justifique.
  13. Em situações de carência de uma desidrogenase da via das fosfopentoses poderão ser afectados os depósitos lipídicos no tecido adiposo? Justifique.
  14. A coenzima Q recebe electrões de vários intermediários metabólicos oxidados.
    - a. Quais são os transportadores desses electrões provenientes da  $\beta$ -oxidação dos ácidos gordos?
    - b. Poderá o transporte de electrões prosseguir pela cadeia respiratória na ausência de oxigénio? Justifique.
  15. Considere o sistema de transferência citrato -malato.
    - a) Descreva o mecanismo de acção daquele sistema, referindo as consequências metabólicas mais relevantes.
    - b) Para que o sistema funcione nas condições habituais será necessário dispor de mitocôndrias com actividade respiratória intacta? Justifique.
  17. A carnitina é uma substância influente na oxidação e síntese dos ácidos gordos. Explique o mecanismo de acção dessa substância em ambos os processos.
  18. Como varia o nível de produção da ureia no hipercatabolismo proteico? Justifique.
  19. A activação das proteínas-cinase hepáticas desenvolve acções antagónicas sobre o metabolismo do glicogénio.
    - a) De que forma é activada ou inibida a proteína-cinase?
    - b) Como justifica aquele antagonismo de acção sobre o metabolismo do glicogénio?
  20. Poderá a lipólise exagerada activar a glicogénese? Justifique.
-

**Exemplo de prova final (2ª época, Set. 1981)**Perguntas

1. Considere a seguinte equação.



- Que grupos funcionais identifica em ambos os compostos?
  - Identifique o tipo de reacções esquematizadas?
  - Indique o nome genérico de ambos os compostos?
2. Considere as seguintes transformações:



- Que composto está representado no esquema? Justifique,
  - Como justifica a existência desse composto sob as formas A ou C?
  - Em que condições se encontra o composto em A, B ou C?
- Que diferenças identifica entre os ribonucleótidos e desoxirribonucleótidos?
  - O anel benzénico caracteriza-se por elevado poder de reacção química. Porquê?
  - Determinada solução tem de concentração 0,3 osmolal. Que significado tem esta unidade e em que cálculos se fundamenta?
  - De que forma diferencia uma inibição competitiva da não -competitiva através do formalismo de Michaelis-Menten?
  - Como justifica que determinado modulador diferente do substrato possa, ao actuar numa enzima alostérico, modificar-lhe a actividade catalítica?
  - No plasma existem proteínas em concentração cerca de quatro vezes superiores às do líquido intersticial. Que consequências são de prever quanto às trocas entre ambos os sectores corporais? Justifique.

9. De que factores depende a direcção e velocidade da difusão através de uma membrana semi-permeável?
10. Considere que a quantidade de heme formado é, em determinado momento, superior à quantidade de globina disponível. De que forma pode o heme, nessas condições, influenciar a porfirinogénese? Justifique.
11. Considere a seguinte reacção, catalisada pela desidrogenase específica:  
$$\text{D-3-fosfogliceraldeído} + \text{NAD}^+ + \text{Pi} \rightleftharpoons \text{D-3-fosfogliceróilfosfato} + \text{NADH} + \text{H}^+ \Delta G^\circ = +1,5 \text{ Kcal/mole}$$
  - a) Sabendo que o D-3-fosfogliceróilfosfato tem  $\Delta G^\circ = -11,8 \text{ Kcal/mole}$ , em que sentido tende a verificar-se a reacção, na respectiva sequencia metabólica? Justifique.
  - b) Poderá em etapa seguinte, por transformação metabólica do produto, ser formado o ATP? Justifique.
12. Como justifica (mecanismo) que a fosfofrutocinase seja inibida pelo ATP e activada pelo AMP ou ADP?
13. A desidrogenase isocítrica é uma das principais enzimas reguladoras do ciclo de Krebs, podendo ainda actuar no citosol.
  - a) Qual é a utilidade dessa enzima do citosol?
  - b) Em presença de concentrações crescentes de ADP, como evolui a actividade daquela enzima, em ambos os compartimentos celulares.
14. Havendo necessidade de poder redutor, tende a haver maior ou menor regeneração da glicose-6-fosfato, pela via das fosfopentoses? Justifique.
15. Os desacopladores da fosforilação oxidativa possibilitam que os protões atravessem livremente a membrana interna mitocondrial, em ambos os sentidos. Como interpretaria aquele efeito sobre o mecanismo da fosforilação oxidativa?
16. Considere a síntese de triglicéridos, na presença da glicose em excesso.
  - a) Que substratos derivados da glicose favorecem a síntese dos triglicéridos? Justifique.
  - b) Poderá no decurso dessas transformações, ser simultaneamente activada a transferência de equivalentes redutores do citosol para a mitocôndria? Justifique.
17. Na ausência da glicose na dieta tende a aumentar a cetogénese. Como explicaria essa ocorrência?
18. A glicemia é normalmente mantida a níveis constantes por vários mecanismos.
  - a) De que forma intervém a glicagina nesse processo?
  - b) Aumentando a concentração de insulina em circulação, como variaria a taxa de glicose em circulação? Justificação.
19. Explique a importância das reacções de transaminação na oxidação dos aminoácidos e respectivos produtos finais?
20. As relações NAD/NADH e ATP/ADP determinam o sentido de algumas vias metabólicas, através da influência exercida em algumas das suas sequências, p.ex:

- a) Em que sentido evolui a reacção quando aumenta a relação ATP/ADP? Justifique.
  - b) Poderá a transformação verificada em (a) ocorrer em conformidade com a equação indicada? Justifique.
  - c) Caso aumente a relação mitocondrial NAD/NADH, em que sentido evolui a sequência metabólica, em que participa a equação indicada? Justifique.
- 

### 1.2.2 – Ano lectivo de 1994/95

#### Programa e Conteúdos

##### I – Objectivos gerais

- 1 – Pretende-se que o aluno adquira **perícias e rigor** no que aprende e faz.
- 2 – Pretende-se que a aprendizagem de Bioquímica assente essencialmente na **racionalização e aplicação concretas** das noções teóricas ensinadas.
- 3 – Os conhecimentos gerais anteriormente aprendidos por cada aluno serão **desenvolvidos e integrados** ao longo do curso de Bioquímica, de forma a **possibilitar a compreensão** dos mecanismos que fundamentam a estrutura e actividade celulares.
- 4 – A matéria do programa será utilizada como **instrumento de trabalho**, permitindo que cada aluno adquira conhecimentos em bases científicas e os saiba aplicar a situações concretas relacionadas, teóricas e práticas.
- 5 – Cada aluno que frequentar com aproveitamento o curso de Bioquímica **deverá, ao fim do período de aprendizagem, estar apto a:**
  - a) **Demonstrar** conhecimentos exactos sobre a matéria fundamental do programa estabelecido, quer nos seus aspectos isolados quer, sobretudo, numa perspectiva de conjunto.
  - b) **Interpretar** situações novas, relacionadas com a matéria ensinada.
  - c) **Analisar e sintetizar** conhecimentos, por via oral e escrita.
  - d) **Desenvolver** acções experimentais no laboratório.

##### II – Metodologia de ensino/aprendizagem

**Conhecimentos de base** – O discente é convidado a rever os conceitos de Química Geral e Orgânica do programa do 10º, 11º e 12º ano do ensino secundário. Esses conceitos são essenciais para o estudo da Bioquímica. Não haverá aulas especiais para a reciclagem do ensino desses conhecimentos. É aconselhada auto-preparação (actualização) por livro de texto específico (Secção XI).

**Plano geral do curso** – O ensino de Bioquímica é subdividido em quatro actividades gerais: **aulas teóricas (T)**, **aulas teórico-práticas (TP)**, **aulas práticas (P)** e **seminários (S)**.



Por semana e por aluno, estão programadas duas a três (2 a 3) aulas teóricas de 60 minutos, uma a duas (1 a 2) aulas teórico-práticas de 120 minutos e uma (1) aula prática de 120 minutos. Quinzenalmente, e a partir dos fins de Abril, está programado um (1) Seminários de 180 minutos.

1. **Aulas teóricas** – Perspectivam a matéria através de tópicos seleccionados para facilitar a preparação individual. Não haverá transmissão exaustiva de matéria. Os pormenores desta devem ser obtidos nos textos de apoio aconselhados. São publicados sumários para cada aula teórica. Apenas parte da matéria do sumário é abordada em cada aula.
2. **Aulas teórico-práticas** – Destinam-se a grupos restritos de alunos (módulos de 30), para resolução de problemas, debate da matéria e esclarecimento de dúvidas de aprendizagem. O aluno terá conhecimento antecipado da matéria geral de cada aula, de modo a poder estudá-la cuidadosamente através de palavras-chave fornecidas.
3. **Aulas práticas** – Destinam-se aos mesmos módulos das TP, para desenvolvimento experimental de parte fulcral da matéria.
4. **Seminários** – São áreas de debate global com temas diversificados de natureza multidisciplinar.

### III – Matéria geral da disciplina de bioquímica

Abrange os seguintes capítulos gerais da Bioquímica Celular, com aplicação ao organismo humano (Secção X):

Água, Biomoléculas, Bioenergética, Membranas e Mecanismos de Transporte, Enzimologia, Metabolismo dos Glicídios, Lípidos e Proteínas e Mecanismos Gerais de Acção Hormonal.

### IV – Escolaridade total

O ensino da disciplina de Bioquímica no ano lectivo de 1993/94 decorre no 2º semestre, entre os dias 28 de Fevereiro e 17 de Junho de 1994, num total de 14 semanas úteis, equivalentes a 92 horas de escolaridade total aproximadamente, com a seguinte distribuição:

Ensino teórico .....	- 35x1h = 35h
Ensino teórico-prático .....	- 11x2h = 22h
Ensino Laboratorial prático .....	- 10x2h = 20h
Seminários de debate multidisciplinar .....	- 5x3h = 15h

### V – Avaliação

Para aproveitamento na disciplina, cada aluno necessita de obter: (a) frequência nas aulas teórico-práticas e práticas e (b) classificação igual ou superior a 10 valores na avaliação global.

A frequência refere-se à participação obrigatória no mínimo de 2/3 das aulas teórico-práticas e 2/3 das práticas. Não obtendo frequência (por faltas), o aluno **não pode ser avaliado nesse ano lectivo**, tendo de se inscrever e frequentar a disciplina em ano lectivo seguinte.

Os alunos que se inscreverem pela primeira vez na disciplina de Bioquímica terão de demonstrar aproveitamento através de **Avaliação continuada**.

Os alunos que se encontram noutras condições e/ou não tiverem conseguido aproveitamento na avaliação continuada, terão de realizar **Exame final único**.

#### **(A) – Avaliação Continuada (AC)**

Inclui quatro tipos de participação, indissociáveis: (i) Avaliação teórico-prática (TP) (ii) Avaliação prática (P) e (iii) Seminários (S) e (iv) Prova Final (sobre parte da matéria).

(i) **Avaliação teórico-prática (TP)** – Os alunos serão solicitados a responder por escrito (em seis das aulas teórico-práticas) a questões específicas sobre a matéria programada para essas aulas e anteriores. A pontuação global da avaliação teórico-prática inclui a aferição de conhecimentos e ainda a apreciação do docente quanto às capacidades e qualidades reveladas pelo aluno nessas aulas, assiduidade, pontualidade, interesse e qualidade da participação (oral e escrita). Contam para a média as classificações obtidas nas cinco melhores provas ou, sendo estas em número inferior, as que tiverem sido realizadas.

(ii) **Avaliação prática (P)** – Serão apreciados pelos docentes o grau de interesse, conhecimentos, assiduidade, pontualidade, desenvoltura de execução, rigor e clareza de exposição dos resultados obtidos pelos alunos. Esta apreciação será completada pela aferição de um relatório sobre o trabalho desenvolvido individualmente no laboratório, e aferição dos problemas recolhidos nas aulas práticas.

(iii) **Seminários (S)** – Incluem temáticas afins (1º a 4º), para discussão plenária numa perspectiva de aplicação médica. Haverá avaliação diagnóstica e aferição final dos conhecimentos. O 5º Seminário engloba a apresentação dos trabalhos realizados nas aulas práticas, sob a forma oral ou “poster”. Este trabalho será motivo de aferição da qualidade dos trabalhos e das capacidades reveladas.

(iv) **Prova Final (F)** – A prova final tem parte escrita (obrigatória) e parte oral (facultativa para classificações superiores ou iguais a 12 valores na prova escrita). São admitidos à prova final (F) os alunos que obtiverem a média de 10 (dez) ou mais valores no conjunto das provas de avaliação anteriores (i a iii).

(a) **Exame escrito** – O exame escrito baseia-se em parte da matéria do programa (Secção X)

(b) **Exame oral** – Os alunos que, tendo participado na AC, obtiverem aproveitamento final que considerem inferior às suas expectativas podem requerer prova oral, a realizar na 1ª época.

(v) **A classificação final da AC** resulta do somatório das pontuações (corrigidas) atribuídas aos quatro tipos de provas de avaliação, a dividir pelo total dos factores de ponderação.

(vii) **Têm aproveitamento na AC** os alunos que obtiverem classificação igual ou superior a 10 (dez) valores. Serão utilizados os seguintes factores de ponderação da AC e da prova de avaliação para cálculo da nota final TP = 3; P = 2,5; S = 0,5; F = 4,0.

Exemplo:

Média das classificações nas TP =	15
Média das classificações nas P =	16
Média das classificações nos S =	16
Classificação da avaliação final F =	18

Cálculo da nota final =  $\frac{(15 \times 3) + (16 \times 2,5) + (16 \times 0,5) + (18 \times 4)}{10} = 16,5$  valores

10

(viii) **Observações:**

- A AC tem de ser completada na 1ª época, sem o que são perdidos os direitos sobre as classificações obtidas nessa modalidade.
- As provas intercalares de avaliação continuada não podem ser realizadas em dias diferentes daqueles em que recaírem.

### **(B) Exame final único (EFU)**

**A realizar pelos alunos nas seguintes condições:**

- Tenham obtido menos de 10 valores no conjunto de (i a iii);
- Tendo sido admitidos à prova final (iv) de AC e não compareçam;
- Desistam da AC (antes de realizar a prova final F);
- Repetentes;
- Não tenham obtido aproveitamento na AC.

O Exame Final Único pode ser realizado em qualquer das duas épocas de exame.

Podem inscrever-se no exame final de 1ª ou 2ª época unicamente os alunos que obtiverem frequência no mesmo ano lectivo (ou anteriores, sendo repetentes), e que não tenham completado, ou que não tenham tido aproveitamento em anos anteriores.

O aproveitamento obtido em Exame Final implica na perda das classificações eventualmente atribuídas na avaliação continuada.

O exame final inclui: (i) **prova escrita** e (ii) **prova oral**.

(i) **Prova escrita** – abrange toda a matéria do programa.

(ii) **Prova oral** – Completa a prova escrita sobre toda a matéria. São admitidos a exame oral os alunos com pontuação mínima de 8 valores; classificações inferiores a 8 valores excluem o aluno do resto do exame.

A **classificação final** resulta da ponderação do conjunto das provas de exame final único (escrito e oral).

**Observações:**

- O Exame Final pode ainda ser repetido numa época imediata para melhoria de nota, mediante inscrição na Secretaria da Faculdade.

- Os alunos que obtiverem aproveitamento na AC e desejarem melhoria de nota, apenas poderão fazê-lo numa 2ª época de exames ou ano lectivo seguinte, como exame final único.

- Não podem inscrever-se no exame da 1ª época os alunos que, tendo realizado a prova final de AC, não tenham nela obtido aproveitamento.

## **VI – Programa geral previsto para o ensino teórico**

### **Aula nº**

0 – Abertura

1 a 5 – Água e Biomoléculas

6 e 7 – Enzimologia

8 – Bioenergética

9 – Biomembranas e transporte transmembranar (activo e passivo)

10 – Introdução ao metabolismo

11 – Glicólise

12 – Ciclo dos ácidos tricarbóxicos

13 – Interconversão metabólica de dissacáridos e monossacáridos. Via das fosfopentoses

14 – Glicogenólise

15 e 16 – Respiração Celular, cadeia respiratória mitocondrial, fosforilação oxidativa

17 – Transporte de equivalentes redutores e regulação conjunta do catabolismo da glicose

18 e 19 – Catabolismo lipídico: lipólise, oxidação, cetogénese

20 e 21 – Catabolismo proteico: oxidação dos aminoácidos, ciclo da ureia

22 e 23 – Biossíntese dos hidratos de carbono: glicogénese e gliconeogénese

24 e 25 – Biossíntese dos lípidos

26 e 27 – Mecanismos gerais de acção hormonal

28 – Regulação hormonal do metabolismo glicídico

29 – Regulação hormonal do metabolismo lipídico

30 a 34 – Interrelação metabólica

**VII – Programa previsto para as aulas teórico-práticas****Aula nº**

- 1 – Biomoléculas
- 2 – Enzimologia
- 3 – Membranas, bioenergética e transporte
- 4 – Catabolismo dos glúcidos
- 5 – Respiração celular
- 6 – Integração da matéria anterior
- 7 – Catabolismo lipídico
- 8 – Catabolismo proteico e biossíntese dos glúcidos
- 9 – Biossíntese dos lípidos
- 10 e 11 – Regulação hormonal. Interrelação metabólica

**VIII – Programa previsto para as aulas práticas (AP)****I Parte – Técnicas Laboratoriais**

- 1ª AP (a) Introdução ao trabalho experimental  
(b) Material e Equipamento  
(c) Reagentes: Manipulação (pesar e pipetar)
- 2ª e 3ª AP (a) Soluções verdadeiras e suspensões  
(b) Expressão da concentração das soluções  
(c) Soluções específicas; resolução de problemas
- 4ª AP (a) Introdução à Potenciometria  
(b) Tampões fisiológicos e não fisiológicos (resolução de problemas)
- 5ª AP (a) Introdução à Centrifugação  
(b) Separação dos constituintes sanguíneos  
(c) Hemólise  
(d) Introdução à Espectrofotometria (resolução de problemas)

**II Parte – Homeostasia Celular – Metabolismo Eritrocitário**

- 6ª e 7ª AP (a) Introdução à Cinética Enzimática (resolução de problemas)  
(b) Determinação de actividades enzimáticas (Hexocinase e Desidrogenase da Glicose 6-fosfato)  
(c) Determinação das concentrações de glicose e de lactato
- 8ª e 9ª AP Estudo da acção de efectores (ácido acetilsalicílico, fluoreto de sódio; fenilhidrazina) no metabolismo eritrocitário
- 10ª AP Análise e Discussão dos resultados

**IX – Programa de seminários****Nº de Ordem**

- 1º (22 Abril) – Hemoglobinas normais e anormais/Hemoglobinopatias

- 2º (6 Maio) – Etanol, membranas celulares/Alcoolismo  
3º (20 Maio) – Caquexia metabólica/Cancro  
4º (3 Junho) – Dislipidémias/Aterosclerose  
5º (17 Junho) – Mini-Simpósio (apresentação pública dos resultados individuais e de grupo)

## **X – Conteúdos programáticos e temas para exame \***

### **Subtítulos principais**

1 **Água** – Composição. Estrutura molecular, estados. Solução, suspensões, dispersões. Propriedades.

2 **Biomoléculas** – Glicídios, lípidos, proteínas e ácidos nucleicos: composição, dimensão, conformação, propriedades químicas e biológicas.

3 **Enzimologia** – Cofactores enzimáticos e vitaminas. Enzimas: classificação e acção catalítica, energia de activação, especificidade para o substrato, grupos funcionais e factores influentes na catálise; mecanismos e cinética das reacções enzimáticas, equação de Michaelis-Menten e constantes derivadas, tipos de inibição e inibidores enzimáticos, determinação da actividade, unidades de expressão e particularidades da reacção intracelular, enzimas reguladoras (por modulação covalente e não-covalente) e activação de zimogénios.

4 **Biomembranas** – Composição e estrutura, modelos teóricos, assimetria, dinâmica dos constituintes, funções gerais, fluidez intrínseca, citoesqueleto.

5 **Bioenergética** – Leis gerais da termodinâmica e sua aplicação aos sistemas biológicos, conceitos de energia livre, variação de energia livre padrão da hidrólise de compostos fosforilados, ciclo do ATP, potencial da transferência do grupo fosforilo de alta energia, seus componentes e direcção do fluxo energético.

6 **Transporte** – Tipos e relação com estrutura e propriedades da membrana celular. Características do transporte mediado (passivo e activo), modelos e energética. Ionóforos. Características cinéticas do transporte activo. Particularidades dos sistemas de transporte iónico (para o sódio, potássio, cálcio; intervenção do ATP e ATPases específicas) e da glicose (ou outros açúcares).

7 **Introdução ao metabolismo** – Ciclos de carbono, azoto e oxigénio; fluxo energético entre células e ambiente. Organização geral dos sistemas metabólicos: metabolitos, sequências multienzimáticas, particularidades funcionais e energéticas, sequências catabólicas, anabólicas e anfóblicas, distribuição intracelular. Selectividade tecidual e mecanismos gerais de regulação.

**8 Fermentação e glicólise** – Tipos de fermentação. Sequência glicolítica: localização celular, etapas, intermediários e enzimas. Etapas reguladoras. Transferência e conservação de energia. Balanço energético.

Formação e aproveitamento metabólico do piruvato e lactato. Monossacáridos utilizados e aproveitamento de dissacáridos. Particularidades da glicólise eritrocitária, formação e utilidade funcional do 2,3-BPG.

**9 Respiração celular** – Etapas de transformação do piruvato em acetil-CoA e seu aproveitamento pelo ciclo de Krebs. Localização, etapas, intermediários e enzimas do ciclo. Etapas reguladoras e destino dos electrões. Componentes da cadeia de transporte de electrões e fosforilação oxidativa. Associação com gradiente de protões. Controlo respiratório, inibição e reversibilidade do transporte de electrões na fosforilação oxidativa, mecanismos teóricos (com destaque para a teoria químio-osmótica). Acção intracelular do oxigénio, utilização e sistemas de protecção. Transporte de cálcio e de outros metabolitos (sistemas de vaivém) através da membrana mitocondrial. Transferência de potencial redutor entre citosol e mitocôndria. Regulação integrada da respiração e glicólise. Potencial de fosforilação.

**10 Outras vias do catabolismo glicídico** – Via das fosfopentoses (localização celular, enzimas e metabolitos), importância das desidrogenases e poder redutor. Interrelação com a sequência glicolítica e regulação conjunta. Glicogenólise: localização celular e selectividade tecidual, enzimas e intermediários metabólicos. Importância da fosforilase do glicogénio na regulação. Balanço energético.

**11 Lipólise e beta-oxidação** – Tecido adiposo, hidrólise dos triglicéridos, outras proveniências dos ácidos gordos, sequência e componentes da oxidação dos ácidos gordos (saturados e insaturados, número par e ímpar de átomos de carbono), utilização do produto final (acetil-CoA), cetogénese e oxidação dos corpos cetónicos: importância energética dos corpos cetónicos.

**12 Catabolismo proteico** – Proteólise (tipo, localização), e vias gerais da oxidação de aminoácidos (com formação de acetil-CoA), alfa-cetoglutarato, succinato, fumarato e/ou oxaloacetato). Transmissão, desaminação oxidativa, descarboxilação (enzimas e cofactores importantes). Destino metabólico do esqueleto carbonato de aminoácidos. Formação de amoníaco e ião amónio; ciclo da ureia. Consequências metabólicas de hiperamoniémia e particularidade da oxidação da fenilalanina e tirosina.

**13 Biossíntese dos glícidos** – Gliconeogénese: localização celular e substratos, sequência, enzimas, regulação própria; importância de piruvato-carboxilase, cofactores, consumo energético. Ciclos fúteis. Nucleósidos – difosfatos-açúcares e utilização da glicose 6-fosfato na síntese do glicogénio, outros monossacáridos, dissacáridos e glicogénio. Via do ácido urónico. Gli-

cogénese (sequência, importância da glicogénio – sintetase), regulação comparada com glicogenólise. Metabolismo de alguns dissacáridos (maltose, lactose, sacarose), monossacáridos (frutose e galactose) e síntese enzimática e não-enzimática de glicoproteínas. Sistemas reguladores.

**14 Biossíntese dos lípidos** – Alongamento dos ácidos gordos saturados e insaturados. Biossíntese de triglicéridos, fosfoglicéridos e esfingolípido: localização, sequência, enzimas, intervenientes metabólicos e destinos dos produtos finais. Biossíntese do colesterol, ésteres do colesterol, outros esteróides e prostaglandinas; sequência e interrelação metabólica. Sistemas reguladores na síntese lipídica.

**15 Interrelação metabólica** – Integração geral das principais vias metabólicas, objectivos, mecanismos reguladores (locais e globais). Intervenção hormonal e algumas particularidades metabólicas de tecidos diferentes (ex: eritrócito, hepatócito, miócito e células nervosas). Sinais autócrinos, parácrinos e endócrinos. Receptores hormonais, com destaque para os da insulina, glicagina, epinefrina e esteroides. Principais efeitos metabólicos da insulina, glicagina, epinefrina e corticosteroides.

\*A **avaliação final escrita de avaliação contínua** abrange os conteúdos temáticos n.ºs 6 a 15. É considerada matéria avaliada, e, portanto, dispensada de reavaliação, a referida nos subcapítulos 1 a 5 (inclusive).

O **Exame final único** abrange a matéria de todos os temas (1 a 15).

## **XI – Textos de apoio aconselhados**

Consideram-se mais adequados para a aprendizagem pretendida os seguintes tratados:

### **1. Química**

– Fundamentals of General, Organic and Biological Chemistry, por JR Holum, (Ed: John Wiley & Sons, New York), 1990.

### **2. Metabolismo (opções)**

#### **Primeira escolha**

– Textbook of Biochemistry, (3ª edição), por Thomas M Devlin, (Ed: John Wiley & Sons, New York), 1992.

#### **Segunda escolha**

– Biochemistry, (3ª edição), por L Stryer, (Ed: WH Freeman and Company, New York), 1988.

– Biochemistry, por J David Rawn, (Ed: Neil Patterson Publishers, Burlington), 1989.

– Principles of Biochemistry, (2ª edição) por Albert L Lehninger, David L Nelson, Michael M Cox, (Ed: Worth Publishers, New York), 1993.



**Textos complementares**

- Molecular Cell Biology, (2ª edição), por J Darnell, H Lodish, D Baltimore (Ed: WH Freeman and Company, New York), 1990.
- Wheater's Functional Histology. A Text and Colour Atlas, (3ª edição), por HG Burkitt, B Young, JW Heath (Ed: Churchill Livingstone, Edinburg), 1993).

**3. Temas de apoio (disponíveis neste Instituto)**

Resumos de Enzimologia  
Resumos de Bioenergética  
Membranas – Esquemas  
Resumos sobre Generalidades Metabólicas  
Resumos do Metabolismo dos Glicídios I  
Resumos do Metabolismo dos Glicídios II  
Esquemas Metabólicos  
Resumos sobre Integração Metabólica  
Particularidades Metabólicas de alguns Tecidos.

---

**Sumários das Aulas Teóricas****1ª Aula - Água e soluções**

A água é um dos compostos químicos constituintes dos seres vivos que, no homem adulto normal, perfaz aproximadamente 60 a 70% do peso corporal.

A água corporal (i) reparte-se pelos compartimentos intra e extracelulares nas percentagens aproximadas de 40% e 20% do peso corporal, respectivamente, (ii) difunde entre estes espaços através de membranas celulares, e (iii) encontra-se em equilíbrio hídrico dinâmico (entre as quantidades absorvida e eliminada).

Na composição química da água (H<sub>2</sub>O) entram os elementos químicos oxigénio (O) e hidrogénio (H), unidos por duas ligações covalentes (O-H) com características polares. No conjunto, a distribuição das orbitais dos electrões ligantes e dos não partilhados ocupam quatro lobos dirigidos segundo os vértices de um tetraedro regular.

As interacções intermoleculares estabelecidas entre as moléculas de água são do tipo das ligações por “ponte” de hidrogénio. Em consequência este solvente de natureza molecular dipolar tem a capacidade de hidratar compostos ionizáveis, dissolver substâncias hidrofílicas e não solubilizar substâncias hidrofóbicas. A introdução em meio aquoso de solutos orgânicos de comportamento anfipático conduz à formação de interacções intermoleculares dos tipos de van der Waals, hidrofóbicas e hidrofílicas.

Nos compartimentos corporais intra e extracelulares coexistem electrólitos (partículas ionizadas catiónicas ou aniónicas), sais, macromoléculas

(polares, apolares, ou anfipáticas), complexos macromoleculares (que nalguns englobam compostos hidrofóbicos); em conjunto com a água, constituem soluções coloidais com propriedades do estado gel, passíveis de transformação reversível ao estado sol.

---

## **2ª Aula – Proteínas**

**(1) Ácidos aminados** – Os ácidos aminados caracterizam-se por terem ligados no carbono  $\alpha$  um grupo carboxilo, um grupo amina, um átomo de hidrogénio e um grupo funcional R. As cadeias laterais dos ácidos aminados apresentam características hidrofóbicas ou hidrofílicas e no conjunto com os grupos amina e carboxilo podem estar ionizados consoante o pH do meio. Existe um valor de pH para o qual o ácido aminado é neutro e que se considera como ponto isoeléctrico. Muitos ácidos aminados são iões dipolares a pH=7 (Zwitterion).

**2) Proteínas** – polímero de L-aminoácidos unidos entre si por ligações peptídicas, as quais, apresentam carácter polar com características de ressonância e geometria planar com rotação proibida. A sequência dos resíduos de ácidos aminados numa proteína define a estrutura primária a qual nalguns casos apresenta ligações bissulfito intracadeia. Conformações regularmente repetidas na cadeia polipeptídica originam a estrutura secundária da proteína. Como exemplos existem a  $\alpha$  hélice, com cerca de 3,6 ácidos aminados por volta, estabilizada por ligações por ponte de hidrogénio entre o grupo aceitador de hidrogénio (oxigénio do grupo carboxilo da ligação peptídica) e o grupo dador de hidrogénio (NH da ligação peptídica). As ligações por ponte de hidrogénio estão orientadas de modo quase paralelo ao eixo da  $\alpha$  hélice. Como exemplo –  $\alpha$  queratina – a proteína do cabelo, pele e unhas é um aglomerado de microfibrilhas ligadas por pontes bissulfito; microfibrilha é composta por onze protofibrilhas, isto é, uma estrutura de três duplas hélices enroladas uma à volta da outra e estabilizadas por pontes bissulfito e de van der Waals. A rigidez da queratina é proporcional ao número de pontes bissulfito. No caso da cadeia polipeptídica não se enrolar mas estender-se de modo regular e semelhante a pregas resulta a estrutura secundária  $\beta$  pregueada. É igualmente estabilizada por pontes de hidrogénio entre grupos de ligações peptídicas intercadeias posicionando-se estes de modo paralelo ou antiparalelo. Os valores dos ângulos de rotação  $\phi$  ( $C\alpha$  a N-H) e  $\psi$  ( $C\alpha$  a C=O) determinam a estrutura em  $\alpha$  hélice ou  $\beta$  pregueada na dependência do tipo de L-ácidos aminados constituintes. A estrutura terciária das proteínas refere-se à disposição tridimensional da biomolécula e algumas apresentam domínios no caso das proteínas globulares. Tanto os domínios como a proteína posicionam os ácidos aminados polares no exterior mantendo o interior hidrofóbico. Por exemplo, a mioglobina é uma proteína globular que apresenta um heme (grupo prostético) por molécula. No caso de vários monómeros protei-

cos de igual ou diferentes formas se associarem resulta uma proteína com estrutura quaternária. Por exemplo a hemoglobina, com conformação globular, possui quatro cadeias polipeptídicas enroladas entre si, cada uma com um grupo prostético. As proteínas globulares existentes exercem funções biológicas diversas desde transporte, catálise, controlo genético, apesar de possuírem todas uma forma esférica. Formas em cilindro mostram as proteínas fibrosas, como por exemplo o colagénio, que contribuem para a rigidez da matriz do tecido conjuntivo (função estrutural). A unidade fundamental é o tropocolagénio, formado por três hélices polipeptídicas (que contém prolina, que está ausente na alfa hélice) enroladas entre si e estabilizadas por ligações de (i) pontes de hidrogénio (ii) bases de Schiff (iii) aldol. Os cordões de tropocolagénio associam-se em microfibrilhas e estas em fibras de colagénio \*. Conformação mais irregular apresenta a elastina, proteína presente no tecido conjuntivo da pele e vasos sanguíneos, cujas cadeias polipeptídicas formam uma rede por ligações cruzadas do tipo base de Schiff e desmosina. As diferentes proteínas podem perder a capacidade de exercer funções biológicas de modo reversível ou irreversível por desnaturação.

\* Este exemplo será desenvolvido nas aulas de glícidos e de enzimas.

---

### **3ª e 4ª Aulas – Glícidos**

**1) Glícidos (açúcares)** – Os glícidos são biomoléculas constituídos por polihidroxi-aldeídos (aldoses) ou polihidroxiocetonas (cetoses). Consoante o número de unidades de aldeído ou cetona assim são classificados em monossacáridos (com uma função química aldeído ou como uma função química cetona), dissacáridos (duas unidades de monossacáridos), polissacáridos (polímeros de monossacáridos com ou sem ramificações).

**2) Monossacáridos** – os monossacáridos mais simples são as trioses, gliceraldeído e a dihidroxicetona. Tomando como exemplo a molécula de gliceraldeído verifica-se que contém um carbono assimétrico ( $n=1$ ) e nenhum plano de simetria molecular, o que origina duas formas de estereoisómeros ( $\alpha^n = 2^1 = 2$ ; D e L); as letras D e L referem que se trata de estereoisómeros (configurações diferentes para a mesma molécula) que apresentam o grupo hidroxilo na posição C2 virado para a direita (D) ou para a esquerda (L) (segundo a representação de Fischer) relativamente ao grupo carbonilo da função química aldeído. Como as duas fórmulas estruturais são a imagem uma da outra trata-se de um par de enantiómeros. Açúcares com três, quatro, cinco ou seis átomos de carbono recebem o nome de trioses, tetroses, pentoses e hexoses. Qualquer molécula que possua carbono (s) assimétrico (s) mas sem plano de simetria apresenta a particularidade de em solução aquosa desviar a orientação da luz polarizada incidente, isto é, tem actividade óptica em solução aquosa. As representações das fórmulas estruturais lineares de Fischer para os monossacáridos são substituídas pelas de projecção de Haworth,

mais de acordo com a tetravalência do carbono e os ângulos das ligações simples. Assim, as aldoses configuram-se em piranoses (por semelhança com o anel de pirano) e as cetoses em furanoses (por semelhança com o anel de furano). A ciclização resulta da formação intramolecular (I) de hemiacetais entre os grupos hidroxilo (C5) e o grupo carbonilo no caso de hexoses (aldoses) e de (ii) hemicetais entre o grupo hidroxilo (C5) e o grupo carbonilo no caso das hexoses (cetoses) ou o grupo hidroxilo (C5) e o grupo carbonilo no caso da frutose (cetose). Consoante o grupo hidroxilo do carbono anomérico (carbono assimétrico do hemiacetal) esteja orientado para baixo ou para cima do “plano do papel” na projecção de Haworth assim temos um  $\alpha$  monossacárido ou um  $\beta$  monossacárido.

**3) Dissacáridos** – Para a formação de dissacáridos concorrem as ligações O-glicosídicas  $\alpha$  1,4 ou  $\beta$  1,4 ou  $\alpha$  1,6 ou  $\beta$  1,6 (ligação entre hemiacetais ou hemicetais com o grupo hidroxilo de outro monossacárido). De entre os dissacáridos destacam-se a maltose (duas glicoses), lactose (galactose + glicose) e sacarose (glicose + frutose).

**4) Polissacáridos** – O polissacárido que se encontra no organismo humano com funções de reserva energética é o glicogénio (polímero de glicose com cadeias O-glicosídicas lineares  $\alpha$  1,4 com ramificações por ligações O-glicosídicas  $\alpha$  1,6). A ligação de unidade glicídicas a proteínas origina as glicoproteínas algumas das quais com funções de defesa (imunoglobulinas), de estrutura (colagénio) e reconhecimento (glicoproteínas de membrana, grupos sanguíneos e as de circulação livre no sangue de que as sialoglicoproteínas e as asialoglicoproteínas são exemplos). Se a proporção de glicídios é superior à das proteínas (o caso contrário verifica-se nas glicoproteínas) resultam os proteoglicanos com funções estruturais constituintes dos tecidos conjuntivos. As unidades glicídicas contêm funções químicas (I) carboxílicas tais como D-glicuronato (derivado por oxidação no carbono 6 da glicose); (ii) amina tais como N-acetilglicosamina ou N-acetilgalactosamina, e (iii) hemiacetal (galactose), sulfato de heparano (ácido hidurónico + glicosamina). Como exemplos de polissacáridos constituintes dos proteoglicanos tem -se o ácido hialurónico (D-glicuronato + N-acetil-D-glicosamina), condroitina (D-glicuronato + N-acetilgalactosamina) e sulfato de queratano (N-acetilglicosamina 4 sulfato + galactose).

---

### **5ª Aula – Lípidos**

**1) Lípidos** – Os lípidos são biomoléculas derivadas de ácidos gordos (ácidos monocarboxílicos) de cadeia alifática variável em dimensão desde seis a mais de catorze átomos de carbono.

**2) Ácidos gordos** – Os ácidos gordos são identificados pela nomenclatura sistemática ou pelos nomes comuns seguindo uma numeração árabe (o

numero 1 corresponde à função carboxílica COOH) ou numerado usando o alfabeto grego  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ . (o  $\alpha$  corresponde ao carbono adjacente à função carboxílica). No caso de ácidos gordos insaturados a dupla ligação é indicada pelo símbolo  $\Delta^n$  em que n é o número do primeiro carbono da ligação. A terminologia (w-x) refere-se à contagem do átomo de carbono onde se encontra a ligação dupla (x) a partir da extremidade metilo do ácido gordo. Os ácidos gordos que integram a dieta pertencem às séries dos ácidos linoleico e linoléico.

**3) Acilgliceróis** – acilgliceróis são lípidos constituídos por uma molécula de glicerol (triálcool) em que um, dois ou três hidroxilos estão esterificados com acilos gordos originando o mono-, di- ou triacilglicerol. Os triacilgliceróis constituem material de reserva energética localizado preferencialmente no adipocito (células do tecido adiposo).

**4) Fosfolípidos (fosfatidilgliceróis)** – O ácido fosfatídico é o fosfolípido mais simples derivado da molécula de glicerol, que contém duas moléculas de acilos gordos esterificados com dois grupos hidroxilos (em C<sub>1</sub> e C<sub>2</sub>) e um grupo fosfato inorgânico esterificado com hidroxilo do carbono 3. A esterificação subsequente do ácido fosfatídico com colina, etanolamina, inositol, serina, glicerol origina respectivamente fosfatidilgliceróis de fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina, fosfatidilglicerol (precursor de cardiolipina, fosfolípido que predomina na membrana mitocondrial). Ao contrário dos triacilgliceróis (hidrofóbicos) os fosfolípidos são anfipáticos (contém extremidades polar e apolar), entram na constituição das membranas biológicas, estimulam a actividade de proteínas com actividade catalítica e entram na constituição da bilis. Tanto a fosfatidiletanolamina como o fosfatidilinositol como o fosfatidilglicerol são fosfolípidos ácidos (apresentam carga negativa a pH fisiológico). Quando na molécula do fosfolípido, fosfatidilcolina, as duas ligações éster resultam da ligação a dois ácidos palmíticos (16:0; 16 átomos de C saturado) originou-se o dipalmitoil lecitina que existe no líquido extracelular que circunda os alvéolos exercendo a função de surfactante pulmonar, evitando o colapso alveolar. A molécula da fosfatidilinositol (PI), tal como os outros fosfolípidos acima referidos, entram na composição das membranas celulares, mas o PI apresenta a particularidade de nalguns casos servir de ligação a glicoproteínas orientadas para o exterior celular. Quando no carbono 1 o grupo hidroxilo se liga a um grupo alquenilo ocorre uma ligação éter e forma-se um plasminogénio.

**5) Colesterol** – A molécula de colesterol (perhidrociclopentanofenantreno) entra na composição das membranas celulares e dos ácidos biliares; origina as hormonas esteroides femininas e masculinas, os corticosteroides e o mineralcorticoide aldosterona. Os ácidos biliares, são uma forma de excreção do colesterol, que apresentam a propriedade de emulsionar as gorduras (triacilgliceróis) e formar micelas (agregados moleculares em esfera com

exposição das extremidades polares para o exterior e as cadeias alifáticas hidrofóbicas para o interior da esfera micelar) com os ácidos gordos e 2-monoacilgliceróis permitindo o transporte no lúmen intestinal.

**6) Esfingolípido** – são derivados da esfingosina (trans 1,3-dihidroxi-2-amino, octadeceno). O grupo amina da esfingosina está ligado por uma ligação amida a um grupo acilo originando a ceramida. A ligação de fosfatidilcolina ao grupo hidroxilo primário (do C1 da ceramida) com posterior libertação do diacilglicerol conduz à formação do único esfingofosfolípido, a esfingomielina (ceramida + fosfocolina; que entra na composição das membranas celulares). A ligação de glicídios, mono ou oligossacáridos à molécula de ceramida (ligação glicosídica no álcool primário da ceramida) conduz à formação respectivamente de cerebrósidos (glico ou galactocerebrósidos) e de globósidos. Se no glicosfingolípido ocorrem oligossacáridos contendo ácido siálico obtém-se os gangliósidos (entram na constituição das células ganglionares do sistema nervoso central).

**7) Derivados de ácido linoleico** – No fígado é sintetizado o ácido araquidónico, derivado do ácido linoleico, e consoante as etapas de síntese (ver adiante no programa de bioquímica) obter-se-á as biomoléculas prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos.

**8) Lipoproteínas** – As lipoproteínas são complexos macromoleculares de proteínas, colesterol triacilgliceróis e fosfolípidos. Estes agregados macromoleculares permitem o transporte dos lípidos em meios aquosos, como ocorre no plasma (parte líquida do sangue) durante a circulação sanguínea. Consoante a composição química, isto é, a proporção de cada constituinte bimolecular, assim, as lipoproteínas são separadas por ultracentrifugação em classes de densidade (g/mL), de valores crescentes consoante o conteúdo proteico. Em valores de densidade (i) menores que 0,95 correspondem os quilomicra (ii) entre 0,95-1,01 agrupam-se as VLDL, ou seja, as lipoproteínas de muito baixa densidade (iii) entre 1,01-1,06 situam-se as LDL, isto é, as lipoproteínas de baixa densidade e (iv) entre 1,06-1,21 correspondem as HDL, ou lipoproteínas de alta densidade. Também por electroforese as lipoproteínas são separadas pela ordem quilomicra, VLDL, LDL, HDL relativamente ao ponto de aplicação (origem de migração) da amostra conjunta das quatro classes de lipoproteínas. Quanto às dimensões em nm as de menor densidade correspondem às de maior dimensão segundo a seguinte escala: quilomicra (70-100 nm); VLDL (30-80 nm); LDL (20-30 nm); HDL (7-10 nm).

**Funções bioquímicas das biomoléculas** – Algumas proteínas exercem funções de transporte (de: oxigénio, anidrido carbónico, iões extra e intramembranares, ácidos gordos e lípidos) armazenamento (de oxigénio e de iões), estruturais, reconhecimento, intercomunicação celular, protecção (contra: antigénios, bactérias), catalíticas, de receptores e mantêm a integridade

de membrana celular. Alguns glicídios participam em processos de reconhecimento (grupos sanguíneos ABO); de transmissão de sinais; de intercomunicação celular, constituem material de reserva energética (por exemplo: o glicogénio) e de manutenção energética celular (glicose); exercem funções estruturais na forma de glicoproteínas e/ou proteoglicanos. Alguns lípidos constituem material de reserva energética (os triacilgliceróis no adipócito), contribuem para a energia química (necessária a várias funções celulares); modulam a actividade catalítica de certas enzimas; participam em processos inflamatórios, mantêm a integridade da membrana e controlam os processos de permeabilidade.

---

### **6ª Aula -Enzimas**

**1) Enzimas** – Enzimas são proteínas com actividade catalítica, isto é, que aceleram as reacções químicas que se processam nos organismos vivos (“in vivo”). Reacções similares poderão ser simuladas “in vitro” (fora do organismo, em experiências laboratoriais) utilizando substratos e enzimas nas formas purificadas ou nativas (inseridas na amostra biológica). As enzimas não são consumidas nas reacções que catalisam, e qualquer alteração molecular que ocorra durante o processo catalítico é repostada, de modo a obter-se a enzima na forma molecular e/ou estrutural inicial. As enzimas não interferem no estado de equilíbrio e diminuem a energia de activação das reacções que catalisam.

**2) Centro activo** – A ligação entre as moléculas de enzima (E) e de substrato (S; substância a ser transformada) efectua-se num local da proteína constituído por ácidos aminados de contacto ou de ligação e catalíticos, que em conjunto constituem o centro activo da enzima. Para que a ligação seja eficiente, isto é, que conduza à formação de produto é necessário que (i) haja colisão entre as moléculas E e S (ii) as moléculas de S estejam orientadas correctamente para o centro activo e (iii) se criem forças de constrangimento no complexo ES.

**3) Holoenzimas** – Holoenzimas são enzimas que necessitam de um constituinte não proteico para exercer actividade catalítica. A parte proteica recebe o nome de apoenzima e o composto não proteico pode ser cofactor (ião metálico ou fosfolípido) ou uma coenzima ou um grupo prostético, (isto é, ligado covalentemente à apoenzima).

**4) Mecanismos de catálise enzimática** – Os radicais dos ácidos aminados do centro activo, que intervêm na catálise comportam-se como ácidos, bases ou agentes nucleofílicos. As diferentes etapas reaccionais, que conduzem à formação do(s) produto(s), após a formação do complexo ES, ocorrem por mecanismos ácido-base ou nucleofílicos, com existência momentânea de complexos enzimáticos intermediários tetraédricos. No fim da

reacção os radicais dos ácidos aminados recuperam o estado inicial de ionização.

**5) Factores influentes da catálise enzimática** – Consideram-se como factores influentes na velocidade da reacção enzimática as concentrações de substrato e de enzima, os valores de temperatura e pH, a presença de factores (substâncias que aumentam ou diminuem a actividade catalítica da enzima), e a de cofactores e/ou coenzimas.

**6) Influência da concentração de substrato na catálise enzimática** – Mantendo a concentração de enzima constante, (e muito inferior à do substrato), e elevando da concentração de S, a velocidade da reacção aumentará até um valor (velocidade máxima –  $V_{max}$ ) que permanecerá (assimptoticamente) constante a qualquer acréscimo de S. Nestas condições de obtenção de  $V_{max}$  diz-se que a enzima está saturada pelas moléculas de S, e define-se número de troca ( $K_{cat}$ ) como o número de moléculas de substrato convertido em produto por unidade de tempo e por centro activo da enzima. Ao valor da concentração de S para o qual se atinge metade do valor de velocidade máxima chama-se constante de afinidade da enzima para substrato ( $K_m$ ).

**7) Especificidade enzimática ( $K_{cat}/K_m$ )** – A eficiência catalítica de uma enzima vai depender do balanço entre a afinidade enzimática e o número de troca. Por exemplo se uma enzima apresentar elevada afinidade para substrato A levará mais tempo a converter uma mole de A em produto, em condições saturantes, do que para outro substrato B para o qual possui menor afinidade (o substrato B tem uma estrutura análoga à do estado de transição no complexo EB). Dir-se-á que a especificidade da referida enzima para o substrato B é superior à que manifesta para o substrato A.

**8) Efectores negativos de actividade catalítica** – Os factores negativos de actividade catalítica recebem o nome de inibidores. Consoante a acção que exercem, isto é, conforme forem as formas enzimáticas e os locais onde se ligam, assim as inibições resultantes serão do tipo (i) competitivo (o inibidor liga-se à forma livre da enzima) (ii) incompetitivo (o inibidor liga-se à forma ES) e (iii) não competitivo (o inibidor liga-se às formas E livre e ES). Como consequência ocorrem variações nos valores dos parâmetros enzimáticos  $V_{max}$  e  $K_m$ . Na inibição competitiva aumenta  $K_m$  e  $V_{max}$  mantém-se inalterado. Na inibição incompetitiva variam os valores de  $K_m$  e  $V_{max}$ , e na inibição não competitiva varia  $V_{max}$  e mantém-se constante  $K_m$ .

---

### **7ª Aula – Regulação da actividade enzimática**

**1) Distribuição celular de enzimas** – As enzimas estão localizadas em organitos específicos (lisossomas, peroxisomas); grânulos (de glicogénio), membranas (interna mitocondrial, e plasmática) e no citoplasma. As enzimas



catalisam sequências de reacções bioquímicas de modo isolado ou em complexos enzimáticos ou em sistemas multienzimáticos. Algumas enzimas apesar de catalisarem o mesmo tipo de reacção em células e/ou espaços intracelulares distintos apresentam formas moleculares (isoenzimas) com subunidades de composição desigual e dissemelhantes valores de pontos isoeléctricos. Outras enzimas são sintetizadas e armazenadas em grânulos na forma funcional inactiva (zimogénios) precursores das formas activas. Este processo faculto a acção enzimática apenas quando necessária.

**2) Regulação da actividade enzimática** – A manutenção do normal funcionamento celular (homeostase) resulta de um conjunto de processos de controlo bioquímico. Como exemplo, a regulação da actividade enzimática, expressa por mecanismos rápidos (interconversão de formas enzimáticas, regulação retrógrada, concentração de substrato e alosterismo) e/ou lentos (indução ou repressão de síntese proteica, mutação genética) permite a obtenção da resposta celular (em termos de produto formado) ao estímulo (sinal) extra ou intracelular.

**3) Regulação retrógrada** – Numa sequência reaccional multienzimática, a actividade da enzima que catalisa a reacção inicial pode ser inibida pelas moléculas do produto final, por exemplo quando este é formado em excesso. Se a via sequencial A de reacções enzimáticas apresentar duas ramificações B e C, a partir de um substrato comum (S) (que é o produto da reacção anterior) poderá acontecer que a ramificação B seja preterida. Neste caso o produto final da sequência de reacções da ramificação B terá que inibir a natividade da enzima que catalisa o substrato S.

**4) Alosterismo** – Proteína alostérica é a proteína que adopta estados conformacionais diferentes. No caso das enzimas, se a conformação proteica apresentar fraca afinidade para o substrato diz-se que a proteína está no estado tenso (T), por oposição ao estado relaxado de maior afinidade para as moléculas de substrato. As enzimas alostéricas, além da função catalítica, exibem a função de regulação, sendo constituídas geralmente por várias subunidades (protómeros), que no conjunto formam o oligómero. Os modelos teóricos para explicar o comportamento cinético das enzimas alostéricas baseiam-se nos efeitos cooperativo (modelo sequencial de Koshland, Nemethy e Filmer) e “no efeito de tudo ou nada (modelo conservado). A variação da actividade enzimática de uma enzima alostérica em função da concentração de substrato traduz-se experimentalmente em traçado gráfico do tipo sigmoidal; cooperativo positivo, se a pequenas concentrações de substrato correspondem bruscos aumentos de actividade enzimática; pelo contrário o cooperativismo negativo ocorre quando a actividade enzimática é pouco sensível a variações crescentes de substrato, não se atingindo valores elevados de velocidade de reacção. Também a actividade enzimática das enzimas alostéricas está sujeita à acção de moduladores positivos e negativos.

**5) Interconversão de formas enzimáticas por modulação covalente** – As enzimas com funções reguladoras oscilam entre a forma activa e inactiva, normalmente por fosforilação de uma delas. A chegada de um sinal (estímulo molecular) à superfície celular induz uma “cascata” de alterações funcionais de proteínas amplificadoras do sinal que conduzem à fosforilação desfosforilação da conformação da enzima-alvo. Por exemplo a degradação do glicogénio é iniciada aquando da transformação da forma inactiva (desfosforilada) da fosforilase do glicogénio à forma activa (fosforilada).

---

### **8ª Aula -Bioenergética, nucleótidos, coenzimas**

**1) Termodinâmica e Bioenergética** – A termodinâmica define, através de leis próprias, as transformações e trocas de energia que ocorrem em sistemas fechados (sistemas em que não ocorre trocas de matéria com o exterior). A bioenergética aplica as leis da termodinâmica a transformações e trocas de energia que acontecem nos sistemas vivos (sistemas abertos que crescem às trocas de energia com o exterior as referentes à matéria). Na aplicação das leis da termodinâmica aos sistemas vivos (Bioenergética) consideram-se aproximações (postulados): a célula e o meio envolvente, isto é, o organismo como todo são considerados um sistema fechado (só troca calor com o meios exterior) e admite-se que os processos vitais decorrem em estado estacionário, controlado, regulado e de não equilíbrio (ou de morte celular).

**2) Lei da Termodinâmica** – Pela primeira lei da termodinâmica, a variação da energia do universo (sistema + meio exterior) deverá manter-se constante (transdução ou transformação entre formas de energia). Nos organismos vivos ocorrem transformações de formas de energia: energia química (degradação de glicose) em energia química (adenosina) trifosfato-ATP): energia química (ATP) em energia mecânica (contração muscular). A segunda lei da Termodinâmica determina que a variação de entropia ( $\Delta S$ ; forma de energia associada ao grau de desordem ou ordem) do universo deverá ser positiva, isto é, que o grau total de desordem do universo deverá aumentar. Os processos de desenvolvimento celular e de crescimento dos organismos vivos (sistema) implicam ordenamento molecular do sistema; este deverá ser compensado pela ordem do meio exterior à custa do calor (forma de energia que não produz trabalho) libertado pelo sistema. A variação de calor, se ocorrer a pressão e temperatura constantes no sistema recebe o nome de variação de entalpia. A quantidade de calor libertada pela célula para o exterior, para assegurar a ordem biológica necessita também de entrada contínua de energia (energia guardada nas ligações covalentes dos compostos orgânicos que integram a dieta).

**3) Variação de Energia Livre ou de Gibbs ( $\Delta G$ )** – A variação de energia livre corresponde à variação de energia do sistema que produz trabalho

(por exemplo dos tipos: mecânico, osmótico, transmissão nervosa, transporte). Numa reacção química (sistema a pressão e temperatura constante),  $\Delta G$  é composta por dois factores:  $\Delta G$  (calor ou entalpia libertada ou absorvida aquando da formação ou ruptura das ligações) e  $\Delta S$  (variação do grau de ordem/desordem do sistema). Assim Gibbs relacionou as três funções de estado pela expressão  $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ . Reacções exotérmicas ( $\Delta H < 0$ ) e endotérmicas ( $\Delta H > 0$ ) podem ocorrer espontaneamente ( $\Delta H < 0$ ) se  $\Delta S$  for suficientemente positivo.

**4) Variação de Energia Livre e Constante de Equilíbrio** – A velocidade de uma reacção química depende do valor de energia de activação, mas  $\Delta G$  não se relaciona com a velocidade mas com a constante de equilíbrio ( $K_{eq} = \frac{[produtos]_{eq}}{[reagentes]_{eq}}$ ) da reacção. Na reacção modelo  $A + B = C + D$ ,  $\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$  em que  $\Delta G^0$  representa a variação de energia livre padrão quando na reacção as concentrações de A, B, C e D são 1,0 mol/L; R é a constante dos gases perfeitos e T a temperatura em graus Kelvin. A  $\Delta G^0$  é representada por  $\Delta G^0$ . Quando  $\Delta G = 0$  (estado de equilíbrio)  $\Delta G^0 = -RT \ln K_{eq}$ .

**5) Variação da Energia Livre de Gibbs e Variação do Potencial Eléctrico** – Se a reacção for do tipo oxidação-redução a variação do potencial eléctrico ( $\Delta E$ ) é igual à soma das variações de voltagem (potencial de redução) das reacções parcelares de oxidação e de redução. A interconversão das variações de estado energia livre e potencial eléctrico relacionam-se de acordo com a expressão  $\Delta G = -nF\Delta E$ , em que F é a constante de Faraday e n o número de electrões transferidos. Consoante os valores dos potenciais de redução padrão para vários pares (oxidante/redutor) de compostos químicos constrói-se uma escala de valores. Valores de  $\Delta E$  negativos ou positivos significam que a espécie química cede ou recebe electrões respectivamente.

**6) Variação de Energia Livre de Gibbs e Gradiente de Concentrações** – A transferência de uma substância química entre os espaços intra e extracelular quando efectuada contra um gradiente de concentração necessita de energia ( $\Delta G > 0$ ). A variação de energia livre  $\Delta G$  relaciona-se com o gradiente de concentrações  $c_2 > c_1$  pela expressão  $\Delta G = RT \ln \frac{c_2}{c_1}$ .

**7) Transferência de Energia Bioquímica** – Nos organismos vivos as transferências de energia química (energia bioquímica) dão-se em sistemas acoplados, com um intermediário comum. A variação das energias livres padrões, das reacções acopladas são aditivas (as reacções endergónicas estão associadas a reacções exergónicas). A passagem de um composto de elevado conteúdo energético (elevado valor de energia livre), para outro (s) composto (s) de menor energia livre (formas moleculares estabilizadas por ressonância e com cargas eléctricas que se repelem) origina variação de energia livre capaz de produzir trabalho, ou de ser utilizada na formação de novos com-

postos (reação de síntese). Pode-se estabelecer uma escala de valores de  $\Delta G$  padrão para os vários compostos orgânicos que participam em processos de transferência de energia.

**8) Nucleótidos trifosfato** – A ligação N-glicosídica de uma base de purina (adenina, guanina) ou pirimidina (timina, citosina, uracilo) a uma pentose, que por sua vez está ligada por ligação éster a um fósforo, origina um nucleótido monofosfato. A adição de um ou dois fosfatos (ligações anidrido) ou nucleótido monofosfato origina um nucleótido trifosfato (adenosina, guanosina, citosina e uridina todos trifosfato – APT, GTP, CTP, UTP). Os nucleótidos trifosfato além de participarem em transferências (I) de energia livre padrão intervindo na síntese proteica (GTP) Lipídica (CTP), Glicídica (UTP) e (ii) de grupos fosforilo e acilo, comportam-se como coenzimas. O nucleótido cíclico monofosfato de adenosina (AMPc) funciona como “mensageiro” intracelular dum “sinal” (substância química) que chega à superfície celular e interaccua com o receptor (proteína de ligação) após alguns processos (que se estudarão adiante) interactivos sinal/receptor é activada a enzima adenilato-ciclase que transforma o ATP em AMPc. Os nucleótidos mono, di, e trifosfato (AMP), ADP e ATP são interconvertíveis na presença da adenilato cinase ( $ATP + AMP = 2 ADP$ ).

**9) Coenzimas** – A adenosina (nucleósido = adenina + fosfato) entra na constituição de coenzimas com função de transferência de (I) electrões e prótons (nicotinamida adenina dinucleótido NAD/NADH); (ii) electrões e prótons (flavina adenina dinucleótido FAD/FADH) e (iii) de grupos acilos (coenzima A). Na composição química das coenzimas (formas activas de vitaminas hidrossolúveis) NAD, FAD e coenzima A entram, respectivamente, as vitaminas ácidas nicotínicas, isoaloxazina e ácido pantoténico.

---

### **9ª Aula - Membranas celular e transporte em membranas celulares**

**1) Membranas celulares** – As membranas celulares são agregados supramoleculares (associações plurimoleculares) de proteínas, lípidos e glícidos que contribuem para a integridade da célula e manutenção das respectivas funções fisiológicas (permeabilidade, forma, deformabilidade, resistência mecânica, catálise, transporte, comunicação, transdução de energia, imunológicas e reconhecimento celular).

**2) Composição química e estrutura de membrana** – A proporção relativa dos teores em lípidos, proteínas e/ou glícidos varia consoante os tipos de célula e de organito (organito) intracelular. Por exemplo a concentração proteica da membrana interna mitocondrial é cerca de quatro vezes superior à existente na mielina. A concentração de colesterol também varia desde inexistente na membrana intramitocondrial até à relação de 0,7 com os fosfolípidos nas membranas plasmáticas. O modelo de “mosaico fluido” proposto à

duas décadas por Singer e Nicholson descreve a estrutura membranar (disposição tridimensional das macromoléculas constituintes). Sumariamente e segundo os autores do modelo, os fosfolípidos dispõem-se em dupla camada, originando como que um “mar lipídico”, no qual se dispersam proteínas e colesterol. Os resíduos glicídicos (glicocálice) das glicoproteínas e dos glicolípidos estão orientados para o espaço extracelular. Os aminofosfolípidos (fosfatidilserina, PS e fosfatidiletanolamina, PE) e os fosfoinosítois (PI) dispõem-se na subcamada interna; a fosfatidilcolina (PC) e a esfingomiélin (SM) localizam-se predominantemente na subcamada externa membranar. Em ambas as subcamadas inserem-se as moléculas de colesterol. Os valores da razão colesterol/fosfolípidos e das diferentes classes de fosfolípidos variam com (i) o tipo de membrana celular, (ii) dentro do mesmo tecido com a espécie animal e (iii) podem ser índices de normalidade celular. Nesta barreira lipídica semi-permeável inserem-se proteínas que, quando classificadas quanto à topografia, se subdividem em extrínsecas (anfitrópicas e/ou constituintes do citoesqueleto) e intrínsecas (cuja remoção exige desagregação molecular da dupla camada).

**3) Proteínas intrínsecas** – As proteínas intrínsecas podem atravessar a membrana de lado a lado, ou localizarem-se numa das subcamadas da membrana. Algumas proteínas monoméricas apresentam vários segmentos em  $\alpha$  hélice, que percorrem a membrana de lado a lado, tantas vezes quantas o número de  $\alpha$  hélice. As proteínas oligoméricas associam os seus monómeros de modo a constituírem canais de passagem a substâncias hidrofílicas e/ou iões.

**4) Proteínas anfitrópicas** – As proteínas anfitrópicas localizam-se preferencialmente no citoplasma, mas estabelecem ligações momentâneas com outras proteínas extrínsecas e/ou intrínsecas e/ou com os fosfolípidos da dupla camada, após chegada à célula de um “sinal”.

**5) Citoesqueleto** – Citoesqueleto é o conjunto de proteínas extrínsecas à subcamada interna, que participam nos seguintes processos celulares: deslocamento, movimento, manutenção de forma, migração e fixação dos organelos, contracção muscular e crescimento. As proteínas constituintes do citoesqueleto subdividem-se em microtúbulos (polímeros da proteína globular tubulina; microfilamento (polímero de proteína globular actina); filamentos intermediários (polímeros diferentes de monómeros de estrutura alongada); e filamentos de miosina (filamentos finos de polímeros de proteína alongada miosina).

**6) Glicocálice** – Os glicolípidos e glicoproteínas da membrana no conjunto formam o glicocálice que participa em processos de reconhecimento, intercomunicação e agregação celulares.

**7) Mobilidade lipídica/Fluidez lipídica** – As proteínas das membranas apresentam movimentos no plano das subcamadas (difusão lateral) e de rotação à volta do eixo molecular. Os movimentos lipídicos incluem a difusão lateral, translocação de uma subcamada para outra (flip-flop) e rotação horizontal e vertical. A mobilidade lipídica é função do grau de ordenamento das moléculas de fosfolípidos o qual depende do comprimento e do número de duplas ligações dos ácidos gordos. Um estado de gel corresponde a um elevado grau de ordenamento molecular ao contrário do estado líquido cristalino que traduz maior desordem e maior liberdade de movimentos dos fosfolípidos. Ao grau de mobilidade lipídica chama-se fluidez lipídica (inverso da microviscosidade) que para além dos factores apontados (grau de insaturação e comprimento da cadeia alifática dos ácidos gordos) depende (i) da razão dos valores de concentração colesterol/fosfolípido, e fosfolípido proteína e (ii) do grau de peroxidação lipídica e do da metilação proteica.

**8) Transporte Celular** – As membranas celulares condicionam a passagem de iões e moléculas entre os meios intra e extracelulares, de modo dependente ou não de energia química e/ou de gradiente electroquímico. Os vários tipos de processos de transporte resultam da selectiva permeabilidade membranar, na dependência da composição química e estrutural dos constituintes macromoleculares.

**9) Difusão passiva e facilitada** – A difusão passiva e a difusão facilitada são processos de transporte membranar que ocorrem a favor de um gradiente de concentrações que se estabelece entre os espaços intra e extracelulares. A difusão facilitada decorre na presença de uma proteína transmembranar monomérica ou oligomérica cuja topografia origina a formação de canais pelos quais passam substâncias polares e/ou iões. A variação conformacional proteica facilita o transporte de um para outro compartimento de uma ou pares de espécies químicas distintas. Por exemplo, se o transporte se efectua na mesma direcção para as substâncias A e B diz-se que se trata de um co-transporte. Ao contrário, se há influxo de A e efluxo de B mediado pela mesma proteína de transporte, trata-se de contra-transporte. A variação da velocidade de difusão facilitada em função da concentração da espécie a ser transportada, segue experimentalmente uma curva hiperbólica.

**10) Transporte Activo** – O transporte activo de iões ou moléculas necessita de estar acoplado a formas de energia (na forma de ATP, luz, gradiente iónico, potencial de membrana). Exemplos de transdução de energia conformacional em energia química e conseqüente transporte de iões contra os respectivos gradientes de concentração, são a bomba de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e a bomba de cálcio. Ambas as proteínas apresentam domínios com actividade ATPásica e permitem respectivamente o fluxo de  $3 \text{Na}^+$  e o influxo de  $2\text{K}^+$  por mole de ATP (bomba de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) e o influxo de  $2\text{Ca}^{2+}$ /mole ATP (bomba de cálcio no retículo endoplásmico da célula do músculo estriado). Outro

tipo de transporte activo (tipo secundário) é o que está dependente do gradiente iónico. Por exemplo, a entrada de glicose do lúmen intestinal para o citoplasma da célula epitelial, através da membrana apical, é acoplada ao influxo (a favor do gradiente de concentração) dos iões  $\text{Na}^+$ , mediado por uma proteína.

**11) Receptores/Endocitose** – Receptores são proteínas cuja localização à superfície das membranas celulares facilita a ligação a ligandos (hormonas, lipoproteínas e outros compostos orgânicos). Após a formação do complexo receptor-ligando, ocorre uma sequência de variações de conformações proteicas, que origina a formação e/ou activação de substâncias actuantes no citoplasma (mensageiros intracelulares). Alguns receptores são internalizados por um processo vesicular, com posterior destruição ou inserção “de novo” na membrana. Após ligação entre o receptor (R) membranar e as lipoproteínas LDL inicia-se a endocitose (internalização de vesículas); há formação de uma vesícula com constituintes membranares que contém o receptor R e as LDL e que está revestida (“coated pit”) por uma proteína (clatrina). A vesícula endocítica no citoplasma inicia uma sequência de transformações: perda da clatrina; fusão com outra vesícula do tipo “desacoplador” que permite a saída dos receptores e reinserção destes na membrana; fusão com lisossomas e separação (degradação) dos constituintes moleculares das LDL (colesterol, ácidos gordos e ácidos aminados). A exocitose é um processo inverso da endocitose, em que as subcamadas da membrana vesicular estão invertidas em relação às das vesículas endocíticas.

**12) Pinocitose** – A pinocitose é um processo de endocitose não selectivo, isto é, há vesiculação com internalização apenas do ligando (mas não do receptor).

**13) Fagocitose** – Fagocitose é o processo de entrada de substâncias por “engolfamento” da membrana plasmática, cuja orientação topográfica das subcamadas vesicular é semelhante às das vesículas exocíticas.

**14) Junção Intercelular** – As junções intercelulares são zonas de oclusão (constituídas por proteínas membranares) que se estabelecem entre o mesmo tipo de células, impedindo a comunicação celular e a passagem de moléculas e/ou iões.

**15) Intercomunicação celular, “gap junctions”** – As “gap junctions” são canais moleculares formados por proteínas oligoméricas transmembranares localizadas em duas células adjacentes. Este complexo supramolecular facilita a passagem rápida de substâncias entre duas células.

---

### **10ª Aula -Introdução ao metabolismo**

**1) Ciclos de carbono, oxigênio e azoto** – Os organismos vivos podem ser subdivididos, quanto à natureza do carbono que consomem do meio, em **autotróficos** (usam o dióxido de carbono atmosférico como fonte única de carbono) e **heterotróficos** (utilizam moléculas orgânicas para obterem carbono). Ambas as classes de organismos podem requerer oxigênio molecular para a oxidação dos nutrientes orgânicos (aerobiose), podem viver sem oxigênio (anaerobiose), ou, em determinadas circunstâncias funcionam em aerobiose e noutras em anaerobiose (organismos facultativos), ou exclusivamente em anaerobiose (anaeróbios restritos). Grande parte dos heterotróficos e, em particular, os organismos superiores, são facultativos, embora utilizando preferencialmente o mecanismo aeróbio. O azoto é indispensável para a síntese dos ácidos aminados, e das bases púricas e pirimídicas. Os ciclos de carbono, oxigênio e azoto tendem a renovar-se continuamente.

**2) Fluxo energético células-meio** – Os autotróficos e os heterotróficos coexistem na biosfera, interdependente em termos de matéria e energia. Os autotróficos utilizam CO<sub>2</sub> para formar biomoléculas e gerar oxigênio, consumidos pelos heterotróficos, que libertam H<sub>2</sub>O e CO<sub>2</sub> para o meio. Grande parte dos autotróficos têm fotossíntese, obtendo a energia que precisam da luz solar, enquanto os heterotróficos a obtêm por oxidação das moléculas orgânicas. Nestas transferências, há energia não aproveitada (aumentando a energia do meio), enquanto uma pequena parte é utilizada para produzir trabalho (energia livre). O fluxo de energia é unidireccional e sem possibilidade de recuperação, devido à constante dissipação (aumenta a entropia do universo).

**3) Metabolismo, catabolismo e anabolismo** – Entende-se por **metabolismo** (num sentido lato) o conjunto de todas as reacções químicas (e físicas) que ocorrem nos organismos vivos e são essenciais para a vida. Através dessas reacções, os organismos, utilizam nutrientes do meio para os incorporar na própria estrutura ou para deles obterem energia química, por oxidação. Os processos de degradação metabólica constituem o **catabolismo**, enquanto os da síntese representam o **anabolismo**. Os constituintes celulares estão sujeitos continuamente a alterações catabólicas e anabólicas, pelas quais decorre a respectiva renovação estrutural (“turnover”). As vias catabólicas e anabólicas diferem entre si em algumas etapas enzimáticas, que se localizam com frequência em compartimentos intracelulares distintos, e têm regulação independente. O catabolismo é um processo globalmente exergónico, sendo o anabolismo endergónico. A decomposição catabólica das moléculas orgânicas decorre com conservação de parte da energia dos nutrientes, sob a forma de energia química (ATP). O ATP das reacções catabólicas representa uma forma de transporte de energia química entre os principais centros produtores (reacções catabólicas) e as etapas endergónicas, que representam o trabalho celular (além das biossínteses, também a contractilidade e o trans-



porte activo utilizam a energia química gerada no catabolismo). Adicionalmente, existe outra forma de energia química (poder redutor, NADPH) que flui do catabolismo para as etapas anabólicas requerentes.

**4) Organização geral do sistema metabólico** – O metabolismo é um processo aberto que assegura trocas constantes de energia e matéria entre as células e o meio. Decorre **em sequências de etapas catalisadas por enzimas** com especificidade variável, de que resulta a formação de umas substâncias a partir de outras. As substâncias consumidas e as produzidas pelo metabolismo são designadas genericamente por **metabolitos**. O anabolismo e o catabolismo são assegurados por sequências com **regulação independente**, embora partilhando etapas comuns reversíveis, a par de outras irreversíveis. Determinadas vias têm funções anabólicas e catabólicas, designando-se **anfibólicas**. Cada sequência metabólica tende para um equilíbrio que, em vida, nunca é conseguido. A velocidade da conversão do substrato inicial no produto final de cada via é condicionada pela etapa mais lenta. O produto final tende a regular a sua própria síntese, influenciando a actividade enzimática da(s) etapa(s) reguladora(s). Determinados conjuntos de reacções catabólicas formam **ciclos metabólicos**, possibilitando a regeneração (como produto) de um substrato inicial. Os ciclos também podem ser anabólicos, catabólicos ou anfibólicos.

**5) Mecanismos gerais da regulação** -A organização própria dos seres vivos e a conservação da vida sob condições adequadas depende de sistemas de controlo, baseados na transferência de informação. O tipo de sinal utilizado e o processo em que decorre a transferência da informação determinam quatro tipos principais de **mecanismos reguladores do metabolismo**: dos quatro, dois são intercelulares – neural (nervoso) e hormonais – sendo os outros dois intracelulares – expressão genética e modulação enzimática. A modulação enzimática é exercida por mecanismos positivos ou negativos que actuam em etapas reguladoras de cada sequência metabólica, através de alterações da concentração ou da actividade das respectivas enzimas. A concentração enzimática pode ser modificada a nível da síntese (indução ou repressão da expressão genética) ou da degradação das moléculas pré-existentes (por proteases específicas). É um processo relativamente lento e pouco selectivo. A actividade enzimática pode ser inibida ou estimulada por dois mecanismos gerais: alteração covalente (modificação química) ou não-covalente (modificação alostérica). A activação dos zimogénios, por proteólise limitada, constitui outro processo de activação enzimática. Em qualquer dos casos, a modulação da actividade enzimática (em geral pelo produto final) é um processo rápido e preciso. Outros intervenientes gerais da regulação intracelular são as membranas (que condicionam as trocas de matéria entre compartimentos distintos) e a formação de compartimentos (que originam gradientes de concentração e de pH adequados às actividades do meio).

---

### **11ª e 12ª Aulas – Glicólise**

**1. Utilidade metabólica da glicose.** Origens (exógena e endógena) da glicose. Breve revisão da absorção intestinal (conversão do amido em glicose por glicosidases dos enterocitos). Importância da absorção da glicose, relativamente a outros monossacáridos da dieta (p.ex., galactose e frutose). Transporte da glicose através das membranas celulares. A glicose como nutriente universal. Tipos celulares que dependem da glicose em exclusivo (p.ex., eritrócitos), substancialmente (p.ex., leucócitos, células nervosas) ou em segundo plano (p.ex., hepatócito), como fonte energética.

**2. Definição da glicólise.** Localização (no citosol), significado funcional (preparação metabólica, emergência energética ou via exclusiva) e objectivos (conversão da glicose em lactato ou piruvato, e obtenção de ATP). A glicólise em anaerobiose (fermentação láctica, ou via de Embden-Meyerhof), com transformação de cada molécula de glicose em duas moléculas de lactato; glicólise em aerobiose, de que resultam duas moléculas de piruvato por cada molécula de glicose degradada. Comparação da fermentação láctica com outros tipos (p.ex., fermentação alcoólica, em que se forma etanol).

**3. Caracterização da sequência glicolítica completa.** Identificação das três fases principais da sequência: preparação, em que a glicose é transformada em frutose 1,6-bisfosfato; clivagem deste metabolito em duas trioses-fosfato (gliceraldeído 3-fosfato e diidroxiacetona-fosfato); fase da oxidação-redução, com transformação do gliceraldeído 3-fosfato em lactato. Etapas reversíveis e irreversíveis (reguladoras). Etapas de utilização (na formação da glicose 6-fosfato e da frutose 1,6-bisfosfato) e síntese do ATP (na formação do 3-fosfoglicerato e do piruvato). Etapas da fosforilação associada ao substrato (na transformação do gliceraldeído 3-fosfato em 3-fosfoglicerato; na transformação do fosfoenolpiruvato em piruvato). A reoxidação do NADH na etapa da conversão do piruvato em lactato, assegura a continuidade da glicólise em anaerobiose.

**4. Alternativas metabólicas.** Opções metabólicas da diidroxiacetona -fosfato (com participação indirecta na síntese dos triglicéridos e/ou na transferência de equivalentes redutores para a mitocôndria, em aerobiose). Opções metabólicas do 1,3-bisfosfoglicerato: formação directa do 3-fosfoglicerato (e síntese do ATP) ou transformação em 2,3-bisfosfoglicerato (com importante acção moduladora da afinidade da hemoglobina para o oxigénio nos eritrócitos).

**5. Regulação da glicólise.** Enzimas reguladoras da sequência: hexocinase, fosfofrutocinase (a mais importante) e, piruvato-cinase. Particularidades da glicocinase, (uma isoenzima da hexocinase).

---

### **14ª e 15ª Aulas -Respiração celular**

**1. Mitocôndria** – Estrutura e actividades relevantes. A mitocôndria, compartimento funcional indispensável ao metabolismo aeróbio. Variação de número e forma mitocondriais respectivamente dependentes da capacidade metabólica aeróbia e do tipo celular. Membranas mitocondriais (externa e interna): diferenças de composição e funcionais. A selectividade da membrana interna quando à transferência de metabolitos, iões e nucleótidos entre a matriz e o espaço exterior.

**2. Reacções de oxidação-redução e variação energética** – Equação de Nerst e potencial de oxidação-redução. Variação da energia livre padrão, em função daquele potencial.

**3. Sistemas de transporte de electrões** – Transferência de electrões do citosol ou mitocôndria para o oxigénio. Conceito de oxidação-redução. Pares redox: oxidante (aceitador de electrões) – redutor (dador de electrões), oxidado-reduzido. Transferência simultânea de protões e electrões (átomos de hidrogénio) ou de electrões isolados.

**4. Cadeia de transporte de electrões** – Componentes proteicos: desidrogenases NAD-dependentes, desidrogenases flavínicas (FAD, FMN), proteínas ferro-enxôfre, citocromos (a, b, c). Componente lipofílico: coenzima Q. Organização sequencial. Inibição do transporte de electrões.

**5. Fosforilação oxidativa** – Associação com o transporte de electrões, estados respiratórios mitocondriais (estado 3 e estado 4), controlo respiratório; F1-F0-ATPase e fluxo de protões, teoria químio-osmótica. Dissociação e inibição da fosforilação oxidativa.

**6. Derivados do oxigénio** – Formas reactivas do oxigénio (radicais livres), anião superóxido e radical hidroperóxido. Peróxido de hidrogénio. Enzimas protectoras: superóxido dismutase, catalase, peroxidase.

**7. Sistemas de transferência e translocases** – Sistemas de transporte ou translocases (de monocarboxilatos, dicarboxilatos, tricarboxilatos, fosfato, nucleótidos adenílicos, aspartato-glutamato, malato- $\gamma$  cetogluturato). Sistemas de transferência de equivalentes redutores (STERS) (malato-aspartato e  $\alpha$ -glicerol -fosfato); importância das enzimas glutamato-oxaloacetato amino-transferase, malato-desidrogenase e  $\alpha$ -glicerol-fosfato desidrogenase (NAD ou FAD dependentes). Sistema de transporte do cálcio para a mitocôndria.

---

## **16ª Aula - Interconversão dos monossacáridos e glicogenólise**

### **I – Vias de interconversão dos monossacáridos**

Grande parte dos monossacáridos, presentes no meio celular, deriva da glicose. As interconversões implícitas têm objectivos energéticos e/ou visam a obtenção de compostos com número variável de carbonos para biossínteses específicas.

**1. Via das fosfopentoses (ou via das hexoses-monofosfato, via oxidativa do fosfogliconato ou via das pentoses)** – Ocorrência no citosol. Objectivos metabólicos principais: obtenção de poder redutor (NADPH), açúcares com 3 a 7 carbonos, aproveitamento energético. Duas fases: oxidativa – formação da ribose 5-fosfato e NADPH; não-oxidativa – interconversão de oses. Controlo metabólico da via pelo NADP (na fase oxidativa) e pela concentração de substratos (na fase não-oxidativa). Utilidade metabólica do NADPH (biossínteses redutoras) e de ribose 5-fosfato (síntese de nucleótidos e ácidos nucleicos). Variação do fluxo metabólico na via das fosfopentoses na dependência das necessidades em NADPH, ribose 5-fosfato e ATP.

**2. Interconversão das principais hexoses** – Importância das reacções de fosforilação e isomerização (particularmente nos hepatocitos) na interconversão da manose e da frutose em intermediários glicolíticos: (a) Formação da manose 6-fosfato (pela hexocinase) e transformação em frutose 6-fosfato (pela fosfomanose-isomerase); (b) Formação de frutose 1-fosfato (frutocinase), clivagem em Dihidroxiacetona-fosfato e gliceraldeído (F1-P-aldolase) a transformação desta triose em gliceraldeído 3-fosfato (triose-cinase) ou glicerol 3-fosfato (glicerol desidrogenase + glicerolcinase), com oxidação em dihidroxiacetona fosfato pela glicerolfosfato-desidrogenase). A oxidação de derivados da frutose em lactato pode ser designada frutólise. Formação da frutose a partir da glicose através da via do sorbitol (glicose → sorbitol → frutose). Em alternativa (células adiposas), fosforilação da frutose em frutose 6-fosfato (hexocinase), com aproveitamento idêntico ao da glicose. Importância de intermediários nucleótido-açúcares e da epimerização na interconversão galactose-glicose. Fosforilação da galactose em galactose 1-fosfato (galactocinase, formação da UDP-galactose (galactose-1-fosfato-uridil-transferase) e conversão em UDP-glicose (pela UDP-glicose-epimerase, com formação de glicogénio) ou libertação da glicose-1-fosfato (com transformação em glicose 6-fosfato e subsequente aproveitamento metabólico).

### **II – Glicogenólise**

A glicogenólise é um processo catabólico de formação de moléculas de glicose 6-fosfato a partir do polissacárido de glicose, o glicogénio. Nas células em que existe a enzima glicose 6 fosfatase (por exemplo, hepatocito,

célula epitelial intestinal) o produto final da glicogenólise é a glicose. Pelo contrário, nas células musculares (dos músculos vermelhos e/ou brancos) onde a glicose 6-fosfatase não existe a glicose 6-fosfato é substrato gerador dos produtos finais ATP, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O (músculo vermelho) ou de lactato (músculo branco).

**1. Etapas da glicogenólise** – Na primeira etapa da glicogenólise obtêm-se moléculas de glicose 1-fosfato pela acção sucessiva das enzimas glicogénio fosforilase, transferase e  $\alpha$  1,6-glicosidade, na molécula de glicogénio. Assim à fosforólise segue-se a desramificação. Na segunda etapa ocorre a transformação de glicose 1-fosfato em glicose 6-fosfato pela acção da fosfoglicomutase. A glicogénio – fosforilase é uma enzima reguladora da glicogenólise que apresenta comportamento cinético alostérico com estados conformacionais distintos, ambos regulados por modulação covalente (fosforilação/desfosforilação dos resíduos de serina). No centro activo apresenta o fosfato de piridoxal (forma activa da vitamina B6) como grupo prostético. A forma activa da enzima é a forma fosforilada (fosforilase a) e o estado desfosforilado é a forma inactiva (fosforilase b). A passagem da fosforilase b à fosforilase a faz-se na presença de glicogénio – fosforilase cinase e ATP, enquanto a transformação inversa ocorre na presença de glicogénio fosforilase fosfatase.

**2. Glicogenoses** – A glicogenoses ou “doenças de depósitos do glicogénio” traduz deficiências hereditárias (recessivas) de algumas enzimas da glicogenólise e suas variantes. Também se englobam as deficiências da glicose 6-fosfatase e da  $\alpha$  1,4-glicosidade presente nos lisossomas.

---

### **17ª Aula -Regulação geral do catabolismo dos monossacáridos \***

**Regulação da glicólise** – Principais etapas reguladoras e enzimas intervenientes: hexocinase, fosfofrutocinase e piruvato-cinase. Destaque para a fosfofrutocinase; principais inibidores (ATP, H<sup>+</sup>, citrato) e activadores (AMP). Alternativa à hexocinase: acção da glicocinase (nos hepatocitos). A glicose 6-fosfato como inibidor da hexocinase. Piruvato-cinase e isoenzimas: (L, M e A): inibidores (ATP, alanina) e activadores (F1,6-P) da piruvato-cinase.

**Regulação da via das fosfopentoses** – Acção reguladora da NADP.

**Regulação do complexo da desidrogenase pirúvica** – Inibição pelos produtos de oxidação do piruvato (acetil-CoA e NADH) e activação por coenzimas (CoA e NAD<sup>+</sup>), regulação retrógrada por nucleótidos (inibição pelo GTP e activação pelo AMP), e regulação por fosforilação reversível inactivação por fosforilação por cinase específica (estimulada por razão elevada de ATP/ADP, acetil CoA, NADH/NAD; inibição pelo piruvato). Activação por desfosforilação por fosfatase (activada pelo Ca<sup>2+</sup>).

**Regulação do ciclo de Krebs** – Principais enzimas reguladoras: citrato-sintase (inibidor: ATP), isocitrato desidrogenase (activadores: ADP; inibidor: NADH, ATP) e  $\alpha$ -cetoglutarato-desidrogenase (inibidores: succinil CoA, NADH, ATP; activadores:  $\text{Ca}^{2+}$ ).

EFEITO PASTEUR – Inibição da glicólise (ao nível da fosfofrutocinase) pela respiração celular, (por intermédio do ATP e citrato).

\* A participação das hormonas no controlo metabólico será desenvolvida posteriormente, a propósito da “Integração metabólica”.

---

### **18ª Aula – Catabolismo lipídico**

**1 – Funções e estruturas genéricas dos lípidos** – Nutrientes (triglicéridos, ácidos gordos), constituintes estruturais (fosfolípidos, glicolípidos), hormonas (esteroides, eicosanoides) ou mensageiros de acção hormonal (fosfolípidos e derivados). Revisão da estrutura dos ácidos gordos saturados e insaturados; numeração dos átomos de carbono, com destaque para o carbono  $\beta$  (beta) e carbono  $\Omega$  (ómega); ácidos gordos  $3\Omega$ ; posição das ligações duplas e configuração (cis e trans); ácidos gordos com número par e ímpar de carbonos. Importância da extensão da cadeia e grau de saturação nas propriedades dos ácidos gordos e lípidos: fluidez e ponto de fusão.

**2 – Hidrólise dos triglicéridos (lipólise)** – Composição dos triglicéridos, formação de reservas lipídicas; células adiposas (ou adipocitos); vantagens energéticas das características não-polares dos triglicéridos. Hidrólise dos triglicéridos por lipases hormono-dependentes em ácidos gordos e glicerol. Aproveitamento metabólico do glicerol (fosforilação por glicerol-cinase em glicerol 3-fosfato) com transformação directa ou indirecta (após a transferência de átomos de hidrogénio para a cadeia respiratória) em diidroxiaçetonafosfato (e subsequente aproveitamento pela glicólise/gliconeogénese).

**3 – Catabolismo dos ácidos gordos** – Três fases: 1ª activação dos AG (ligação tioéster com a coenzima A) por acil-CoA sintetases (ou tiocinases) com recuperação de um grupo pirofosfato; 2ª transporte (pela carnitina ou directa) das moléculas de acil-CoA do citosol, para a mitocôndria (intervenção de duas enzimas afins – carnitina-acil-transferase I e carnitina-acil-transferase II, e de uma translocase); 3ª:  $\beta$ -oxidação dos acil-CoA (com remoção de uma molécula de acetil-CoA, NADH e FADH por cada ciclo enzimático), através de 4 etapas sucessivas por ciclo oxidativo: duas de oxidação (catalisadas por desidrogenases NAD e FAD dependentes), uma da hidratação (por hidrolase) e uma tiólise (por tiolase). Vantagens energéticas da oxidação dos ácidos gordos. Problemas específicos da oxidação dos ácidos insaturados (duas enzimas adicionais: isomerase e epimerase). O propionil-CoA como co-produto final da oxidação de ácidos gordos com número ímpar de carbonos.

**4 – Cetogénese** – Formação dos corpos cetónicos (nas mitocôndrias dos hepatocitos): acetoacetato,  $\beta$ -hidroxibutirato e acetona (como produto da descarboxilação espontânea do acetoacetato). Formação do acetoacetato em três etapas a partir de três moléculas de acetil CoA: intermediários: acetoacetil-CoA e 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA); enzimas: (3-ceto) tiolase; HMG-CoA sintase, HMG-CoA-liase. Formação de  $\beta$ -hidroxibutirato por redução (desidrogenase NAD dependente) do acetoacetato.

**5 – Utilidade metabólica dos corpos cetónicos** – Consumo de acetoacetato e  $\beta$ -hidroxibutirato nos tecidos extra-hepáticos (sobretudo músculo e córtex renal), como material energético (e forma de transporte de grupos acetilo): oxidação da  $\beta$ -hidroxibutirato em acetoacetato; activação do acetoacetato em acetoacetil-CoA (CoA transferase, a partir do succinil-CoA), e subsequente clivagem (por tiolase) em duas moléculas de acetil-CoA. O acetoacetato é também regulador negativo da lipólise nos adipocitos. Em excesso, os corpos cetónicos acidificam o meio celular com prejuízo marcado das suas funções, sendo causa de uma situação designada **acidose cetónica** (frequente nos doentes com diabetes descompensada).

---

### **19ª e 20ª Aulas – Catabolismo proteico**

**Proteólise intestinal e distribuição corporal dos aminoácidos** – Proteases e activação proteolítica de zimogénios ou pro-enzimas. Exemplos de enzimas digestivas do estômago (pepsinogénio  $\rightarrow$  pepsina), do pâncreas (quimotripsinogénio  $\rightarrow$  quimotripsina), tripsinogénio  $\rightarrow$  tripsina, procarboxipeptidase  $\rightarrow$  carboxipeptidase, proelastase  $\rightarrow$  elastase) e do intestino delgado (aminopeptidase). Reserva corporal dos aminoácidos. Origens (alimentação, degradação proteica, aminação de cetocidos) e destinos (biossíntese proteica, derivados não-proteicos, oxidação metabólica do esqueleto carbonado, regeneração da glicose).

**Degradação e intertransformação dos ácidos aminados** – Formação da ureia a partir do grupo amina; aproveitamento do esqueleto carbonado em intermediários metabólicos (acetil-CoA, acetoacetil-CoA, piruvato, intermediários do ciclo do ácido cítrico), com potencial formação de ácidos gordos, corpos cetónicos ou glicose. Acção das aminotransferases (ou transaminases) e desaminases na transferência dos grupos  $\alpha$ -aminados e subsequente conversão em iões amónio ( $\text{NH}_4^+$ ). Interconversão (reversível) dos aminoácidos em cetocidos pelos aminotransferases, intervenção do fosfato de piridoxal (como grupo prostético das aminotransferases). Importância do par  $\alpha$ -cetoglutarato-glutamato. Remoção do grupo amina do glutamato pela glutamato-desidrogenase ( $\text{NAD}^+$  ou  $\text{NADP}^+$  dependente). Regulação alostérica da glutamato-desidrogenase (inibidores: GTP, ATP; activadores; GDP, ADP). Desaminação directa de alguns aminoácidos (serina e treonina) em

$\text{NH}_4^+$ , por desidratases específicas (com fosfato de piridoxal). Desaminação por aminoácido-oxidases (D e L), FAD ou FMN dependentes.

**Formação e transporte de amoníaco** – Formação nos hepatocitos (por desaminação oxidativa pela desidrogenase glutâmica e amino-oxidases) ou extra-hepática, e transporte para os hepatocitos (como glutamina ou alanina); formação de glutamina (do glutamato, por sintetase) e desaminação em glutamato (pela glutaminase); o amoníaco derivado da alanina, e ciclo da glicose-alanina.

**Ciclo da ureia e ureogénese** – A síntese (nos hepatocitos) da ureia, a partir do amoníaco (ou a respectiva forma protonada, o ião amónio) e outro grupo aminado adicional (do aspartato). Síntese do carbamoilfosfato pela sintetase específica, incorporando o primeiro grupo aminado. O carbamoil fosfato e a ornitina como iniciadores do ciclo, formando citrulina, na presença de ornitina-transcarbamoilase. Condensação da citrulina com o aspartato em arginosuccinato, por uma sintetase específica, e clivagem (pela argininosuccinase) em arginina e fumarato. Hidrolase da arginina (pela arginase) em ornitina e ureia. Características endergónicas do ciclo da ureia. Interrelação dos ciclos do ácido cítrico e da ureia (através de arginina-succinato  $\rightarrow$  fumarato e oxaloacetato  $\rightarrow$  aspartato).

**Hiperamoniemia** – Inconvenientes da acumulação do ião amónio nas células e em circulação (hiperamoniémia). A ausência congénita (parcial ou total) das enzimas do ciclo da ureia é causa de morte ou de atraso grave do desenvolvimento corporal e mental. A acumulação de  $\text{NH}_4^+$  no tecido nervoso, aumenta a utilização do  $\beta$ -cetoglutarato para a formação do glutamato pela desidrogenase glutâmica, e conversão deste em glutamina (por sintetase específica).

---

## **21ª Aula -Biossíntese dos hidratos de carbono, gliconeogénese**

**1. Estratégia de aproveitamento metabólico do esqueleto carbonado dos aminoácidos** – Gliconeogénese ou oxidação pelo ciclo de Krebs. Aminoácidos cetogénicos (puros e mistos) e glicogénicos.

**2. Gliconeogénese (ou neoglicogénese)** – Via metabólica de formação da glicose a partir de precursores não-glicídicos (ex: lactato, piruvato, glicerol propionil-CoA, intermediários do ciclo de Krebs). Características endergónicas da via. Comparação com a via glicolítica; etapas irreversíveis que diferenciam as duas vias: transformação do piruvato em fosfoenolpiruvato (requer formação do oxaloacetato como intermediário e duas enzimas próprias: piruvato-carboxilase e fosfoenolpiruvato-carboxicinase); transformação da frutose 1,6-bisfosfato em frutose 6-fosfato (pela frutose 1,6-bisfosfatase); desfosforilação da glicose 6-fosfato (pela glicose 6-fosfatase). Distribuição da via entre mitocôndria e citosol.



**(a) Caracterização da piruvato-carboxilase** – Propriedades covalentes e reguladores. Utilidade metabólica da biotina, no transporte de CO<sub>2</sub> (ião carbonato), como grupo prostético da enzima (biotina-enzima → biotina-enzima-CO<sub>2</sub>). Dependência (ativação) da enzima pelo acetil-CoA (ou outra molécula acil-CoA) nas mitocôndrias. Destino do oxaloacetato resultante (oxidação pelo ciclo de Krebs ou transformação em Fosfoenolpiruvato).

**(b) Formação do fosfoenolpiruvato** – Disponibilização do oxaloacetato no citosol (a partir do malato proveniente das mitocôndrias) e descarboxilação pela fosfoenolpiruvato-carboxicinase quando a sequência tem início no piruvato ou intermediário do ciclo de Krebs. O malato funciona como transporte de equivalentes redutores (NADH) da mitocôndria para o citosol, assegurando a transformação de 1,3-bisfosfoglicerato em gliceraldeído 3-fosfato. Sendo o lactato o precursor da glicose “de novo”, o NADH para aquela etapa é obtido na redução de lactato em piruvato, ainda no citosol. Neste caso, o oxaloacetato que resulta da carboxilação do piruvato é transformado diretamente em Fosfoenolpiruvato (FEP), ainda na mitocôndria, por uma isoenzima mitocondrial de FEP carboxicinase.

**(c) Etapas catalisadas por hidrolases** – Frutose 1,6-bisfosfato e glicose 6-fosfatase. Localização da glicose-6-fosfatase (retículo-endoplasmático) e tipos celulares onde existe (fígado, cortex renal, células do epitélio intestinal).

**(d) Ciclos de substratos ou ciclos fúteis** – (Interconversão catalisada por enzimas diferentes na glicólise e gliconeogénese) e **regulação recíproca** das duas vias (com destaque para a interconversão da frutose 6-fosfato em frutose 1,6-bisfosfato e vice-versa).

**(e) Ciclo da glicose-lactato (ciclo de Cori) e ciclo da glicose-alanina** – Importância metabólica no aproveitamento do lactato e alanina produzidos em excesso, particularmente pelos eritrócitos (lactato) e músculo-esquelético em exercício anaeróbico (lactato e alanina).

**3. Regulação recíproca da gliconeogénese e glicólise** – Importância do Acetil-CoA como activador do piruvato carboxilase e, simultaneamente, inibidor do complexo da desidrogenase pirúvica. Na gliconeogénese, a frutose 1,6-bisfosfatase é activada pelo citrato e inibida pela AMP e F-2,6-P. Regulação da FEP carboxicinase (inibição pelo ADP). Regulação da glicólise e gliconeogénese hepática pela frutose 2,6-bisfosfato (modulador alostérico, que estimula a fosfofrutocinase-1 e inibe a frutose 1,6-bisfosfatase). Síntese da frutose 2,6-bisfosfato pela fosfofrutocinase -2 e fosforólise pela frutose 2,6-bisfosfatase (enzima “tandem”), sob acção hormonal (glicagina).

---

**22ª Aula -Biossíntese dos glicídios – glicogénese, via do ácido urónico, síntese da lactose e das glicoproteínas**

**1. Glicogénese** – Precursores (glicose 6-fosfato → glicose 1-fosfato), forma activa da glicose (UDP-glicose), enzimas (fosfoglicomutase, UDP-glicose fosforilase, glicogénio sintase e enzima ramificante), condições favoráveis (excesso de glicose, excesso de capacidades energéticas celulares, estímulo hormonal pela insulina) e objectivos metabólicos (armazenamento de uma forma acessível e económica de reserva energética). Glicogénio residual e glicogenina. A fosforilação da glicogénio-sintase inactiva-a, diminuindo a glicogénese, enquanto a fosforilação da fosforilase de glicogénio induz a glicogenólise.

**2. Glicemia** – Regulação genérica através da glicólise/gliconeogénese e glicogénese/glicogenólise.

**3. Via do ácido urónico** – Oxidação da UDP-glicose (por uma desidrogenase NAD dependente) em UDP-ácido glicurónico. Transferência do glucuronato em reacções da conjugação (p.ex. com a bilirrubina, no fígado) por transferases.

**4. Síntese da lactose** – Acção da lactose-sintase, na presença de UDP-galactose e N-acetilglicosamina ou glicose.

**5. Síntese das glicoproteínas** – Síntese da fracção proteica no retículo endoplásmico e ligação com oligossacáridos. Acção do dolicol-fosfato na formação e transferência do núcleo oligossacárido para a cadeia polipeptídica em formação no lúmen do retículo endoplásmico.

---

**23ª Aula -Biossíntese dos lípidos (lipogénese) – síntese dos ácidos gordos**

**1. Síntese dos ácidos gordos**

**(a) Generalidades** – Local da síntese (citosol), intermediários (ligação a uma proteína transportadora de grupos acilo: ACP), enzimas (complexo da sintase dos ácidos gordos), alongamento das cadeias (pela adição sucessiva de unidades com dois carbonos, provenientes de um dador: malonil-CoA) até à formação do produto final (palmitato), na presença de poder redutor.

**(b) Etapas reguladoras da síntese dos ácidos gordos** – Formação do malonil-CoA a partir do acetil-CoA, pela acetil-CoA carboxilase (biotina-dependente), forma inactiva (monomérica) e activa (polimérica) da enzima e moduladores alostéricos: (activador:citrato, inactivador, palmitoil-CoA).

**(c) Complexo da sintase dos ácidos gordos** – Precursores (acetil-CoA ou propionil-CoA, malonil-CoA, NADPH), ACP, enzimas (acetil-transacilase, malonil-transacilase, cetoacil-sintase ou enzima condensante, ceto-acil-ACP, redutase, 3-hidroxiacilo-ACP desidratase, enoil-ACP-redutase); mecanismo de acção da estrutura dimérica e transformação do palmitoil-ACP em palmitato, por uma tioesterase.

**(d) Alongamento e dessaturação dos ácidos gordos (no retículo-endoplasmático).** – Alongamento por adição sucessiva das unidades com dois carbonos; derivados do malonil-CoA (transacilase), inclusão das ligações duplas na cadeia por oxidases (NADH ou NADPH dependentes). Ácidos gordos essenciais (linoleico, linolénico e araquidónico).

**(e) Origem do acetil-CoA e do poder redutor** – Transporte do acetil-CoA da mitocôndria para o citosol, sob a forma de citrato. A enzima de clivagem do citrato (ou citrato-liase) desdobra o citrato em oxaloacetato e acetil-CoA. Deste são formados os ácidos gordos. O oxaloacetato é reduzido a malato. Este metabolito ingressa na mitocôndria ou, no citosol, por acção da enzima málica, é descarboxilado em piruvato (que reentra na mitocôndria). Fontes de NADPH: etapas de conversão de malato em piruvato (enzima málica), via das fosfopentoses, (glicose-6-fosfato desidrogenase e fosfogliconato desidrogenase) e desidrogenase isocítrica NADP dependente, do citosol.

**(f) Controlo da síntese dos ácidos gordos** – Disponibilidade de substrato (acetil-CoA) e carga energética celular. Equilíbrio com a captação e oxidação dos ácidos gordos activados (pela inibição da carnitina-acil-transferase e  $\beta$ -oxidação). Estimulação (alostérica) da síntese pelo citrato, e inibição pelo palmitoil-CoA.

---

## **26ª Aula -Hormonas – generalidades sobre o sistema hormonal**

### **1. Hormonas e outros sinais de intercomunicação celular**

Classificação pela natureza química (hidrossolúveis: polipéptidos e derivados de ácidos aminados; esteroides e eicosanoides – lipossolúveis), raio de acção (autócrina, parácrina, endócrina) e local de interacção das hormonas (ligando) com as células-alvo (membranas plasmáticas ou meio intracelular), onde se ligam a receptores celulares específicos. Comparação com outros sinais de intercomunicação celular (factores de crescimento, neurotransmissores).

### **2. Integração hormonal**

Cascata hormonal, com início em sinais do sistema nervoso central, transmitidos através do hipotálamo e hipófise; tropinas da hipófise anterior; glândulas-alvo e/ou órgão – alvo. Factores de libertação (ou inibição) hormonal, sinais indutores e biorritmo hormonal. Controlo geral por retro-inibição do sistema hormonal (pela concentração de hormonas de glândulas-alvo e/ou actividade metabólica do tecido-alvo). Conceito de segundo-mensageiro de acção hormonal (nucleótidos cíclicos, derivados de fosfolípidos da membrana,  $Ca^{2+}$ ).

---

**27ª Aula -Hormonas hidrossolúveis, transdução celular do sinal hormonal, cascata da adenilato ciclase**

**1. Interação hormona-receptor** – Caracterização genérica dos receptores específicos, na membrana citoplásmica. Formação do complexo hormona-receptor com alteração conformacional subsequente do receptor e modificações estruturais e funcionais da membrana; interação com proteína transdutora e/ou internalização do complexo hormona-receptor. Equilíbrio da interação hormona-receptor: constantes de associação e dissociação, saturação do complexo hormona-receptor, ligações específicas e inespecíficas. Pontos de interação (simples ou múltiplos) da hormona com os receptores.

**2. Activação celular através do AMP cíclico** – Transdução do sinal hormonal por proteínas G (fixam GTP). Composição da proteína G (subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ ); formas  $\alpha_s$  (na proteína  $G_s$ ) e  $\alpha_i$  (na proteína  $G_i$ ). Activação ou inibição da adenilato-ciclase pela subunidade  $\alpha_s$  ou  $\alpha_i$ ). Formação de nucleótidos cíclicos (AMP cíclico ou GMP cíclico) por activação de uma enzima específica (adenilato-ciclase ou guanilato ciclase, respectivamente) com acção no ATP. Activação das proteínas-quinase A pelo AMP cíclico (dissociação da subunidade reguladora da catalítica).

---

**28ª Aula -Hormonas hidrossolúveis (conclusão), cascata dos fosfoinosítois, hormonas lipossolúveis**

**1. Cascata dos fosfoinosítois** – Activação hormonal através do sistema de fosfoinosítois. Formação de dois segundos mensageiros (1,2-diacilglicerol e 1,4,5-inositol trisfosfato) por acção da fosfolipase C (activada pela proteína  $G_s$ ) no fosfatidilinositol 4,5 bisfosfato ( $PIP_2$ , componente da membrana citoplásmica derivado por fosforilação do fosfatidilinositol). Acção celular do inositol 1,4,5 trisfosfato ( $IP_3$ , libertação de iões cálcio de depósitos intracelulares) e do 1,2-diacilglicerol (DAG, activação da proteína quinase C, que catalisa a fosforilação de moléculas proteicas específicas). O ião cálcio como 2º mensageiro de acção hormonal. O aumento da concentração no citosol, que precede o efeito, deriva da mobilização de reservas intracelulares (pelo  $IP_3$ ) ou aumento do influxo do exterior (por estimulação dos canais iónicos da membrana) Formação do complexo calmodulina- $Ca^{2+}$ , precedendo a activação de proteínas específicas.

**2. Esteroides** – Localização intracelular dos receptores específicos. Migração do complexo hormona-esteróide para o núcleo e fixação ao DNA: expressão genética específica, por transcrição de RNAm e síntese de proteínas específicas induzidas pelos esteroides. Identificação nos receptores dos esteroides de dois domínios (semelhantes para todos os esteroides e também para a hormona tiroideia), um para fixação ao DNA, outro para fixação hormonal.

**3. Eicosanoides** – Origem comum (ácidos gordos poliinsaturados, pelo menos com 3 duplas ligações), designadamente do ácido araquidónico. Acção da ciclo-oxigenase na formação das prostaglandinas e tromboxanos) e lipo-oxigenase (originando leucotrienos). Síntese das prostaglandinas: formação de precursores na membrana; acção local de fosfolipases, componentes enzimáticos da prostaglandina-sintase: ciclo-oxigenase e hidroxiperoxidase. Inibição da ciclo-oxigenase por anti-inflamatórios.

---

### **29ª Aula -Insulina: caracterização bioquímica, interação celular e acção metabólica**

**1. Insulina** – Caracterização estrutural e bioquímica da insulina. Local de produção (nas células  $\beta$  dos ilhéus de Langerhans), secreção e centros de acção (pré-pro-insulina, pro-insulina, insulina activa e péptido C). Tipos celulares mais sensíveis (hepatocitos, adipocitos, miocitos). Receptores da insulina nas células-alvo: actividade enzimática (tirosina-cinase). Semelhanças estruturais e funcionais com os receptores de factores de crescimento (factor de crescimento neuronal, factor de crescimento epitelial). Localização e agregação dos complexos receptor-insulina na membrana citoplásmica (relevância para as goteiras revestidas por clatrina). Mecanismo de activação do influxo da glicose nos adipocitos e miocitos. Activação das proteínas intracelulares por fosforilação pela tirosina-cinase dos receptores da insulina (lise por proteases dos lipossomas ou reaproveitamento).

**2. ACÇÃO METABÓLICA DA INSULINA** – Estímulo (hiperglicemia) para a secreção pelas células  $\beta$  dos ilhéus de Langerhans. Activação do consumo de glicose, formação de depósitos de glicogénio (hepáticos e músculo), inibição da gliconeogénese hepatocitária Diminuição da glicémia (pós-prandial) para valores normais. Estimula a síntese dos ácidos gordos nos hepatocitos e da lipogénese nos adipocitos. Promove o influxo da glicose nos miocitos e adipocitos. Induz a síntese proteica muscular (favorecendo também a captação de ácido-aminados ramificados) e diminui o respectivo catabolismo. Mecanismo de acção dependente da fosforilação de proteínas enzimáticas, pela tirosina-cinase

---

### **30ª (e última) Aula -Glicagina e epinefrina, interação celular, acção metabólica, controlo da glicémia e prioridades metabólicas**

**1. Acção metabólica da glicagina** – Estímulo (hipoglicémia) para a secreção pelas células  $\alpha$  dos ilhéus de Langerhans. Acção prioritária nos hepatocitos (visando a normalização da glicémia): estimula a glicogenólise, inibe a glicogénese; inibe a glicólise e activa a gliconeogénese. Inibe a síntese dos ácidos gordos pelo fígado (por diminuir a formação do piruvato e inibir a da acetil-CoA carboxilase) e activa a lipólise no adipocito. A activação

enzimática pela glicagina decorre por modulação covalente (fosforilação) por proteínas-cinase dependentes do AMP cíclico.

**2. Acção metabólica da epinefrina** – Secreção pela medula supra-renal estimulada pela hipoglicémia. Acção prioritária nos miócitos, estimula a glicogenólise (também hepática) e inibe o influxo da glicose; consumo preferencial dos ácidos gordos, na sequência da estimulação da lipólise. Estimula a secreção da glicagina e inibe a da insulina. Mecanismo de acção semelhante ao da glicagina (activação enzimática por fosforilação, dependente da proteína-cinase e AMP cíclico).

**3. Controlo da glicemia** – Dependência primordial do hepatócito. Formação da glicose-6-fosfato pela glicocinase em hiperglicemia (pós-prandial). Estimulação de secreção da glicagina (e inibição da insulina) em hipoglicémia ou inibição da secreção de glicagina e estimulação da insulina em hiperglicemia. Nestas condições, a insulina estimula a glicogénese hepática, e inibe a glicogenólise (a par da acção directa da glicose, como modulador da fosforilase  $\alpha$  do glicogénio), favorece a lipogénese no tecido adiposo. Em hipoglicémia, é estimulada a glicogenólise e gliconeogénese (por acção da glicagina), e diminui o consumo de glicose pelos miócitos e hepatócitos (devido à diminuição dos níveis de insulina) e é estimulada a utilização dos ácidos gordos.

**4. Prioridades metabólicas** – Situações de hiperglicemia e hipoglicemia. Resposta celular a estímulos hormonais e efeitos exercidos na actividade de enzimas-chave (por modulação alostérica ou covalente) ou na síntese/degradação dessas enzimas. Preservação da glicose disponível e das reservas proteicas, com utilização preferencial das reservas lipídicas (ácidos gordos/corpos cetónicos).

---

### 1.2.3 – Ano lectivo de 2004/05

#### Programa e Conteúdos

##### Objectivos gerais

- Aprender o conteúdo fundamental do conhecimento de Bioquímica Celular
- Adquirir capacidades de análise e síntese, interpretação dos conhecimentos e dos factos com aplicação na resolução de problemas.
- Adquirir atitudes e gestos necessários ao desempenho das tarefas de laboratório em acções experimentais simples.

**Escolaridade**

Escolaridade – <u>96</u> horas					Período de Ensino *	Unidades de Crédito **
Aulas Teóricas	Aulas Práticas	Aulas Teórico-Práticas	Seminários	Outras Acções		
30	22	28	9	7	Out.-Fev.	4,5

**Metodologia do ensino**

1. **Aulas teóricas (T)** – Perspectivam a matéria através de tópicos seleccionados. Os pormenores desta devem ser obtidos nos textos de apoio aconselhados. São publicados sumários para cada aula teórica.

2. **Aulas teórico-práticas (TP)** – Destinam-se à resolução de problemas, debate da matéria e esclarecimento de dúvidas de aprendizagem.

3. **Aulas práticas (P)** – Destinam-se ao desenvolvimento experimental de parte de conceitos teóricos do conhecimento de Bioquímica Celular.

4. **Seminários (S)** – Destinam-se ao debate global sobre temas de natureza multidisciplinar.

**Conteúdos**

1. **Água** – Compartimentos corporais.
2. **Biomoléculas** – Composição, conformação, propriedades químicas e biológicas.
3. **Enzimologia** – Cinética das reacções enzimáticas, enzimas reguladoras.
4. **Potenciometria, Centrifugação e Espectrofotometria** – Fundamentos e aplicações.
5. **Biomembranas** – Composição e estrutura, propriedades e funções gerais.
6. **Bioenergética** – Aplicação aos sistemas biológicos.
7. **Transporte** – Características e propriedades.
8. **Introdução ao metabolismo** – Organização geral dos sistemas metabólicos.
9. **Fermentação e Glicólise** – Tipos de fermentação. Sequência glicolítica. Transferência e conservação de energia. Utilidade funcional do 2,3 – BPG, processos de regulação metabólica.

10. **Respiração celular** – Etapas de transformação do piruvato em acetil-CoA e seu aproveitamento pelo ciclo de Krebs. Componentes da cadeia de transporte de electrões e fosforilação oxidativa.

11. **Outras vias do catabolismo glicídico** – Via das fosfopentoses. Glicogenólise, processos de regulação metabólica.

12. **Lipólise e beta-oxidação** – Cetogénese e oxidação dos corpos cetónicos.

13. **Catabolismo proteico** – Renovação proteica, transaminação, desaminação oxidativa, descarboxilação, ciclo da ureia.

14. **Biossíntese dos glícidos** – Gliconeogénese. Via do ácido urónico. Glicogénese. Metabolismo de alguns dissacáridos.

15. **Biossíntese dos lípidos** – Alongamento dos ácidos gordos saturados e insaturados. Biossíntese de triacilglicerois, fosfoacilglicerois e esfingolípidos: colesterol, ésteres do colesterol, outros esteróides e prostaglandinas; processos de regulação metabólica.

16. **Intercomunicação celular** – Mecanismos de transdução transmembranar, citocinas.

17. **Interrelação metabólica** – Integração geral das principais vias metabólicas, objectivos, mecanismos reguladores. Intervenção hormonal e algumas particularidades metabólicas de tecidos diferentes. Receptores hormonais, com destaque para os da insulina, glicagina, epinefrina e esteróides. Principais efeitos metabólicos da insulina, glicagina, epinefrina e corticosteroides.

### Avaliação

#### (A) Avaliação Continuada (AC):

(I) Avaliação teórico-prática (TP)

(II) Avaliação prática (P)

(III) Seminários (S)

(IV) Avaliação final (F) = (escrito + oral)/2.

A prova oral é obrigatória para classificações na escrita entre 8,0 e 9,9.

A classificação final da AC resulta do somatório das pontuações (corrigidas) atribuídas aos quatro tipos de provas de avaliação, a dividir pelo total dos factores de ponderação.

Serão utilizados os seguintes factores de ponderação da AC e da prova de avaliação para cálculo da nota final TP = 3; P = 2,5; S = 0,5; F = 4,0

$$\text{Cálculo da nota final} = \frac{(TP \times 3) + (P \times 2,5) + (S \times 0,5) + (F \times 4)}{10}$$



**(B) Exame Final Único (EFU)**

A realizar pelos alunos nas seguintes condições:

- a) Que tenham obtido menos de 10 valores numa das avaliações do conjunto de (I a III);
- b) Que tenham sido admitidos à prova final (IV) de AC e não compareçam;
- c) Que desistam da AC [antes de realizar a prova final (F)];
- d) Repetentes com frequência.

*O Exame Final Único pode ser realizado em qualquer das duas épocas de exame.*

– Podem inscrever-se no exame final de 1.<sup>a</sup> / 2.<sup>a</sup> época unicamente os alunos que obtiverem frequência no mesmo ano lectivo (ou anteriores, sendo repetentes), e os que não tenham completado ou que não tenham tido aproveitamento em anos anteriores.

– O aproveitamento obtido em Exame Final Único implica na perda das classificações eventualmente atribuídas na avaliação continuada.

– A classificação final resulta da ponderação do conjunto das provas de exame final único (escrito e oral).

**Bibliografia geral aconselhada**

- Devlin, Thomas M. (1997), (4<sup>a</sup> edição). “*Textbook of Biochemistry*”. with Clinical Correlations. Ed. John Wiley & Sons. New York.
  - Zubay, Geoffrey (1999), (4<sup>a</sup> edição). “*Biochemistry*”. Ed. W. C. Brown Publishers/McGraw Hill.
  - Stryer, L. (1995), (4<sup>a</sup> edição). “*Biochemistry*”. Ed. WH Freeman and Company, New York.
  - Lodish, Harvey; Beril, Arnold; Zipursky, S. Lawrence e Matsudaira, Paul (1999), (4<sup>a</sup> edição). “*Molecular Cell Biology*” WH Freeman and Company. New York.
- 

**Sumários das Aulas Teóricas****1<sup>a</sup> Aula – Apresentação do programa****2<sup>a</sup> Aula – Água e soluções**

A água é um dos compostos químicos constituintes dos seres vivos que, no homem adulto normal, perfaz aproximadamente 60 a 70% do peso corporal. A água corporal (i) reparte-se pelos compartimentos intra e extracelulares nas percentagens aproximadas de 40% e 20% do peso corporal, respectivamente, (ii) difunde entre estes espaços através de membranas celulares, e (iii) encontra-se em equilíbrio hídrico dinâmico (entre as quantidades absorvida e eliminada). Na composição química da água (H<sub>2</sub>O) entram os elementos químicos oxigénio (O) e hidrogénio (H), unidos por duas ligações covalentes (O-H) com características polares. No conjunto, a distribuição das orbitais dos electrões ligantes e dos não partilhados ocupam quatro lobos

dirigidos segundo os vértices de um tetraedro regular. As interações intermoleculares estabelecidas entre as moléculas de água são do tipo das ligações por “ponte” de hidrogénio. Em consequência este solvente de natureza molecular dipolar tem a capacidade de hidratar compostos ionizáveis, dissolver substâncias hidrofílicas e não solubilizar substâncias hidrofóbicas. A introdução em meio aquoso de solutos orgânicos de comportamento anfipático conduz à formação de interações intermoleculares dos tipos de van der Waals, hidrofóbicas e hidrofílicas. Nos compartimentos corporais intra e extracelulares coexistem electrólitos (partículas ionizadas cationicas ou aniónicas), sais, macromoléculas (polares, apolares, ou anfipáticas), complexos macromoleculares (que nalguns englobam compostos hidrofóbicos); em conjunto com a água, constituem soluções coloidais com propriedades do estado gel, passíveis de transformação reversível ao estado sol.

Após o estudo-aprendizagem de cada um dos conceitos sobre “Água e Compartimentos Corporais” o aluno deverá estar apto a responder às seguintes questões:

Como é que a estrutura molecular da água está relacionada com as respectivas propriedades físicas e químicas.

- O que é o pH e como é que afecta o funcionamento bioquímico das células.
- O que é um tampão e qual é a função no organismo humano?
- Quais são os tampões fisiológicos
- O que são propriedades coligativas?
- O que são soluções coloidais, e qual a função no organismo humano?
- O que é a pressão osmótica?
- O que é o processo de osmose?
- O que é a pressão oncótica?
- Quais são as repercussões para o funcionamento celular a vizinhança com meios de hipo ou hipertonicidade.
- Quais são as unidades de expressão de concentração de soluções e a respectiva interconversão.

### **3ª e 4ª Aulas – Proteínas**

**1) Ácidos aminados** – Os ácidos aminados caracterizam-se por terem ligados no carbono  $\alpha$  um grupo carboxilo, um grupo amina, um átomo de hidrogénio e um grupo funcional R. As cadeias laterais dos ácidos aminados apresentam características hidrofóbicas ou hidrofílicas e no conjunto com os grupos amina e carboxilo podem estar ionizados consoante o pH do meio. Existe um valor de pH para o qual o ácido aminado é neutro e que se considera como ponto isoeléctrico. Muitos ácidos aminados são iões dipolares a pH=7 (*Zwitterion*).

**2) Proteínas** – Polímero de L- ácidos aminados unidos entre si por ligações peptídicas, as quais, apresentam carácter polar com características de ressonância e geometria planar com rotação proibida. A sequência dos resíduos de ácidos aminados numa proteína define a estrutura primária a qual nalguns casos apresenta ligações bissulfito intracadeia. Conformações regularmente repetidas na cadeia polipeptídica originam a estrutura secundária da proteína. Como exemplos existem a  $\alpha$  hélice, com cerca de 3,6 ácidos aminados por volta, estabilizada por ligações por ponte de hidrogénio entre o grupo aceitador de hidrogénio (oxigénio do grupo carboxilo da ligação peptídica) e o grupo dador de hidrogénio (NH da ligação peptídica). As ligações por ponte de hidrogénio estão orientadas de modo quase paralelo ao eixo da  $\alpha$  hélice. Como exemplo –  $\alpha$  queratina – a proteína do cabelo, pele e unhas é um aglomerado de microfibrilhas ligadas por pontes bissulfito; microfibrilha é composta por onze protofibrilhas, com estrutura de três duplas hélices enroladas uma à volta da outra e estabilizadas por pontes bissulfito e de van der Waals. A rigidez da queratina é proporcional ao número de pontes bissulfito. No caso da cadeia polipeptídica não se enrolar mas estender-se de modo regular e semelhante a pregas resulta a estrutura secundária  $\beta$  pregueada. É igualmente estabilizada por pontes de hidrogénio estabelecidas entre grupos de ligações peptídicas intercadeias posicionando-se estes de modo paralelo ou antiparalelo. Os valores dos ângulos de rotação  $\phi$  (C $\alpha$  a N-H) e  $\gamma$  (C $\alpha$  a C=O) determinam a estrutura em  $\alpha$  hélice ou  $\beta$  pregueada na dependência do tipo de L-ácidos aminados constituintes. A estrutura terciária das proteínas refere-se à disposição tridimensional da biomolécula e algumas apresentam domínios no caso das proteínas globulares. Tanto os domínios como a proteína posicionam os ácidos aminados polares no exterior mantendo o interior hidrofóbico. Por exemplo, a mioglobina é uma proteína globular que apresenta um heme (grupo prostético) por molécula. No caso de vários monómeros proteicos de igual ou diferentes formas se associarem resulta uma proteína com estrutura quaternária. Por exemplo, a hemoglobina possui quatro cadeias polipeptídicas enroladas entre si, cada uma com um grupo prostético. As proteínas globulares existentes exercem funções biológicas diversas desde transporte, catálise, controlo genético, apesar de possuírem todas uma forma esférica. Formas em cilindro mostram as proteínas fibrosas, como por exemplo o colagénio, que contribuem para a rigidez da matriz do tecido conjuntivo (função estrutural). A unidade fundamental é o tropocolagénio, formado por três hélices polipeptídicas (que contém prolina, que está ausente na alfa hélice) enroladas entre si e estabilizadas por ligações de (i) pontes de hidrogénio (ii) bases de Schiff (iii) aldol. Os cordões de tropocolagénio associam-se em microfibrilhas e estas em fibras de colagénio. Conformação mais irregular apresenta a elastina, proteína presente no tecido conjuntivo da pele e vasos sanguíneos, cujas cadeias polipeptídicas formam uma rede por ligações cruzadas do tipo base de Schiff e desmosina. As diferentes proteínas

podem perder a capacidade de exercer funções biológicas de modo reversível ou irreversível por desnaturação.

Após o ensino aprendizagem das propriedades químicas, físicas estruturais das proteínas o discente deverá estar apto a explicar:

- Quais as implicações funcionais da assimetria dos L aminoácidos.
- Quais as implicações estruturais das propriedades químicas e físicas dos grupos R dos aminoácidos constituintes das proteínas.
- Quais as aplicações laboratoriais das propriedades químicas e físicas dos grupos R dos aminoácidos constituintes das proteínas.
- O significado laboratorial do conceito de ponto isoelétrico.
- A utilidade estrutural das ligações intermoleculares estabelecidas entre os grupos R das cadeias polipeptídicas.
- As características químicas e estruturais das ligações peptídicas.
- Os conceitos estruturais e funcionais das proteínas globulares e fibrosas

### **5ª e 6ª aulas – glícidos**

**1) Glícidos (açúcares)** – Os glícidos são biomoléculas constituídos por polihidroxilo-aldeídos (aldoses) ou polihidroxilocetonas (cetoses). Consoante o número de unidades de aldeído ou cetona assim são classificados em monossacáridos (com uma função química aldeído ou como uma função química cetona), dissacáridos (duas unidades de monossacáridos), polissacáridos (polímeros de monossacáridos com ou sem ramificações).

**2) Monossacáridos** – os monossacáridos mais simples são as trioses, gliceraldeído e a dihidroxicetona. Tomando como exemplo a molécula de gliceraldeído verifica-se que contém um carbono assimétrico ( $n=1$ ) e nenhum plano de simetria molecular, o que origina duas formas de estereoisómeros ( $\alpha^n = 2^1 = 2$ ; D e L); as letras D e L referem que se trata de estereoisómeros (configurações diferentes para a mesma molécula) que apresentam o grupo hidroxilo na posição C2 virado para a direita (D) ou para a esquerda (L) (segundo a representação de Fischer) relativamente ao grupo carbonilo da função química aldeído. Como as duas fórmulas estruturais são a imagem uma da outra trata-se de um par de enantiómeros. Açúcares com três, quatro, cinco ou seis átomos de carbono recebem o nome de trioses, tetroses, pentoses e hexoses. Qualquer molécula que possua carbono (s) assimétrico (s) mas sem plano de simetria apresenta a particularidade de em solução aquosa desviar a orientação da luz polarizada incidente, isto é, tem actividade óptica em solução aquosa. As representações das fórmulas estruturais lineares de Fischer para os monossacáridos são substituídas pelas de projecção de Haworth, mais de acordo com a tetravalência do carbono e os ângulos das ligações simples. Assim, as aldoses configuram-se em piranoses (por semelhança com o anel de pirano) e as cetoses em furanoses (por semelhança com o anel

de furano). A ciclização resulta da formação intramolecular (I) de hemiacetais entre os grupos hidroxilo (C5) e o grupo carbonilo no caso de hexoses (aldoses) e de (ii) hemicetais entre o grupo hidroxilo (C5) e o grupo carbonilo no caso das hexoses (cetoses) ou o grupo hidroxilo (C5) e o grupo carbonilo no caso da frutose (cetose). Consoante o grupo hidroxilo do carbono anomérico (carbono assimétrico do hemiacetal) esteja orientado para baixo ou para cima do “plano do papel” na projecção de Haworth assim temos um  $\alpha$  monossacárido ou um  $\beta$  monossacárido.

**3) Dissacáridos** – Para a formação de dissacáridos concorrem as ligações O-glicosídicas  $\alpha$  1,4 ou  $\beta$  1,4 ou  $\alpha$  1,6 ou  $\beta$  1,6 (ligação entre hemiacetais ou hemicetais com o grupo hidroxilo de outro monossacárido). De entre os dissacáridos destacam-se a maltose (duas glicoses), lactose (galactose + glicose) e sacarose (glicose + frutose).

**4) Polissacáridos** – O polissacárido que se encontra no organismo humano com funções de reserva energética é o glicogénio (polímero de glicose com cadeias O-glicosídicas lineares  $\alpha$  1,4 com ramificações por ligações O-glicosídicas  $\alpha$  1,6). A ligação de unidade glicídicas a proteínas origina as glicoproteínas, algumas das quais com funções de defesa (imunoglobulinas), de estrutura (colagénio) e reconhecimento (glicoproteínas de membrana, grupos sanguíneos e as de circulação livre no sangue de que as sialoglicoproteínas e as asialoglicoproteínas são exemplos). Se a proporção de glícidos é superior à das proteínas (o caso contrário verifica-se nas glicoproteínas) resultam os proteoglicanos com funções estruturais constituintes dos tecidos conjuntivos. As unidades glicídicas contêm funções químicas (I) carboxílicas tais como D-glicuronato (derivado por oxidação no carbono 6 da glicose); (ii) amina tais como N-acetilglicosamina ou N-acetilgalactosamina, e (iii) hemiacetal (galactose), sulfato de heparano (ácido hidurónico + glicosamina). Como exemplos de polissacáridos constituintes dos proteoglicanos tem-se o ácido hialurónico (D-glicuronato + N-acetil-D-glicosamina), condroitina (D-glicuronato + N-acetilgalactosamina) e sulfato de queratano (N-acetilglicosamina 4 sulfato + galactose).

Após o ensino aprendizagem dos conceitos sobre carboidratos o discente deverá estar apto a explicar:

- Quais as implicações funcionais da presença de carbonos anoméricos e assimétricos dos carboidratos?
- Quais são os derivados da glicose com funções no organismo vivo?
- Quais são os dissacáridos mais comuns na natureza?
- O que são glicoproteínas e proteoglicanos e como se distinguem estruturalmente?
- Quais são as funções bioquímicas dos proteoglicanos e das glicoproteínas?
- Qual é a forma de reserva de açúcar no organismo humano?

### **7ª e 8ª Aulas – Lípidos**

**1) Lípidos** – Os lípidos são biomoléculas derivadas de ácidos gordos (ácidos monocarboxílicos) de cadeia alifática variável em dimensão desde seis a mais de catorze átomos de carbono.

**2) Ácidos gordos** – Os ácidos gordos são identificados pela nomenclatura sistemática ou pelos nomes comuns seguindo uma numeração árabe (o número 1 corresponde à função carboxílica COOH) ou numerado usando o alfabeto grego  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ... (o  $\alpha$  corresponde ao carbono adjacente à função carboxílica). No caso de ácidos gordos insaturados a dupla ligação é indicada pelo símbolo  $\Delta^n$  em que n é o número do primeiro carbono da ligação. A terminologia (w-x) refere-se à contagem do átomo de carbono onde se encontra a ligação dupla (x) a partir da extremidade metilo do ácido gordo. Os ácidos gordos que integram a dieta pertencem às séries dos ácidos linoleico e linolénico.

**3) Acilgliceróis** – acilgliceróis são lípidos constituídos por uma molécula de glicerol (triálcool) em que um, dois ou três hidroxilos estão esterificados com acilos gordos originando o mono-, di- ou triacilglicerol. Os triacilgliceróis constituem material de reserva energética localizado preferencialmente no adipócito (células do tecido adiposo).

**4) Fosfolípidos (fosfatidilgliceróis)** – O ácido fosfatídico é o fosfolípido mais simples derivado da molécula de glicerol, que contém duas moléculas de acilos gordos esterificados com dois grupos hidroxilos (em C<sub>1</sub> e C<sub>2</sub>) e um grupo fosfato inorgânico esterificado com hidroxilo do carbono 3. A esterificação subsequente do ácido fosfatídico com colina, etanolamina, inositol, serina, glicerol origina fosfatidilgliceróis, dos seguintes tipos principais: fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina, fosfatidilglicerol (precursor de cardiolipina, fosfolípido que predomina na membrana mitocondrial). Ao contrário dos triacilgliceróis (hidrofóbicos) os fosfolípidos são anfipáticos (contém extremidades polar e apolar), entram na constituição das membranas biológicas, estimulam a actividade de proteínas com actividade catalítica e entram na constituição da biliar. Tanto a fosfatidiletanolamina como o fosfatidilinositol como o fosfatidilglicerol são fosfolípidos ácidos (apresentam carga negativa a pH fisiológico). Quando na molécula do fosfolípido, fosfatidilcolina, as duas ligações éster resultam da ligação a dois ácidos palmíticos (16:0; 16 átomos de C saturado) originou-se o dipalmitoil lecitina que existe no líquido extracelular que circunda os alvéolos exercendo a função de surfactante pulmonar, evitando o colapso alveolar. A molécula da fosfatidilinositol (PI), tal como os outros fosfolípidos acima referidos, entram na composição das membranas celulares, mas o PI apresenta a particularidade de nalguns casos servir de ligação a glicopro-

teínas orientadas para o exterior celular. Quando no carbono 1 o grupo hidroxilo se liga a um grupo alquenilo ocorre uma ligação éter e forma-se um plasminogénio.

**5) Colesterol** – A molécula de colesterol (perhidrociclopentanofenantreno) entra na composição das membranas celulares e dos ácidos biliares; origina as hormonas esteroides femininas e masculinas, os corticosteroides e o mineralcorticoide aldosterona. Os ácidos biliares, são uma forma de excreção do colesterol, que apresentam a propriedade de emulsionar as gorduras (triacilgliceróis) e formar micelas (agregados moleculares em esfera com exposição das extremidades polares para o exterior e as cadeias alifáticas hidrofóbicas para o interior da esfera micelar) com os ácidos gordos e 2-monoacilgliceróis permitindo o transporte no lúmen intestinal.

**6) Esfingolípido** – são derivados da esfingosina (trans 1,3-dihidroxi-2-amino, octadeceno). O grupo amina da esfingosina está ligado por uma ligação amida a um grupo acilo originando a ceramida. A ligação de fosfatidilcolina ao grupo hidroxilo primário (do C1 da ceramida) com posterior libertação do diacilglicerol conduz à formação do único esfingofosfolípido, a esfingomielina (ceramida + fosfocolina; que entra na composição das membranas celulares). A ligação de glícidos, mono ou oligossacáridos à molécula de ceramida (ligação glicosídica no álcool primário da ceramida) conduz à formação respectivamente de cerebrósidos (glico ou galactocerebrósidos) e de globósidos. Se no glicoesfingolípido ocorrem oligossacáridos contendo ácido siálico obtém-se os gangliósidos (entram na constituição das células ganglionares do sistema nervoso central).

**7) Derivados de ácido linoleico** – No fígado é sintetizado o ácido araquidónico, derivado do ácido linoleico, e consoante as etapas de síntese (ver adiante no programa de bioquímica) obter-se-á as biomoléculas prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos.

**8) Lipoproteínas** – As lipoproteínas são complexos macromoleculares de proteínas, colesterol triacilgliceróis e fosfolípidos. Estes agregados macromoleculares permitem o transporte dos lípidos em meios aquosos, como ocorre no plasma (parte líquida do sangue) durante a circulação sanguínea. Consoante a composição química, isto é, a proporção de cada constituinte bimolecular, assim, as lipoproteínas são separadas por ultracentrifugação em classes de densidade (g/mL), de valores crescentes consoante o conteúdo proteico. Os valores de densidade (i) menores que 0,95 correspondem a quilomicra, (ii) entre 0,95-1,01 agrupam-se as VLDL, ou seja, as lipoproteínas de muito baixa densidade, (iii) entre 1,01-1,06 situam-se as LDL, isto é, as lipoproteínas de baixa densidade e, (iv) entre 1,06-1,21, correspondem as HDL, ou lipoproteínas de alta densidade. Também por electroforese as lipoproteínas são separadas pela ordem quilomicra, VLDL, LDL, HDL relativamente ao ponto de aplicação (origem de migração) da amostra con-

junta das quatro classes de lipoproteínas. Quanto às dimensões em nm as de menor densidade correspondem às de maior dimensão segundo a seguinte escala: quilomicra (70-100 nm); VLDL (30-80 nm); LDL (20-30 nm); HDL (7-10 nm).

**Funções bioquímicas das biomoléculas** – Algumas proteínas exercem funções de transporte (de: oxigénio, anidrido carbónico, iões extra e intra-membranares, ácidos gordos e lípidos) armazenamento (de oxigénio e de iões), estruturais, reconhecimento, intercomunicação celular, protecção (contra: antigénios, bactérias), catalíticas, de receptores e mantêm a integridade de membrana celular. Alguns glícidos participam em processos de reconhecimento (grupos sanguíneos ABO); de transmissão de sinais; de intercomunicação celular, constituem material de reserva energética (por exemplo: o glicogénio) e de manutenção energética celular (glicose); exercem funções estruturais na forma de glicoproteínas e/ou proteoglicanos. Alguns lípidos constituem material de reserva energética (os triacilgliceróis no adipócito), contribuem para a energia química (necessária a várias funções celulares); modulam a actividade catalítica de certas enzimas; participam em processos inflamatórios, mantêm a integridade da membrana e controlam os processos de permeabilidade.

Após o ensino aprendizagem das biomoléculas lipídicas o discente deverá estar apto a compreender e responder às seguintes questões:

- O que são ácidos gordos essenciais.
- Explicar o significado de ácido gordo e de ácido gordo insaturado.
- Explicar as repercussões fisiológicas da saturação e insaturação dos ácidos gordos.
- Diferenciar o comportamento em solução aquosa de triacilgliceróis, fosfolípidos.
- Identificar o tipo de ligações químicas existentes nos lípidos neutros, lípidos anfipáticos e glicolípidos.
- Explicar e caracterizar a composição química das lipoproteínas.
- Conhecer as vitaminas lipossolúveis.
- Conhecer os derivados do ácido araquidónico dos isoprenoides.
- Explicar as repercussões fisiológicas de saturação e insaturação dos ácidos gordos.

### **9ª e 10ª Aulas – Enzimas**

**1) Enzimas** – Enzimas são proteínas com actividade catalítica, isto é, que aceleram as reacções químicas que se processam nos organismos vivos (“in vivo”). Reacções similares poderão ser simuladas “in vitro” (fora do organismo, em experiências laboratoriais) utilizando substratos e enzimas nas formas purificadas ou nativas (inseridas na amostra biológica). As enzimas não são consumidas nas reacções que catalisam, e qualquer alteração



molecular que ocorra durante o processo catalítico é reposta, de modo a obter-se a enzima na forma molecular e/ou estrutural inicial. As enzimas não interferem no estado de equilíbrio e diminuem a energia de activação das reacções que catalisam.

**2) Centro activo** – A ligação entre as moléculas de enzima (E) e de substrato (S; substância a ser transformada) efectua-se num local da proteína constituído por ácidos aminados de contacto ou de ligação e catalíticos, que em conjunto constituem o centro activo da enzima. Para que a ligação seja eficiente, isto é, que conduza à formação de produto é necessário que (i) haja colisão entre as moléculas E e S (ii) as moléculas de S estejam orientadas correctamente para o centro activo e (iii) se criem forças de constrangimento no complexo ES.

**3) Holoenzimas** – Holoenzimas são enzimas que necessitam de um constituinte não proteico para exercer actividade catalítica. A parte proteica recebe o nome de apoenzima e o composto não proteico pode ser cofactor (ião metálico ou fosfolípido) ou uma coenzima ou um grupo prostético, (isto é, ligado covalentemente à apoenzima).

**4) Mecanismos de catálise enzimática** – Os radicais dos ácidos aminados do centro activo, que intervêm na catálise comportam-se como ácidos, bases ou agentes nucleofílicos. As diferentes etapas reaccionais, que conduzem à formação dos (s) produtos (s), após a formação do complexo ES, ocorrem por mecanismos ácido-base ou nucleofílicos, com existência momentânea de complexos enzimáticos intermediários tetraédricos. No fim da reacção os radicais dos ácidos aminados recuperam o estado inicial de ionização.

**5) Factores influentes da catálise enzimática** – Consideram-se como factores influentes na velocidade da reacção enzimática as concentrações de substrato e de enzima, os valores de temperatura e pH, a presença de factores (substâncias que aumentam ou diminuem a actividade catalítica da enzima), e a de cofactores e/ou coenzimas.

**6) Influência da concentração de substrato na catálise enzimática** – Mantendo a concentração de enzima constante, (e muito inferior à do substrato), se aumentar a concentração de S a velocidade da reacção aumentará até um valor (velocidade máxima –  $V_{max}$ ) que permanecerá (assimptoticamente) constante a qualquer acréscimo de S. Nestas condições de obtenção de  $V_{max}$  diz-se que a enzima está saturada pelas moléculas de S, e define-se número de troca ( $K_{cat}$ ) como o número de moléculas de substrato convertido em produto por unidade de tempo e por centro activo da enzima. Ao valor da concentração de S para o qual se atinge metade do valor de velocidade máxima chama-se constante de afinidade da enzima para substrato ( $K_m$ ).

**7) Efectores negativos de actividade catalítica** – Os factores negativos de actividade catalítica recebem o nome de inibidores. Consoante a acção que exercem, isto é, conforme forem as formas enzimáticas e os locais onde se ligam, assim as inibições resultantes serão do tipo (i) competitivo (o inibidor liga-se à forma livre da enzima) (ii) incompetitivo (o inibidor liga-se à forma ES) e (iii) não competitivo (o inibidor liga-se às formas E livre e ES). Como consequência ocorrem variações nos valores dos parâmetros enzimáticos  $V_{max}$  e  $K_m$ . Na inibição competitiva aumenta  $K_m$  e  $V_{max}$  mantém-se inalterado. Na inibição incompetitiva variam os valores de  $K_m$  e  $V_{max}$ , e na inibição não competitiva varia  $V_{max}$  e mantém-se constante  $K_m$ .

Após o ensino aprendizagem de cada um dos conceitos sobre enzimologia o discente deverá estar apto a compreender as seguintes questões:

- Quais as espécies moleculares presentes numa reacção enzimática.
- Quais são os factores que afectam a actividade enzimática.
- Quais são os parâmetros cinéticos que caracterizam cada enzima.
- Quais são os processos de regulação enzimática.
- Quais são as unidades que expressam a actividade enzimática.
- Quais são as utilidades clínicas de quantificação da actividade enzimática.
- Quais são as coenzimas hidrossolúveis?
- O que são zimogénios, e quais as implicações fisiológicas.
- O que são isoenzimas e quais são as implicações fisiológicas.

### **11ª Aula – Nucleótidos e coenzimas**

**Nucleótidos** – A ligação N-glicosídica de uma base de purina (adenina, guanina) ou de pirimidina (timina, citosina, uracilo) a uma pentose (origina um nucleósido), que por sua vez estabelece ligação éster com um fosfato, origina um nucleótido monofosfato. Consoante as pentoses sejam a ribose ou desoxirribose os ribonucleótidos e desoxirribonucleótidos resultantes são os precursores dos ácidos ribonucleicos (RNA) e desoxirribonucleicos (DNA). Nos ácidos nucleicos (DNA) o grupo fosfato esterifica o C-5' de uma pentose com o C-3' da pentose do nucleósido vizinho originando uma cadeia a qual enrola outra antiparalela na forma de dupla hélice estabilizada por pontes de hidrogénio estabelecidas entre as bases das duas cadeias (p.ex. citosina/guanina; adenina/timina). As coenzimas folato, fosfato de piridoxal e vitamina B12 actuam respectivamente em reacções catalisadas por enzimas com funções de transformações de grupos metileno, transaminação e descarboxilação e transformação do grupo metilo. A adição de dois fosfatos (ligações anidrido) ao nucleótido monofosfato origina nucleótidos trifosfato (adenosina, guanosina, citosina e uridina todos trifosfato – ATP, GTP, CTP, UTP). Os nucleótidos trifosfato além de participarem em transferências (i) de energia livre padrão intervindo na síntese proteica (GTP) lipídica (CTP),

glicídica (UTP) e (ii) de grupos fosforilo e acilo, comportam-se como coenzimas. O nucleótido cíclico monofosfato de adenosina (AMPc) funciona como “mensageiro” intracelular dum “sinal” (substância química) que chega à superfície celular e interaccua com o receptor (proteína de ligação). Após alguns processos (que se estudarão adiante) interactivos sinais/receptor é activada a enzima adenilato-ciclase que transforma o ATP em AMPc. Os nucleótidos mono, di, e trifosfato (AMP), ADP e ATP são interconvertíveis na presença da adenilato cinase ou miocinase ( $ATP + AMP = 2 ADP$ ).

**Coenzimas e vitaminas hidrossolúveis** – A adenosina (nucleósido = adenina + ribose) integra a constituição de coenzimas com função de transferência de (i) electrões e protão (nicotinamida adenina dinucleótido NAD/NADH); (ii) electrões e protões (flavina adenina dinucleótido FAD/FADH) e (iii) de grupos acilos (coenzima A). Na composição química das coenzimas (formas activas de vitaminas hidrossolúveis) NAD, FAD e coenzima A entram respectivamente as vitaminas: ácido nicotínico, isoaloxazina e ácido pantoténico. As formas oxidada NAD (e NADP) e reduzida (NADH e NADPH) apresentam em solução espectros diferentes que permitem avaliar a actividade enzimática das desidrogenases pelo aparecimento e ou desaparecimento do pico de absorção a 340nm da forma reduzida. A coenzima flavinica funciona como grupo prostético das enzimas desidrogenases. Também a actuar como grupo prostético a biotina intervém nas reacções de carboxilação. A vitamina B1 tiamina é o precursor da tiamina pirofosfato com funções de coenzima de reacções de descarboxilação.

---

### **12ª Aula – Bioenergética**

**1) Termodinâmica e Bioenergética** – A termodinâmica analisa as transformações e trocas de energia que ocorrem em sistemas fechados (sistemas em que não ocorre trocas de matéria com o exterior). A Bioenergética aplica as leis da termodinâmica a transformações e trocas de energia que acontecem nos sistemas vivos (sistemas abertos que crescem às trocas de energia com o exterior as referentes à matéria). Na aplicação das leis da termodinâmica aos sistemas vivos (Bioenergética) consideram-se aproximações (postulados): a célula e o meio envolvente, isto é, o organismo como todo são considerados um sistema fechado (só troca calor com o meios exterior) e admite-se que os processos vitais decorrem em estado estacionário, controlado, regulado e de não equilíbrio.

**2) Lei da Termodinâmica** – Pela primeira lei da termodinâmica, a variação da energia do universo (sistema + meio exterior) deverá manter-se constante (transdução ou transformação entre formas de energia). Nos organismos vivos ocorrem transformações de formas de energia: energia química (degradação de glicose) em energia química (adenosina trifosfato-ATP):

energia química (ATP) em energia mecânica (contração muscular). A segunda lei da Termodinâmica determina que a variação de entropia ( $\Delta S$ ; forma de energia associada ao grau de desordem ou ordem) do universo deverá ser positiva, isto é, que o grau total de desordem do universo deverá aumentar. Os processos de desenvolvimento celular e de crescimento dos organismos vivos (sistema) implicam ordenamento molecular do sistema; este deverá ser compensado pela desordem do meio exterior à custa do calor (forma de energia que não produz trabalho) libertado pelo sistema. A variação de calor, se ocorrer a pressão e temperatura constantes no sistema recebe o nome de variação de entalpia. A quantidade de calor libertada pela célula para o exterior, para assegurar a ordem biológica necessita também de entrada contínua de energia (energia “guardada” nas ligações covalentes dos compostos orgânicos que integram a dieta).

**3) Variação de Energia Livre ou de Gibbs ( $\Delta G$ )** – A variação de energia livre corresponde à variação de energia do sistema que produz trabalho (por exemplo dos tipos: mecânico, osmótico, transmissão nervosa, transporte). Ao considerar-se uma reacção química (sistema a pressão e temperatura constante)  $\Delta G$  é composta por dois factores:  $\Delta H$  (calor ou entalpia libertada ou absorvida aquando da formação ou ruptura das ligações) e  $\Delta S$  (variação do grau de ordem/desordem do sistema). Assim Gibbs relacionou as três funções de estado pela expressão  $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ . Reacções exotérmicas ( $\Delta H < 0$ ) e endotérmicas ( $\Delta H > 0$ ) podem ocorrer espontaneamente ( $\Delta G < 0$ ) se  $\Delta S$  for suficientemente positivo.

**4) Variação de Energia Livre e Constante de Equilíbrio** – A velocidade de uma reacção química depende do valor de energia de activação, mas  $\Delta G$  não se relaciona com a velocidade mas com a constante de equilíbrio ( $K_{eq} = \frac{[\text{produtos}]_{eq}}{[\text{reagentes}]_{eq}}$ ) da reacção. Na reacção modelo  $A + B = C + D$ ,  $\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$  em que  $\Delta G^\circ$  representa a variação de energia livre padrão quando na reacção as concentrações de A, B, C e D são 1,0 mol/L; R é a constante dos gases perfeitos e T a temperatura em graus Kelvin. A  $\text{pH} = 7 \Delta G^\circ$  é representada por  $\Delta G^0$ . Quando  $\Delta G = 0$  (estado de equilíbrio)  $\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$ .

**5) Variação da Energia Livre de Gibbs e Variação do Potencial Eléctrico** – Se a reacção for do tipo oxidação-redução a variação do potencial eléctrico ( $\Delta E$ ) é igual à soma das variações de voltagem (potencial de redução) das reacções parcelares de oxidação e de redução. A interconversão das variações de estado das energias livre e potencial eléctrico relacionam-se de acordo com a expressão  $\Delta G = -nF\Delta E$ , em que F é a constante de Faraday e n o número de electrões transferidos. Consoante os valores dos potenciais de redução padrão para vários pares (oxidante/redutor) de compostos químicos constrói-se uma escala de valores. Valores de  $\Delta E$  negativos ou positivos significam que a espécie química cede ou recebe electrões respectivamente.

**6) Variação de Energia Livre de Gibbs e Gradiente de Concentrações –**

A transferência de uma substância química entre os espaços intra e extracelular quando efectuada contra um gradiente de concentração necessita de energia ( $\Delta G > 0$ ). A variação de energia livre  $\Delta G$  relaciona-se com o gradiente de concentrações  $c_2 > c_1$  pela expressão  $\Delta G = RT \ln [c_2] / [c_1]$ .

**7) Transferência de Energia Bioquímica** – Nos organismos vivos as transferências de energia química (energia bioquímica) dão-se em sistemas acoplados, com um intermediário comum. A variação das energias livres padrões, das reacções acopladas são aditivas (as reacções endergónicas estão associadas a reacções exergónicas). A conversão de um composto de elevado conteúdo energético (elevado valor de energia livre) para outro (s) composto (s) de menor energia livre (formas moleculares estabilizadas por ressonância e com cargas eléctricas que se repelem) origina uma variação de energia livre capaz de produzir trabalho, ou de ser utilizada na formação de novos compostos (reacção de síntese). Pode-se estabelecer uma escala de valores de  $\Delta G$  padrão para os vários compostos orgânicos que participam em processos de transferência de energia.

Após o ensino aprendizagem de cada um dos conceitos sobre bioenergética o discente deverá estar apto a compreender as seguintes questões:

- Qual é a função bioquímica da variação de energia livre da reacção
- Como exerce o ATP a acção de composto de elevado conteúdo energético?
- Dar exemplos de nucleótidos intervenientes em reacções endergónicas e exergónicas
- Qual a relação entre constante de dissociação de uma reacção química e a variação de energia química?
- Qual é o valor fisiológico da transdução de formas de energia?
- Como é aproveitada a energia contida na molécula de ATP?

**13ª Aula – Introdução ao metabolismo**

**1) Ciclos de carbono, oxigénio e azoto** – Os organismos vivos podem ser subdivididos, quanto à natureza do carbono que consomem do meio, em **autotróficos** (usam o dióxido de carbono atmosférico como fonte única de carbono) e **heterotróficos** (utilizam moléculas orgânicas para obterem carbono). Ambas as classes de organismos podem requerer oxigénio molecular para a oxidação dos nutrientes orgânicos (aerobiose), podem viver sem oxigénio (anaerobiose), ou, em determinadas circunstâncias funcionam em aerobiose e noutras em anaerobiose (organismos facultativos), ou exclusivamente em anaerobiose (anaeróbios restritos). Grande parte dos heterotróficos e, em particular, os organismos superiores, são facultativos, embora utilizando preferencialmente o mecanismo aeróbio. O azoto é indispensável para a síntese dos ácidos aminados, e das bases púricas e pirimídicas. Os ciclos de carbono, oxigénio e azoto tendem a renovar-se continuamente.

**2) Fluxo energético células-meio** – Os autotróficos e os heterotróficos coexistem na biosfera, interdependente em termos de matéria e energia. Os autotróficos utilizam  $\text{CO}_2$  para formar biomoléculas e gerar oxigênio, consumidos pelos heterotróficos, que libertam  $\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{CO}_2$  para o meio. Grande parte dos autotróficos têm fotossíntese, obtendo a energia que precisam da luz solar, enquanto os heterotróficos a obtêm por oxidação das moléculas orgânicas. Nestas transferências, há energia não aproveitada (aumentando a energia do meio), enquanto uma pequena parte é utilizada para produzir trabalho (energia livre). O fluxo de energia é unidireccional e sem possibilidade de recuperação, devido à constante dissipação (aumenta a entropia do universo.)

**3) Metabolismo, catabolismo e anabolismo** – Entende-se por **metabolismo** (num sentido lato) o conjunto de todas as reacções químicas (e físicas) que ocorrem nos organismos vivos e são essenciais para a vida. Através dessas reacções, os organismos, utilizam nutrientes do meio para os incorporar na própria estrutura ou para deles obterem energia química, por oxidação. Os processos de degradação metabólica constituem o **catabolismo**, enquanto os da síntese representam o **anabolismo**. Os constituintes celulares estão sujeitos continuamente a alterações catabólicas e anabólicas, pelas quais decorre a respectiva renovação estrutural (“turnover”). As vias catabólicas e anabólicas diferem entre si em algumas etapas enzimáticas, que se localizam com frequência em compartimentos intracelulares distintos, e têm regulação independente. O catabolismo é um processo globalmente exergónico, sendo o anabolismo endergónico. A decomposição catabólica das moléculas orgânicas decorre com conservação de parte da energia dos nutrientes, sob a forma de energia química (ATP). O ATP das reacções catabólicas representa uma forma de transporte de energia química entre os principais centros produtores (reacções catabólicas) e as etapas endergónicas, que representam o trabalho celular (além das biossínteses, também a contractilidade e o transporte activo utilizam a energia química gerada no catabolismo). Adicionalmente, existe outra forma de energia química (poder redutor, NADPH) que flui do catabolismo para as etapas anabólicas requerentes.

**4) Organização geral do sistema metabólico** – O metabolismo é um processo aberto que assegura trocas constantes de energia e matéria entre as células e o meio. Decorre **em sequências de etapas catalisadas por enzimas** com especificidade variável, de que resulta a formação de umas substâncias a partir de outras. As substâncias consumidas e as produzidas pelo metabolismo são designadas genericamente por **metabolitos**. O anabolismo e o catabolismo são assegurados por sequências com **regulação independente**, embora partilhando etapas comuns reversíveis, a par de outras irreversíveis. Determinadas vias têm funções anabólicas e catabólicas, designando-se **anfibiólicas**. Cada sequência metabólica tende para um equilíbrio que, em

vida, nunca é conseguido. A velocidade da conversão do substrato inicial no produto final de cada via é condicionada pela etapa mais lenta. O produto final tende a regular a sua própria síntese, influenciando a actividade enzimática da (s) etapa (s) reguladora (s). Determinados conjuntos de reacções catabólicas formam **ciclos metabólicos**, possibilitando a regeneração (como produto) de um substrato inicial. Os ciclos também podem ser anabólicos, catabólicos ou anfibólicos.

**5) Mecanismos gerais da regulação** – A organização própria dos seres vivos e a conservação da vida sob condições adequadas depende de sistemas de controlo, baseados na transferência de informação. O tipo de sinal utilizado e o processo em que decorre a transferência da informação determinam quatro tipos principais de **mecanismos reguladores do metabolismo**: dos quatro, dois são intercelulares – neural (nervoso) e hormonais – sendo os outros dois intracelulares – expressão genética e modulação enzimática. A modulação enzimática é exercida por mecanismos positivos ou negativos que actuam em etapas reguladoras de cada sequência metabólica, através de alterações da concentração ou da actividade das respectivas enzimas. A concentração enzimática pode ser modificada a nível da síntese (indução ou repressão da expressão genética) ou da degradação das moléculas pré-existentes (por proteases específicas). É um processo relativamente lento e pouco selectivo. A actividade enzimática pode ser inibida ou estimulada por dois mecanismos gerais: alteração covalente (modificação química) ou não-covalente (modificação alostérica). A activação dos zimogénios, por proteólise limitada, constitui outro processo de activação enzimática. Em qualquer dos casos, a modulação da actividade enzimática (em geral pelo produto final) é um processo rápido e preciso. Outros intervenientes gerais da regulação intracelular são as membranas (que condicionam as trocas de matéria entre compartimentos distintos) e a formação de compartimentos (que originam gradientes de concentração e de pH adequados às actividades do meio).

Após o ensino aprendizagem de cada um dos conceitos sobre metabolismo o discente deverá estar apto a compreender as seguintes questões:

- O que entende por catabolismo e anabolismo
- Quais são as semelhanças e diferenças entre catabolismo e anabolismo
- O que entende por potencial redutor e qual é a sua utilidade biológica
- O que entende por: via metabólica, intermediário e metabolito
- Quais são os tipos de reacções químicas enzimáticas responsáveis pelo catabolismo e pelo anabolismo.

### **14ª Aula – Glicólise**

**1. Utilidade metabólica da glicose** – Origens (exógena e endógena) da glicose. Breve revisão da absorção intestinal (conversão do amido em glicose por glicosidases dos enterocitos). Importância da absorção da glicose,

relativamente a outros monossacáridos da dieta (p.ex., galactose e frutose). Transporte da glicose através das membranas celulares. A glicose como nutriente universal. Tipos celulares que dependem da glicose em exclusivo (p.ex., eritrócitos), substancialmente (p.ex., leucócitos, células nervosas) ou em segundo plano (p.ex., hepatócito), como fonte energética.

**2. Definição da glicólise** – Localização (no citosol), significado funcional (preparação metabólica, emergência energética ou via exclusiva) e objetivos (conversão da glicose em lactato ou piruvato, e obtenção de ATP). A glicólise em anaerobiose (fermentação láctica, ou via de Embden-Meyerhof), com transformação de cada molécula de glicose em duas moléculas de lactato; glicólise em aerobiose, de que resultam duas moléculas de piruvato por cada molécula de glicose degradada. Comparação da fermentação láctica com outros tipos (p.ex., fermentação alcoólica, em que se forma etanol).

**3. Caracterização da sequência glicolítica completa** – Identificação das três fases principais da sequência: preparação, em que a glicose é transformada em frutose 1,6-bisfosfato; clivagem deste metabolito em duas trioses-fosfato (gliceraldeído 3-fosfato e diidroxiacetona-fosfato); fase da oxidação-redução, com transformação do gliceraldeído 3-fosfato em lactato. Etapas reversíveis e irreversíveis (reguladoras). Etapas de utilização (na formação da glicose 6-fosfato e da frutose 1,6-bisfosfato) e síntese do ATP (na formação do 3-fosfoglicerato e do piruvato). Etapas da fosforilação associada ao substrato (na transformação do gliceraldeído 3-fosfato em 3-fosfoglicerato; na transformação do fosfoenolpiruvato em piruvato). A reoxidação do NADH na etapa da conversão do piruvato em lactato, assegura a continuidade da glicólise em anaerobiose.

**4. Alternativas metabólicas** – Opções metabólicas da diidroxiacetona – fosfatam (com participação indirecta na síntese dos triglicéridos e/ou na transferência de equivalentes redutores para a mitocôndria, em aerobiose). Opções metabólicas do 1,3-bisfosfoglicerato: formação directa do 3-fosfoglicerato (e síntese do ATP) ou transformação em 2,3-bisfosfoglicerato (com importante acção moduladora da afinidade da hemoglobina para o oxigénio nos eritrócitos).

**5. Regulação da glicólise** – Enzimas reguladoras da sequência: hexocinase, fosfofrutocinase (a mais importante) e, piruvato-cinase. Particularidades da glicocinase, (uma isoenzima da hexocinase).

Após o ensino aprendizagem de cada um dos conceitos sobre glicólise o discente deverá estar apto a compreender as seguintes questões:

- O que entende por glicólise e fermentação láctica
- Quais são as implicações fisiológicas da compartimentação das vias metabólicas?
- Qual é a importância fisiológica de etapas enzimáticas irreversíveis?



- Em que compartimento intracelular ocorre a glicólise.
- Qual é a importância fisiológica da existência de compostos fosforilados, em meio intracelular.

### **15ª Aula – Oxidação do piruvato e ciclo do ácido cítrico**

#### **1. Conversão do piruvato em acetil-CoA**

Transporte do piruvato do citosol para compartimento mitocondrial. Conversão (irreversível) do piruvato em acetil CoA (por descarboxilação oxidativa) pelo complexo da desidrogenase pirúvica: 3 enzimas (desidrogenase pirúvica, dihidrolipoiltransacetilase, dihidrolipoildesi-drogenase) e as 5 coenzimas (tiamina pirofosfato, ácido lipóico, coenzima A, flavina-adenina-dinucleótido e nicotinamida-adenina-dinucleótido) intervenientes. Outras principais origens (monossacáridos e alguns aminoácidos) e destinos metabólicos (alanina, por transaminação; oxaloacetato, por carboxilação) do piruvato. Regulação alostérica do complexo da desidrogenase pirúvica (principais moduladores: piruvato, acetil-CoA, NAD, NADH, CoA).

#### **2. Acetil-CoA**

O acetil-CoA como forma de transferência do grupo acetilo. Importância da ligação tioéster do acetil-CoA (e do grupo acilo em geral) nas transferências de grupo e conteúdo energético. Outras proveniências metabólicas da acetil-CoA (como produto final da oxidação dos ácidos gordos e de alguns aminoácidos). Destinos principais do acetil-CoA (oxidação, no ciclo do ácido cítrico; síntese dos corpos cetónicos, ácidos gordos da cadeia longa, esteróis).

**3. Ciclo do ácido cítrico** (ou Ciclo de Krebs, ou ciclo do ácido tricarbóxico). Localização (mitocondrial), constituição (enzimas, substratos, produtos, metabolitos, coenzimas e cofactores) e objectivos metabólicos (ciclo anfíbólico: intervenção no catabolismo e na biossíntese). Principais finalidades do ciclo do ácido cítrico: oxidação completa do acetil-CoA e formação dos equivalentes redutores (NADH, FADH<sub>2</sub>). Produtos de oxidação de cada molécula de acetil-CoA: 2 moléculas de CO<sub>2</sub>, 1 molécula de GTP, 4 moléculas de equivalentes redutores – 3 NADH, 1 FADH<sub>2</sub>). Etapas da descarboxilação oxidativa e etapa de fosforilação associada ao substrato (com formação de GTP). O citrato como produto da primeira etapa do ciclo; outros destinos metabólicos do citrato (biossínteses redutoras dos lípidos). Regulação alostérica do ciclo ao nível das principais enzimas reguladoras: sintase do citrato (activadores: acetil-CoA e oxaloacetato; inibidores: ATP, succinil CoA), desidrogenase de isocítrica (activadores: ADP, AMP; inibidores: ATP, NADH) e desidrogenase  $\alpha$  cetoglutárica (activador: Ca<sup>2+</sup>, inibidores: ATP, GTP, NADH, succinil-CoA). Intermediários do ciclo na origem dos derivados metabólicos alternativos:  $\alpha$ -cetogluturato (conversão em glutamato, por redução ou transaminação), succinil-CoA (co-substrato iniciado da biossín-

tese das porfirinas), oxaloacetato (conversão em aspartato, por transaminação; em piruvato, por descarboxilação).

Após o ensino aprendizagem de cada um dos conceitos sobre respiração celular o discente deverá estar apto a compreender as seguintes questões:

- Quais são as implicações fisiológicas de compartimentação das vias metabólicas.
- Qual é a importância fisiológica das etapas enzimáticas irreversíveis.
- Em que compartimentos intracelulares ocorrem a glicólise, a transformação de piruvato em acetil-CoA, o ciclo de Krebs e a cadeia de transporte de electrões e a fosforilação oxidativa.
- O que é fosforilação a nível do substrato.
- Porque é que a fermentação láctica consome mais glicose que a glicólise.
- Como é transportado o piruvato entre a mitocôndria e o citoplasma.
- Quais são os destinos fisiológicos possíveis do piruvato.
- Quais são os destinos fisiológicos possíveis da acetil-CoA.
- Quais são as enzimas e ou coenzimas e grupos prostéticos do complexo da desidrogenase pirúvica.
- Quais são os potenciais redutores formados no ciclo dos ácidos tricarboxílicos.
- Quais são as etapas enzimáticas geradoras dos potenciais redutores no ciclo dos ácido tricarboxílicos.
- Quais são os tipos de reacções químicas que ocorrem no ciclo dos ácidos tricarboxílicos.

### **16ª e 17ª Aulas – Respiração celular**

**1. Mitocôndria** – Estrutura e actividades relevantes. A mitocôndria como compartimento funcional indispensável ao metabolismo aeróbio. Variação de número e forma mitocondriais respectivamente dependentes da capacidade metabólica aeróbia e do tipo celular. Membranas mitocondriais (externa e interna): diferenças de composição e funcionais. A selectividade da membrana interna quando à transferência de metabolitos, iões e nucleótidos entre a matriz e o espaço exterior.

**2. Reacções de oxidação-redução e variação energética** – Equação de Nerst e potencial de oxidação-redução. Variação da energia livre padrão, em função daquele potencial.

**3. Sistemas de transporte de electrões** – Transferência de electrões do citosol ou mitocôndria para o oxigénio. Conceito de oxidação-redução. Pares redox: oxidante (aceitador de electrões) -reductor (dador de electrões), oxidado-reduzido. Transferência simultânea de protões e electrões (átomos de hidrogénio) ou de electrões isolados.

**4. Cadeia de transporte de electrões** – Componentes proteicos: desidrogenases NAD-dependentes, desidrogenases flavínicas (FAD, FMN), proteínas ferro-enxôfre, citocromos (a, b, c). Componente lipofílico: coenzima Q. Organização sequencial. Inibição do transporte de electrões

**5. Fosforilação oxidativa** – Associação com o transporte de electrões, estados respiratórios mitocondriais (estado 3 e estado 4), controlo respiratório; F<sub>1</sub>-F<sub>0</sub>-ATPase e fluxo de protões, teoria químico-osmótica. Dissociação e inibição da fosforilação oxidativa.

**6. Derivados do oxigénio** – Formas reactivas do oxigénio (radicais livres), anião superóxido e radical hidroperóxido. Peróxido de hidrogénio. Enzimas protectoras: superóxido dismutase, catalase, peroxidase.

**7. Sistemas de transferência e translocases** – Sistemas de transporte ou translocases (de monocarboxilatos, dicarboxilatos, tricarboxilatos, fosfato, nucleótidos adenílicos, aspartato-glutamato, malato- $\gamma$  cetoglutarato). Sistemas de transferência de equivalentes redutores (STERS) (malato-aspartato e  $\alpha$ -glicerol -fosfato); importância das enzimas glutamato-oxaloacetato aminotransferase, malato- desidrogenase e  $\alpha$ -glicerol-fosfato desidrogenase (NAD ou FAD dependentes). Sistema de transporte do cálcio para a mitocôndria.

**Após o ensino aprendizagem de cada um dos conceitos sobre respiração celular o discente deverá estar apto a compreender as seguintes questões:**

- O que é fosforilação oxidativa
- Quais os intervenientes na fosforilação oxidativa
- Quais as condições celulares necessárias à ocorrência da fosforilação oxidativa
- O que é a cadeia de transporte de electrões
- De que modo o potencial redutor nas formas de NADH, FADH<sub>2</sub> é regenerado para as formas oxidadas
- Quais os constituintes moleculares da cadeia de transporte de electrões
- Qual a composição química dos constituintes moleculares da cadeia de transporte de electrões
- O que é a eficiência da fosforilação oxidativa
- Qual a acção bioquímica exercida pelos desacopladores da fosforilação oxidativa e do transporte de electrões
- Como é constituída a ATP sintase
- Como actua a valinomicina na fosforilação oxidativa
- Como actua a oligomicina na fosforilação oxidativa

## **18ª Aula – Interconversão dos monossacáridos e glicogenólise**

### **I – Glicogenólise**

A glicogenólise é um processo catabólico de formação de moléculas de glicose 6-fosfato a partir do polissacárido de glicose, o glicogénio. Nas células em que existe a enzima glicose 6 fosfatase (por exemplo, hepatocito, célula epitelial intestinal) o produto final da glicogenólise é a glicose. Pelo contrário, nas células musculares (dos músculos vermelhos e/ou brancos) onde a glicose 6-fosfatase não existe a glicose 6-fosfato é substrato gerador dos produtos finais ATP, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O (músculo vermelho) ou de lactato (músculo branco).

**1. Etapa da glicogenólise – Na primeira etapa da glicogenólise obtém-se** moléculas de glicose 1-fosfato pela acção sucessiva das enzimas glicogénio fosforilase, transferase e  $\alpha$  1,6-glicosidade, na molécula de glicogénio. Assim à fosforólise segue-se a desramificação. Na segunda etapa ocorre a transformação de glicose 1-fosfato em glicose 6-fosfato pela acção da fosfoglicomutase. A glicogénio – fosforilase é uma enzima reguladora da glicogenólise que apresenta comportamento cinético alostérico com estados conformacionais distintos, ambos regulados por modulação covalente (fosforilação/desfosforilação dos resíduos de serina). No centro activo apresenta o fosfato de piridoxal (forma activa da vitamina B6) como grupo prostético. A forma activa da enzima é a forma fosforilada (fosforilase a) e o estado desfosforilado é a forma inactiva (fosforilase b). A passagem da fosforilase b à fosforilase a faz-se na presença da glicogénio fosforilase cinase e ATP, enquanto a transformação inversa ocorre na presença da glicogénio fosforilase fosfatase.

**2. Glicogenoses** – A glicogenoses ou “doenças de depósitos do glicogénio” traduz deficiências hereditárias (recessivas) de algumas enzimas da glicogenólise e suas variantes. Também se englobam as deficiências da glicose 6-fosfatase e da  $\alpha$  1,4-glicosidade presente nos lisossomas.

### **II – Vias de interconversão dos monossacáridos**

Grande parte dos monossacáridos presentes no meio celular deriva da glicose. As interconversões implícitas têm objectivos energéticos e/ou visam a obtenção de compostos com número variável de carbonos para biossínteses específicas.

**1. Interconversão das principais hexoses** – Importância das reacções de fosforilação e isomerização (particularmente nos hepatocitos) na interconversão da manose e da frutose em intermediários glicolíticos: (a) Formação da manose 6-fosfato (pela hexocinase) e transformação em frutose 6-fosfato (pela fosfomanose-isomerase); (b) Formação de frutose 1-fosfato (frutocina-

se), clivagem em diidroxiacetona-fosfato e gliceraldeído (F1-P-aldolase) a transformação desta triose em gliceraldeído 3-fosfato (triose-cinase) ou glicerol 3-fosfato (glicerol desidrogenase + glicerolcinase), com oxidação em diidroxiacetona fosfato pela glicerolfosfato-desidrogenase). A oxidação de derivados da frutose em lactato pode ser designada frutólise. Formação da frutose a partir da glicose através da via do sorbitol (glicose → sorbitol → frutose). Em alternativa (células adiposas), fosforilação da frutose em frutose 6-fosfato (hexocinase), com aproveitamento idêntico ao da glicose. Importância de intermediários nucleótido-açúcares e da epimerização na interconversão galactose-glicose. Fosforilação da galactose em galactose 1-fosfato (galactocinase, formação da UDP-galactose (galactose-1-fosfato-uridil-transferase) e conversão em UDP-glicose (pela UDP-glicose-epimerase, com formação de glicogénio) ou libertação da glicose-1-fosfato (com transformação em glicose 6-fosfato e subsequente aproveitamento metabólico).

**2. Via das fosfopentoses (ou via das hexoses-monofosfato, via oxidativa do fosfogliconato ou via das pentoses)** – Ocorrência no citosol. Objectivos metabólicos principais: obtenção de poder redutor (NADPH), açúcares com 3 a 7 carbonos, aproveitamento energético. Duas fases: oxidativa – formação da ribose 5-fosfato e NADPH; não-oxidativa – interconversão de oses. Controlo metabólico da via pelo NADP (na fase oxidativa) e pela concentração de substratos (na fase não-oxidativa). Utilidade metabólica do NADPH (biossínteses redutoras) e de ribose 5-fosfato (síntese de nucleótidos e ácidos nucleicos). Variação do fluxo metabólico na via das fosfopentoses na dependência das necessidades em NADPH, ribose 5-fosfato e ATP.

Após o ensino aprendizagem de cada um dos conceitos sobre glicogénólise o discente deverá estar apto a compreender as seguintes questões:

- Qual é a utilidade metabólica da via das fosfopentoses
- Qual a ligação entre as vias glicolítica e a das fosfopentoses
- Quais são as condições fisiológicas que conduzem aos vários destinos dos intermediários da via das fosfopentoses
- Qual a utilização metabólica do NADPH
- Quais são as fases metabólicas da via das fosfopentoses
- Como é aproveitada metabolicamente a frutose
- Como é aproveitada metabolicamente a galactose em função da idade do organismo humano
- Como é obtida a glicose a partir do glicogénio

### **19ª e 20ª Aulas – Membranas celulares e transporte transmembranar**

**1) Membranas celulares** – As membranas celulares são agregados supramoleculares (associações plurimoleculares) de proteínas, lípidos e glícidos que contribuem para a integridade da célula e manutenção das respec-

tivas funções fisiológicas (permeabilidade, forma, deformabilidade, resistência mecânica, catálise, transporte, comunicação, transdução de energia, imunológicas e reconhecimento celular).

**2) Composição química e estrutura de membrana** – A proporção relativa dos teores em lípidos, proteínas e/ou glicídios varia consoante os tipos de célula e de organito (organito) intracelular. Por exemplo a concentração proteica da membrana interna mitocondrial é cerca de quatro vezes superior à existente na mielina. A concentração de colesterol também varia desde inexistente na membrana intramitocondrial até à relação de 0,7 com os fosfolípidos nas membranas plasmáticas. O modelo de “mosaico fluido” proposto à duas décadas por Singer e Nicholson descreve a estrutura membranar (disposição tridimensional das macromoléculas constituintes). Sumariamente e segundo os autores do modelo, os fosfolípidos dispõem-se em dupla camada, originando como que um “mar lipídico”, no qual se dispersam proteínas e colesterol. Os resíduos glicídicos (glicocálice) das glicoproteínas e dos glicolípidos estão orientados para o espaço extracelular. Os aminofosfolípidos (fosfatidilserina, PS e fosfatidiletanolamina, PE) e os fosfoinosítois (PI) dispõem-se na subcamada interna; a fosfatidilcolina (PC) e a esfingomielina (SM) localizam-se predominantemente na subcamada externa membranar. Em ambas as subcamadas inserem-se as moléculas de colesterol. Os valores da razão colesterol/fosfolípidos e das diferentes classes de fosfolípidos variam com (i) o tipo de membrana celular, (ii) dentro do mesmo tecido com a espécie animal e (iii) podem ser índices de normalidade celular. Nesta barreira lipídica semi-permeável inserem-se proteínas que, quando classificadas quanto à topografia, se subdividem em extrínsecas (anfitrópicas e/ou constituintes do citoesqueleto) e intrínsecas (cuja remoção exige desagregação molecular da dupla camada).

**3) Proteínas intrínsecas** – As proteínas intrínsecas podem atravessar a membrana de lado a lado, ou localizarem-se numa das subcamadas da membrana. Algumas proteínas monoméricas apresentam vários segmentos em  $\alpha$  hélice, que percorrem a membrana de lado a lado, tantas vezes quantas o número de  $\alpha$  hélice. As proteínas oligoméricas associam os seus monómeros de modo a constituírem canais de passagem a substâncias hidrofílicas e/ou iões.

**4) Proteínas anfitrópicas** – As proteínas anfitrópicas localizam-se preferencialmente no citoplasma, mas estabelecem ligações momentâneas com outras proteínas extrínsecas e/ou intrínsecas e/ou com os fosfolípidos da dupla camada, após chegada à célula de um “sinal”.

**5) Citoesqueleto** – O citoesqueleto é o conjunto de proteínas extrínsecas à subcamada interna, que participam nos seguintes processos celulares: deslocamento, movimento, manutenção de forma, migração e fixação dos orga-

nitos, contracção muscular e crescimento. As proteínas constituintes do citoesqueleto subdividem-se em microtúbulos (polímeros da proteína globular tubulina); microfilamento (polímero de proteína globular actina); filamentos intermediários (polímeros diferentes de monómeros de estrutura alongada); e filamentos de miosina (filamentos finos de polímeros de proteína alongada miosina).

**6) Glicocálice** – Os glicolípidos e glicoproteínas da membrana no conjunto formam o glicocálice que participa em processos de reconhecimento, intercomunicação e agregação celulares.

**7) Mobilidade lipídica/Fluidez lipídica** – As proteínas das membranas apresentam movimentos no plano das subcamadas (difusão lateral) e de rotação à volta do eixo molecular. Os movimentos lipídicos incluem a difusão lateral, translocação de uma subcamada para outra (flip-flop) e rotação horizontal e vertical. A mobilidade lipídica é função do grau de ordenamento das moléculas de fosfolípidos o qual depende do comprimento e do número de duplas ligações dos ácidos gordos. Um estado de gel corresponde a um elevado grau de ordenamento molecular ao contrário do estado líquido cristalino que traduz maior desordem e maior liberdade de movimentos dos fosfolípidos. Ao grau de mobilidade lipídica chama-se fluidez lipídica (inverso da microviscosidade) que para além dos factores apontados (grau de insaturação e comprimento da cadeia alifática dos ácidos gordos) depende (i) da razão dos valores de concentração colesterol/fosfolípido, e fosfolípido proteína e (ii) do grau de peroxidação lipídica e do da metilação proteica.

**8) Transporte Celular** – As membranas celulares condicionam a passagem de iões e moléculas entre os meios intra e extracelulares, de modo dependente ou não de energia química e/ou de gradiente electroquímico. Os vários tipos de processos de transporte resultam da selectiva permeabilidade membranar, na dependência da composição química e estrutural dos constituintes macromoleculares.

**9) Difusão passiva e facilitada** – A difusão passiva e a difusão facilitada são processos de transporte membranar que ocorrem a favor de um gradiente de concentrações que se estabelece entre os espaços intra e extracelulares. A difusão facilitada decorre na presença de uma proteína transmembranar monomérica ou oligomérica cuja topografia origina a formação de canais pelos quais passam substâncias polares e/ou iões. A variação conformacional proteica facilita o transporte de um para outro compartimento de uma ou pares de espécies químicas distintas. Por exemplo, se o transporte se efectua na mesma direcção para as substâncias A e B diz-se que se trata de um co-transporte. Ao contrário, se há influxo de A e efluxo de B mediado pela mesma proteína de transporte, trata-se de um contra-transporte. A variação da velocidade de difusão facilitada em função da concentração da espécie a ser transportada, segue experimentalmente uma curva hiperbólica.

**10) Transporte Activo** – O transporte activo de iões ou moléculas necessita de estar acoplado a formas de energia (na forma de ATP, luz, gradiente iónico, potencial de membrana). Exemplos de transdução de energia conformacional em energia química e consequente transporte de iões contra os respectivos gradientes de concentração, são a bomba de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e a bomba de cálcio. Ambas as proteínas apresentam domínios com actividade ATPásica e permitem respectivamente o fluxo de  $3 \text{Na}^+$  e o influxo de  $2\text{K}^+$

**5) Citoesqueleto** – O citoesqueleto é o conjunto de proteínas extrínsecas à subcamada por mole de ATP (bomba de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) e o influxo de  $2\text{Ca}^{2+}$ /mole ATP (bomba de cálcio no retículo endoplásmico da célula do músculo estriado).

Outro tipo de transporte activo (tipo secundário) é o que está dependente do gradiente iónico. Por exemplo, a entrada de glicose do lúmen intestinal para o citoplasma da célula epitelial, através da membrana apical, é acoplada ao influxo (a favor do gradiente concentração) dos iões  $\text{Na}^+$ , mediado por uma proteína.

**11) Receptores/Endocitose** – Receptores são proteínas cuja localização à superfície das membranas celulares facilita a ligação a ligandos (hormonas, lipoproteínas e outros compostos orgânicos). Após a formação do complexo receptor – ligando, ocorre uma sequência de variações de conformações proteicas, que origina a formação e/ou activação de substâncias actuantes no citoplasma (mensageiros intracelulares). Alguns receptores são internalizados por um processo vesicular, com posterior destruição ou inserção “de novo” na membrana. Após ligação entre o receptor (R) membranar e as lipoproteínas LDL inicia-se a endocitose (internalização de vesículas); há formação de uma vesícula com constituintes membranares que contém o receptor R e as LDL e que está revestida (“*coated pit*”) por uma proteína (clatrina). A vesícula endocítica no citoplasma inicia uma sequência de transformações: perda da clatrina; fusão com outra vesícula do tipo “desacoplador” que permite a saída dos receptores e reinserção destes na membrana; fusão com lisossomas e separação (degradação) dos constituintes moleculares das LDL (colesterol, ácidos gordos e ácidos aminados). A exocitose é um processo inverso da endocitose, em que as subcamadas da membrana vesicular estão invertidas em relação às das vesículas endocíticas.

**12) Pinocitose** – A pinocitose é um processo de endocitose não selectivo, isto é, há vesiculação com internalização apenas do ligando (mas não do receptor).

**13) Fagocitose** – Fagocitose é o processo de entrada de substâncias por “engolfamento” da membrana plasmática, em que a orientação topográfica das subcamadas vesiculares é semelhante à das vesículas exocíticas.



**14) Junção Intercelular** – As junções intercelulares são zonas de oclusão (constituídas por proteínas membranares) que se estabelecem entre o mesmo tipo de células, impedindo a comunicação celular e a passagem de moléculas e/ou iões.

**15) Intercomunicação celular, “gap junctions”** – As “gap junctions” são canais moleculares formados por proteínas oligoméricas transmembranares localizadas em duas células adjacentes. Este complexo supramolecular facilita a passagem rápida de substâncias entre duas células.

Após o ensino aprendizagem de cada um dos conceitos sobre membranas o discente deverá estar apto a compreender as seguintes questões:

- Quais são os constituintes moleculares das membranas celulares
- Quais as características estruturais das membranas celulares
- O que é a fluidez lipídica da membrana
- Quais os factores influentes na fluidez lipídica da membrana e como actuam
- Quais os tipos de processos de transporte de moléculas através da membrana celular
- O que é o transporte activo
- Como ocorre a transdução de energia química em energia conformacional na bomba de  $\text{Na}^+ \text{K}^+$
- Como ocorre a transdução de energia química em energia conformacional na bomba de  $\text{Ca}^{2+}$

## **21ª Aula – Catabolismo lipídico**

**1 – Funções e estruturas genéricas dos lípidos** – Nutrientes (triglicéridos, ácidos gordos), constituintes estruturais (fosfolípidos, glicolípidos), hormonas (esteroides, eicosanoides) ou mensageiros de acção hormonal (fosfolípidos e derivados). Revisão da estrutura dos ácidos gordos saturados e insaturados; numeração dos átomos de carbono, com destaque para o carbono  $\beta$  (beta) e carbono  $\Omega$  (ómega); ácidos gordos  $3\Omega$ ; posição das ligações duplas e configuração (cis e trans); ácidos gordos com número par e ímpar de carbonos. Importância da extensão da cadeia e grau de saturação nas propriedades dos ácidos gordos e lípidos: fluidez e ponto de fusão.

**2 – Hidrólise dos triglicéridos (Lipólise)** – Composição dos triglicéridos, formação de reservas lipídicas; células adiposas (ou adipocitos); vantagens energéticas das características não-polares dos triglicéridos. Hidrólise dos triglicéridos por lipases hormono-dependentes em ácidos gordos e glicerol. Aproveitamento metabólico do glicerol (fosforilação por glicerol-cinase em glicerol 3-fosfato) com transformação directa ou indirecta (após a transferência de átomos de hidrogénio para a cadeia respiratória) em diidroxiacetona-fosfato (e subsequente aproveitamento pela glicólise/gliconeogénese).

**3 – Catabolismo dos ácidos gordos** – Três fases: 1ª activação dos AG (ligação tioéster com a coenzima A) por acil-CoA sintetases (ou tiocinases) com recuperação de um grupo pirofosfato; 2º transporte (pela carnitina ou directa) das moléculas de acil-CoA do citosol, para a mitocôndria (intervenção de duas enzimas afins – carnitina-acil-transferase I e carnitina-acil-transferase II, e de uma translocase); 3ª:  $\beta$ -oxidação dos acil-CoA (com remoção de uma molécula de acetyl-CoA, NADH e FADH por cada ciclo enzimático), através de 4 etapas sucessivas por ciclo oxidativo: duas de oxidação (catalisadas por desidrogenases NAD e FAD dependentes), uma da hidratação (por hidrolase) e uma tiólise (por tiolase). Vantagens energéticas da oxidação dos ácidos gordos. Problemas específicos da oxidação dos ácidos insaturados (duas enzimas adicionais: isomerase e epimerase). O propionil-CoA como co-produto final da oxidação de ácidos gordos com número ímpar de carbonos.

**4 – Cetogénese** – Formação dos corpos cetónicos (nas mitocôndria dos hepatocitos): acetoacetato,  $\beta$ -hidroxibutirato e acetona (como produto da descarboxilação espontânea do acetoacetato). Formação do acetoacetato em três etapas a partir de três moléculas de acetyl CoA: intermediários: acetoacetyl-CoA e 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA); enzimas: (3-ceto) tiolase; HMG-CoA sintase, HMG-CoA-liase. Formação de  $\beta$ -hidroxibutirato por redução (desidrogenase NAD dependente) do acetoacetato.

**5 – Utilidade metabólica dos corpos cetónicos** – Consumo de acetoacetato e  $\beta$ -hidroxibutirato nos tecidos extra-hepáticos (sobretudo músculo e córtex renal), como material energético (e forma de transporte de grupos acetilo): oxidação da  $\beta$ -hidroxibutirato em acetoacetato; activação do acetoacetato em acetoacetyl-CoA (CoA transferase, a partir do succinil-CoA), e subsequente clivagem (por tiolase) em duas moléculas de acetyl-CoA. O acetoacetato é também regulador negativo da lipólise nos adipocitos. Em excesso, os corpos cetónicos acidificam o meio celular com prejuízo marcado das suas funções, sendo causa de uma situação designada **acidose cetónica** (frequente nos doentes com diabetes descompensada).

Após o ensino aprendizagem do catabolismo lipídico o discente deverá estar apto a compreender as seguintes questões:

- Quais as funções energéticas dos lipídios
- De que modo se obtém energia química a partir de um ácido gordo
- De que modo a carga energética celular influencia a  $\beta$  oxidação.
- De que modo o conteúdo intracelular de potencial redutor influencia a  $\beta$  oxidação.
- Quais as consequências metabólicas da deficiência da L- carnitina
- Quais as funções bioquímicas da L- carnitina
- De que modo o catabolismo lipídico está associado ao catabolismo glicídico

- Qual a variação da cetogênese com estado alimentado e de jejum
- Qual a utilidade metabólica da cetogênese
- Qual o compartimento celular onde ocorrem a  $\beta$  oxidação e a cetogênese.

### **22ª Aula – Catabolismo proteico**

**Renovação proteica** – As proteínas corporais estão em constante síntese e degradação (cerca de 1-2%, sobretudo de origem muscular). Balanço azotado positivo (por exemplo, no crescimento corporal das crianças e adolescência, na gravidez) e negativo (por exemplo, no jejum e envelhecimento). A degradação varia com o tipo de proteína e estado fisiológico, dependendo de proteases e peptidases (ATP dependentes ou independentes). Estão identificados três tipos de mecanismos, dois activos no citosol e o restante ocorrendo nos lisossomas. As proteínas intracelulares de meia-vida curtas e anormais são degradadas no citosol, após identificação e fixação a um oligopéptido, a ubiquitina, sendo a proteólise catalisada por um complexo protease 26S ATP-dependente; as proteínas da membrana, extracelulares ou de meia-vida longa são degradadas nos lisossomas por catepsinas (ATP-independentes) após endocitose. Uma terceira modalidade de degradação proteica extra-lisossomal envolve enzimas  $\text{Ca}^{2+}$ -dependentes. Cerca de 75% dos aminoácidos provenientes da degradação (proteica) são reutilizados na síntese proteica; os restantes participam na formação da ureia (grupos  $\text{NH}_2$ ) e formação de metabolitos anfibólicos (esqueleto carbonado). Na generalidade os aminoácidos não imediatamente incorporados na proteína, são degradados; é o que sucede também com os aminoácidos consumidos em excesso na alimentação.

**Proteólise intestinal e distribuição corporal dos aminoácidos** – Proteases e activação proteolítica de zimogénios ou pro-enzimas. Exemplos de enzimas digestivas do estômago (pepsinogénio  $\rightarrow$  pepsina), do pâncreas (quimotripsinogénio  $\rightarrow$  quimotripsina), tripsinogénio  $\rightarrow$  tripsina, procarboxipeptidase  $\rightarrow$  carboxipeptidase, proelastase  $\rightarrow$  elastase) e do intestino delgado (aminopeptidase). Reserva corporal dos aminoácidos. Origens (alimentação, degradação proteica, aminação de cetoácidos) e destinos (biossíntese proteica, derivados não-proteicos, oxidação metabólica do esqueleto carbonado, regeneração da glicose).

**Degradação e intertransformação dos ácidos aminados** – Formação da ureia a partir do grupo amina; aproveitamento do esqueleto carbonado em intermediários metabólicos (acetil-CoA, acetoacetil CoA, piruvato, intermediários do ciclo do ácido cítrico), com potencial formação de ácidos gordos, corpos cetónicos ou glicose. Acção das aminotransferases (ou transaminases) e desaminases na transferência dos grupos  $\alpha$ -aminados e subsequente conversão em iões amónio ( $\text{NH}_4^+$ ). Interconversão (reversível) dos aminoácidos

em cetoácidos pelos aminotransferases; intervenção do fosfato de piridoxal (como grupo prostético das aminotransferases). Importância do par  $\alpha$  -cetogluturato-glutamato. Remoção do grupo amina do glutamato pela glutamato-desidrogenase ( $\text{NAD}^+$  ou  $\text{NADP}^+$  dependente). Regulação alostérica da glutamato-desidrogenase (inibidores: GTP, ATP; activadores: GDP, ADP). Desaminação directa de alguns aminoácidos (serina e treonina) em  $\text{NH}_4^+$ , por desidratases específicas (com fosfato de piridoxal). Desaminação por aminoácido-oxidases (D e L), FAD ou FMN dependentes.

**Formação e transporte de amoníaco** – Formação nos hepatocitos (por desaminação oxidativa pela desidrogenase glutâmica e amino-oxidases) ou extra-hepática, e transporte para os hepatocitos (como glutamina ou alanina); formação de glutamina (do glutamato, por sintetase) e desaminação em glutamato (pela glutaminase); o amoníaco derivado da alanina, e ciclo da glicose-alanina.

**Ciclo da ureia e ureogénese** – A síntese (nos hepatocitos) da ureia, a partir do amoníaco (ou a respectiva forma protonada, o ião amónio) e outro grupo aminado adicional (do aspartato). Síntese do carbamoilfosfato pela sintetase específica, incorporando o primeiro grupo aminado. O carbamoil fosfato e a ornitina como iniciadores do ciclo, formando citrulina, na presença de ornitina-transcarbamoilase. Condensação da citrulina com o aspartato em arginosuccinato, por uma sintetase específica, e clivagem (pela arginino-succinase) em arginina e fumarato. Hidrolase da arginina (pela arginase) em ornitina e ureia. Características endergónicas do ciclo da ureia. Interrelação dos ciclos do ácido cítrico e da ureia (através de arginina-succinato  $\rightarrow$  fumarato e oxaloacetato  $\rightarrow$  aspartato).

**Hiperamoniemia** – Inconvenientes da acumulação do ião amónio nas células e em circulação (hiperamoniemia). A ausência congénita (parcial ou total) das enzimas do ciclo da ureia é causa de morte ou de atraso grave do desenvolvimento corporal e mental. A acumulação de  $\text{NH}_4^+$  no tecido nervoso, aumenta a utilização do  $\alpha$  -cetogluturato para a formação do glutamato pela desidrogenase glutâmica, e conversão deste em glutamina (por sintetase específica).

Após o ensino aprendizagem do catabolismo proteico o discente deverá estar apto a compreender as seguintes questões:

- De que modo a carga energética celular influencia o catabolismo proteico
- De que modo a formação da ureia está interligada com o ciclo dos ácidos cítricos
- De que modo o amoníaco é excretado
- De que modo a deficiência parcial ou total das enzimas do ciclo da ureia afectam o desenvolvimento corporal e mental
- Em que compartimentos celulares ocorre o ciclo da ureia
- Qual a utilidade metabólica do ciclo da glicose alanina

### **23ª e 24ª Aulas – Biossíntese dos lípidos (lipogénese) e transporte de lípidos no sangue**

#### **1. Síntese dos ácidos gordos**

(a) **Generalidades** – Local da síntese (citosol), intermediários (ligação a uma proteína transportadora de grupos acilo: ACP), enzimas (complexo da sintase dos ácidos gordos), alongamento das cadeias (pela adição sucessiva de unidades com dois carbonos, provenientes de um dador: malonil-CoA) até à formação do produto final (palmitato), na presença de poder redutor.

(b) **Etapas reguladoras da síntese dos ácidos gordos** – Formação do malonil-CoA a partir do acetil-CoA, pela acetil-CoA carboxilase (biotina-dependente), forma inactiva (monomérica) e activa (polimérica) da enzima e moduladores alostéricos: (activador:citrato, inactivador: palmitoil-CoA).

(c) **Complexo da sintase dos ácidos gordos** – Precusores (acetil-CoA ou propionil-CoA, malonil-CoA, NADPH), ACP, enzimas (acetil-transacilase, malonil-transacilase, cetoacil-sintase ou enzima condensante, ceto-acil-ACP, redutase, 3-hidroxiacilo-ACP desidratase, enoil-ACP-redutase); mecanismo de acção da estrutura dimérica e transformação do palmitoil-ACP em palmitato, por uma tioesterase.

(d) **Alongamento e dessaturação dos ácidos gordos (no retículo-endoplasmático)** – Alongamento por adição sucessiva das unidades com dois carbonos; derivados do malonil-CoA (transacilase), inclusão das ligações duplas na cadeia por oxidases (NADH ou NADPH dependentes). Ácidos gordos essenciais (linoleico, linolénico e araquidónico).

(e) **Origem do acetil-CoA e do poder redutor** – Transporte do acetil-CoA da mitocôndria para o citosol, sob a forma de citrato. A enzima de clivagem do citrato (ou citrato-liase) desdobra o citrato em oxaloacetato e acetil-CoA. Deste são formados os ácidos gordos. O oxaloacetato é reduzido a malato. Este metabolito ingressa na mitocôndria ou, no citosol, por acção da enzima málica, é descarboxilado em piruvato (que reentra na mitocôndria). Fontes de NADPH: etapas de conversão do malato em piruvato (enzima málica), via das fosfopentoses, (glicose-6-fosfato desidrogenase e fosfogliconato desidrogenase) e desidrogenase isocítrica NADP dependente, do citosol.

(f) **Controlo da síntese dos ácidos gordos** – Disponibilidade de substrato (acetil-CoA) e carga energética celular. Equilíbrio com a captação e oxidação dos ácidos gordos activados (pela inibição da carnitina-acil-transferase e  $\beta$ -oxidação). Estimulação (alostérica) da síntese pelo citrato, e inibição pelo palmitoil-CoA.

**2. Síntese dos triglicéridos (ou triacilglicerois)** – Formação do fosfatidato (ou diacilglicerol 3-fosfato) como intermediário comum dos fosfoglicéridos e triacilglicerol (precusores: glicerol 3-fosfato e acil-CoA; enzimas: gli-

cerolfosfato-aciltransferase I e II). Conversão do fosfatidato em diacilglicerol (por fosfatase específica) e acilação final em triacilglicerol (por diacilglicerol-aciltransferase): ambas as enzimas constituem um complexo enzimático (triacilglicerol-sintetase).

**3. Síntese dos fosfolípidos (ou fosfoglicéridos)** – Importância dos nucleótidos de citosina. Transformação do fosfatidato em citidina difosfato-diacilglicerol (CDP-diacilglicerol), e subsequente conjugação com uma base ou álcool polar (p.ex. serina → fosfatidilserina; inositol → fosfatidilinositol). Formação da fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina a partir da fosforilcolina e fosforiletanolamina, com incorporação sequencial de CMP e diacilglicerol. Outras vias da formação da fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina.

**4. Síntese dos esfingolípidos** – Precursores da esfingosina (palmitoil-CoA e serina) e acilação (formando a ceramida). A ceramida como intermediário comum da síntese da esfingomielina ou cerebrósidos/gangliósidos.

**5. Síntese do colesterol** – Precursor único: acetil-CoA. Formação em quadros etapas principais: síntese do mevalonato, isopreno activado, esqualeno e colesterol.

(a) **Formação do mevalonato** – a partir da 3-hidroxiacetilglutaril CoA (HMG-CoA) por reductase no citosol (NADPH dependente); função reguladora da reductase do HMG-CoA (inibido pelo colesterol exógeno e endógeno).

(b) **Formação do isopreno activado** – por fosforilação sucessiva e descarboxilação, a partir de mevalonato, é formado o isopentenilpirofosfato.

(c) **Síntese do esqualeno** – por condensação sucessiva de 6 unidades isoprénicas fosforiladas, derivadas do isopentenilpirofosfato, formando o geranylpirofosfato que se condensa rapidamente com outra molécula de isopentenilpirofosfato, originando o farnesilpirofosfato. Condensação redutora (8NADPH dependente) de duas moléculas de farnesilpirofosfato, originando o esqualeno.

(d) **Síntese do colesterol** – ciclização do esqualeno (NADPH e O<sub>2</sub> dependente) em lanosterol, por ciclase, e transformação final em colesterol.

**6. Principais derivados do colesterol** – Sais biliares (glicocolato, taurocolato), hormonas esteroides (prostagénios, glicocorticoides, mineralcorticoides, androgénios e estrogénios) e vitamina D (calcitriol). Esterificação do colesterol (no hepatocito) pelo ACAT (acil-CoA colesterol aciltransferase).

**Transporte de lípidos no sangue – lipoproteínas**

(a) **Formas de transporte lipídico no sangue** – Corpos cetónicos, ácidos gordos livres (ligados a moléculas de albumina) e lipoproteínas. Origens e destinos metabólicos.

**(b) Lipoproteínas** – Classes principais: quilomicra, quilomicra remanescentes, lipoproteínas de densidade muito baixa (*very low density lipoproteins*, VLDL), lipoproteínas de densidade intermédia (IDL- *intermediate density lipoproteins*), lipoproteínas de densidade baixa (LDL – *low density lipoproteins*), e lipoproteínas de densidade elevada (HDL – *high density lipoproteins*). Caracterização química dos componentes lipídicos e proteicos (apoproteínas). Principais tipos de apoproteínas identificadas e funções reconhecidas (ligação a receptores e/ou activação enzimática).

**(c) Lipoproteínas de transporte dos lípidos exógenos** – Os quilomicra (sintetizadas nos enterócitos) transportam lípidos de origem alimentar; do intestino para os tecidos extra-hepáticos (adiposo, glândula mamária, músculo cardíaco, músculo esquelético), pelo sistema linfático e depois sangue. A apoproteína Apo C-II dos quilomicra activa a lipoproteína-lipase presente na parede dos capilares daqueles tecidos, com subsequente hidrólise dos triglicéridos transportados, em ácidos gordos e glicerol. Os ácidos gordos são captados e utilizados pelos tecidos. Os quilomicra remanescentes, desprovidos da maior parte dos triglicéridos, são captados pelos hepatócitos e aí reciclados

**(d) Lipoproteínas de transporte de lípidos endógenos** – Os lípidos em excesso de origem alimentar ou sintetizados nos hepatócitos a partir de glícidos, são re-transportados para a circulação (sob a forma de VLDL), com destino ao tecido adiposo, que capta (por acção de lipoproteína – lipase, activada pelo Apo C-II) ácidos gordos dos triglicéridos. Na sequência desta hidrólise, as VLDL são convertidas em IDL, que se repartem (em partes sensivelmente iguais) com destino aos hepatócitos (para reconversão lipídica) ou se transformam em LDL. Estas lipoproteínas são dirigidas para células onde existem receptores que reconhecem a Apo B-100, e onde decorre a captação intracelular do colesterol e ésteres do colesterol transportados. A HDL, sintetizada nos hepatócitos, caracteriza-se por ter actividade enzimática (lecitina-colesterol aciltransferase, LCAT), pelo que o colesterol (das células senescentes, ou presentes nas LDL e IDL) é esterificado com fosfatidilcolina e nessa forma, reconduzido aos hepatócitos (ou, em parte às lipoproteínas de origem, IDL e LDL).

**(e) Captação da IDL** – Receptores específicos para a LDL e mecanismo de endocitose celular. Acção de clatrina, decomposição das LDL (pelos lisossomas) em aminoácidos, ácidos gordos e ésteres de colesterol. Intervenção de acil-CoA-colesterol aciltransferase (ACAT) na esterificação intracelular de colesterol. Influência da concentração do colesterol na síntese e actividade da redutase da HMG-CoA local (repressão e inibição), na síntese dos receptores da LDL (repressão), e actividade da ACAT (activação).

Após o ensino aprendizagem da lipogénese e da biossíntese dos lípidos (colesterol e lipoproteínas) o discente deverá estar apto a compreender as seguintes questões:

- De que modo é que é formado o acetil-CoA no citoplasma.
- Quais são os 3 processos de obtenção do potencial redutor NADPH.
- Como é constituído o complexo da sintase dos ácidos gordos.
- Como é regulada a síntese dos ácidos gordos.
- De que modo a síntese dos ácidos gordos está associada à lipólise em termos de ocorrência.
- Em que compartimentos celular ocorre a síntese dos ácidos gordos.
- De que modo a síntese dos ácidos gordos está dependente dos estados alimentado-jejum.
- De que modo é aproveitado o glicerol para a síntese dos lípidos.
- De que modo ocorre a síntese do diacilglicerol.
- De que modo se diferencia a síntese da fosfatidilserina da síntese da fosfatidilcolina.
- Quais são as utilidades metabólicas do colesterol.
- Como é regulada a síntese do colesterol.
- Onde é que ocorre a síntese do colesterol.
- Quais são as fontes de proveniência dos triacilgliceróis no tecido adiposo.
- Como pode ocorrer o aumento da LDL circulante.
- Quais são os destinos metabólicos dos constituintes das LDL.
- O que são lipoproteínas exógenas.
- O que são lipoproteínas endógenas.
- Como são formadas as LDL a partir das VLDL.

### **25ª Aula – Biossíntese dos hidratos de carbono** **– gliconeogénese, glicogénese**

**1. Estratégia de aproveitamento metabólico do esqueleto carbonado dos aminoácidos** – Gliconeogénese ou oxidação pelo ciclo de Krebs. Aminoácidos cetogénicos (puros e mistos) e glicogénicos.

**2. Gliconeogénese** – Via metabólica de formação da glicose a partir de precursores não-glicídicos (ex: lactato, piruvato, glicerol propionil-CoA, intermediários do ciclo de Krebs). Características endergónicas da via. Comparação com a via glicolítica; etapas irreversíveis (que diferenciam as duas vias entre si): transformação do piruvato em fosfoenolpiruvato (requer formação do oxaloacetato como intermediário e duas enzimas próprias: piruvato-carboxilase e fosfoenolpiruvato-carboxicinase); transformação da frutose 1,6-bisfosfato em frutose 6-fosfato (pela frutose 1,6-bisfosfatase); desfosforilação da glicose 6-fosfato (pela glicose 6-fosfatase). Distribuição da via entre mitocôndria e citosol.

- **(a) Caracterização da piruvato-carboxilase** – Propriedades covalentes e reguladores. Utilidade metabólica da biotina, no transporte de CO<sub>2</sub> (ião carbonato), como grupo prostético da enzima (biotina-enzima →



biotina-enzima-  $\text{CO}_2$ ). Dependência (activação) da enzima pelo acetil-CoA (ou outra molécula acil-CoA) nas mitocôndrias. Destino do oxaloacetato resultante (oxidação pelo ciclo de Krebs ou transformação em fosfoenolpiruvato).

- **(b) Formação do fosfoenolpiruvato** – Disponibilização do oxaloacetato no citosol (a partir do malato proveniente das mitocôndrias) e descarboxilação pela fosfoenolpiruvato-carboxicinase quando a sequência tem início no piruvato ou intermediário do ciclo de Krebs. O malato funciona como transporte de equivalentes redutores (NADH) da mitocôndria para o citosol, assegurando a transformação de 1,3-bisfosfoglicerato em gliceraldeído 3-fosfato. Sendo o lactato o precursor da glicose “de novo”, o NADH para aquela etapa é obtido na redução de lactato em piruvato, ainda no citosol. Neste caso, o oxaloacetato que resulta da carboxilação do piruvato é transformado directamente em fosfoenolpiruvato (FEP), ainda na mitocôndria, por uma isoenzima mitocondrial de FEP carboxicinase.
- **(c) Etapas catalisadas por hidrolases** – Frutose 1,6-bisfosfato e glicose 6-fosfatase. Localização da glicose-6-fosfatase (retículo-endoplasmático) e tipos celulares onde existe (fígado, cortex renal, células do epitélio intestinal).
- **(d) Ciclos de substratos ou ciclos fúteis** – (Interconversão catalisada por enzimas diferentes na glicólise e gliconeogénese) e **regulação recíproca** das duas vias (com destaque para a interconversão da frutose 6-fosfato em frutose 1,6-bisfosfato e vice-versa).
- **(e) Ciclo da glicose-lactato (ciclo de Cori) e ciclo da glicose-alanina** – Importância metabólica no aproveitamento do lactato e alanina produzidos em excesso, particularmente pelos eritrócitos (lactato) e músculo-esquelético em exercício anaeróbico (lactato e alanina).

**3. Regulação recíproca da gliconeogénese e glicólise** – Importância do Acetil-CoA como activador do piruvato carboxilase e, simultaneamente, inibidor do complexo da desidrogenase pirúvica. Na gliconeogénese, a frutose 1,6-bisfosfatase é activada pelo citrato e inibida pela AMP e F-2,6-P. Regulação da FEP carboxicinase (inibição pelo ADP). Regulação da glicólise e gliconeogénese hepática pela frutose 2,6-bisfosfato (modulador alostérico, que estimula a fosfofrutocinase-1 e inibe a frutose 1,6-bisfosfatase). Síntese da frutose 2,6-bisfosfato pela fosfofrutocinase -2 e fosforólise pela frutose 2,6-bisfosfatase (enzima “tandem”), sob acção hormonal (glicagina).

**4. Glicogénese** – Precursores (glicose 6-fosfato  $\rightarrow$  glicose 1-fosfato), forma activa da glicose (UDP-glicose), enzimas (fosfoglicomutase, UDP-glicose fosforilase, glicogénio sintase e enzima ramificante), condições favoráveis (excesso de glicose, excesso de capacidades energéticas celulares, estímulo hormonal pela insulina) e objectivos metabólicos (armazenamento de uma forma acessível e económica de reserva energética). Glicogénio resi-

dual e glicogenina. A fosforilação da glicogénio-sintase inactiva-a, diminuindo a glicogénese, enquanto a fosforilação da fosforilase de glicogénio induz a glicogenólise.

Após o ensino aprendizagem da biossíntese glicídica o discente deverá estar apto a compreender as seguintes questões:

- Quais são as situações metabólicas indutoras de gliconeogénese
- Quais são as etapas metabólicas que ocorrem dos substratos não glicídicos até à formação de fosfoenolpiruvato
- Quais são as situações metabólicas em que ocorre o ciclo de Cori
- Quais são as situações metabólicas em que ocorre a glicogénese
- Como é regulada a gliconeogénese
- Como é regulada a glicogénese

## **26ª Aula – Hormonas – generalidades sobre o sistema hormonal**

### **1. Hormonas e outros sinais de intercomunicação celular**

Classificação pela natureza química (hidrossolúveis: polipéptidos e derivados de ácidos aminados; esteroides e eicosanoides – lipossolúveis), raio de acção (autócrina, parácrina, endócrina) e local de interacção das hormonas (ligando) com as células-alvo (membranas plasmáticas ou meio intracelular), onde se ligam a receptores celulares específicos. Comparação com outros sinais de intercomunicação celular (factores de crescimento, neurotransmissores).

### **2. Integração hormonal**

Cascata hormonal, com início em sinais do sistema nervoso central, transmitidos através do hipotálamo e hipófise; trofinas da hipófise anterior; glândulas-alvo e/ou órgão – alvo. Factores de libertação (ou inibição) hormonal, sinais indutores e biorritmo hormonal. Controlo geral por retro-inibição do sistema hormonal (pela concentração de hormonas de glândulas-alvo e/ou actividade metabólica do tecido-alvo). Conceito de segundo-mensageiro de acção hormonal (nucleótidos cíclicos, derivados de fosfolípidos da membrana,  $Ca^{2+}$ ).

Após o ensino aprendizagem da acção hormonal (generalidades) o discente deverá estar apto a compreender as seguintes questões:

- O que são substâncias parácrinas, autócrinas e hormonas
- Quais são as propriedades bioquímicas das hormonas
- Quanto à natureza química como se classifica as hormonas
- Quais as repercussões bioquímicas da interacção hormona receptor citoplasmáticos ou membranar
- Como é efectuada a transdução do complexo hormona receptor membrana
- Quais são os mensageiros intracelulares

**27ª Aula – Glicagina e epinefrina, interacção celular,  
acção metabólica, controlo da glicemia e prioridades metabólicas**

**1. Acção metabólica da glicagina** – Estimulo (hipoglicémia) para a secreção pelas células  $\alpha$  dos ilhéus de Langerhans. Acção prioritária nos hepatocitos (visando a normalização da glicémia): estimula a glicogenólise, inibe a glicogénese; inibe a glicólise e activa a gliconeogénese. Inibe a síntese dos ácidos gordos pelo fígado (por diminuir a formação do piruvato e inibir a da acetil-CoA carboxilase) e activa a lipólise no adipócito. A activação enzimática pela glicagina decorre por modulação covalente (fosforilação) por proteínas-cinase dependentes do AMP cíclico.

**2. Acção metabólica da epinefrina** – Secreção pela medula supra-renal estimulada pelo stress. Acção prioritária nos miócitos, estimula a glicogenólise (também hepática) e inibe o influxo da glicose; consumo preferencial dos ácidos gordos, na sequência da estimulação da lipólise. Estimula a secreção da glicagina e inibe a da insulina. Mecanismo de acção semelhante ao da glicagina (activação enzimática por fosforilação, dependente da proteína-cinase e AMP cíclico).

**3. Controlo da glicemia** – Dependência primordial do hepatócito. Formação da glicose-6-fosfato pela glicocinase em hiperglicemia (pós-prandial). Estimulação de secreção da glicagina (e inibição da insulina) em hipoglicémia ou inibição da secreção de glicagina e estimulação da insulina em hiperglicemia. Nestas condições, a insulina estimula a glicogénese hepática, e inibe a glicogenólise (a par da acção directa da glicose, como modulador da fosforilase a do glicogénio), favorece a lipogénese no tecido adiposo. Em hipoglicémia, é estimulada a glicogenólise e gliconeogénese (por acção da glicagina), e diminui o consumo de glicose pelos miócitos e hepatócitos (devido à diminuição dos níveis de insulina) e é estimulada a utilização dos ácidos gordos.

**4. Prioridades metabólicas** – Situações de hiperglicemia e hipoglicémia. Resposta celular a estímulos hormonais e efeitos exercidos na actividade de enzimas-chave (por modulação alostérica ou covalente) ou na síntese/degradação dessas enzimas. Preservação da glicose disponível e das reservas proteicas, com utilização preferencial das reservas lipídicas (ácidos gordos/corpos cetónicos).

Após o ensino/aprendizagem da acção hormonal da glicagina e da epinefrina o discente deverá estar apto a compreender as seguintes questões:

- O que são e onde são produzidas a glicagina e a epinefrina.
- O que são receptores  $\alpha$  e  $\beta$  adrenérgicos.
- Como se efectua a transdução da glicagina.

- Como se efectua a transdução da epinefrina a nível do músculo-esquelético e do coração.
- Como se efectua a transdução da epinefrina a nível do hepatócito e do adipocito.

## **2.<sup>a</sup> Parte**

### **Disciplina de Bioquímica Fisiológica**

- Docentes
  
- Programa e Conteúdos
  - Anolectivo de 1994/95
  - Anolectivo de 2004/05



## 2 – Disciplina de bioquímica fisiológica\*

### 2.1 – Lista de docentes

DOCENTES DE BIOQUÍMICA FISIOLÓGICA (1994 A 2005)		
Nome	Cargo/ Função Docente	Anos lectivos
J. Martins e Silva	Regente	1994/95, 1995/96, 1996/97, 1997/98, 1998/99, 1999/00, 2000/01, 2001/02, 2002/03, 2003/04, 2004/05
Henrique Sobral do Rosário	Assistente estagiário	1993/94, 1994/95, 1995/96, 1996/97, 1997/98, 1998/99, 1999/00
Ana Maria F. Lacerda	Assistente convidado	1996/97, 1997/98, 1998/99
Carlos Santos Moreira	Assistente convidado	1995/96, 1996/97, 1997/98, 1998/99, 1999/00
Helena Matos Canhão	Assistente convidado	1997/98, 1998/99, 1999/00, 2000/01, 2001/02, 2002/03, 2003/04, 2004/05
Zélia Costa e Silva	Assistente	1994/95, 1995/96,
João Nascimento Janeiro	Monitor Assistente convidado	1993/94, 1994/95, 1995/96, 1996/97, 1998/99, 1999/00, 2000/01, 2001/02, 2002/03, 2003/04, 2004/05
Jorge Ramos Lima	Monitor Assistente convidado	1993/94, 1994/95, 1995/96, 1996/97, 1997/98, 1998/99, 1999/00, 2000/01, 2001/02, 2002/03, 2003/04
Luís Morais Sargento	Monitor Assistente convidado	1993/92, 1993/94, 1994/95, 1995/96, 1996/97, 1997/98, 1998/99, 1999/00, 2000/01
Sandra Maurício Hilário	Monitor Assistente convidado	1998/99, 1999/00, 2000/01, 2001/02, 2002/03, 2003/04, 2004/05
Leyra Zabala	Assistente estagiário Assistente convidado	1996/97, 1997/97, 1998/99, 1999/00, 2000/01, 2001/02, 2002/03, 2003/04, 2004/05
João Martin Martins	Prof. Auxiliar convidado	2001/02, 2002/03, 2003/04, 2004/05
Sónia Dias/Sousa	Assistente convidado	2001/02, 2002/03, 2003/04, 2004/05
Susana Capela	Assistente convidado	2004/05

## 2.2 – PROGRAMAS DE ESTUDO

### 2.2.1 – Ano lectivo de 1994/95

#### Programa e Conteúdos

##### I – Objectivos gerais

1. Desenvolvimento dos conhecimentos, atitudes e aptidões adquiridas em Bioquímica.
2. Integração progressiva dos conhecimentos de Bioquímica Celular numa perspectiva global, baseada no organismo humano funcional.
3. Desenvolvimento de capacidades de auto-aprendizagem e de sentido crítico sobre o conteúdo do programa.
4. Possibilitar a compreensão de anomalias bioquímicas com repercussão clínica.
5. Possibilitar a cada aluno que frequentar com aproveitamento o curso de Química Fisiológica, a obtenção dos seguintes resultados:
  - a) Conhecimentos exactos sobre a matéria fundamental do programa estabelecido;
  - b) Capacidade de compreender e interpretar situações novas relacionadas com a matéria ensinada;
  - c) Capacidade de auto-aprendizagem, de pesquisa e selecção crítica de novas informações;
  - d) Capacidade de análise e de síntese de conhecimentos em situações relacionadas com a matéria ensinada;
  - e) Capacidade de interpretar resultados laboratoriais adquiridos em acções experimentais incluídas no programa;
  - f) Aquisição de rigor e precisão no desempenho laboratorial;
  - g) Percepção do método experimental em que se baseia a Bioquímica/Química Fisiológica, como fundamento da aprendizagem e aplicação prática da ciência médica.

##### II – Metodologia do ensino/aprendizagem

**Conhecimentos de base** – O discente é convidado a rever os conteúdos programáticos da Bioquímica Celular.

**Plano Geral do Curso** – O ensino de Química Fisiológica é subdividido em quatro actividades gerais: Aulas Teóricas (T), Aulas Teórico-Práticas (TP), Aulas Práticas (P) e Seminários (S).



1. Aulas Teóricas – Aulas plenárias, com frequência voluntária. Duração máxima de 1 hora cada. Perspectivam a matéria na generalidade. Os pormenores devem ser obtidos nos livros e textos aconselhados. São publicados sumários com palavras-chave para cada aula.

2. Aulas teórico-práticas – Frequência obrigatória (2/3 do total) Duração máxima: 2h cada. Destinam-se a grupos fixos de 20-25 alunos, orientados por um docente, para a resolução de problemas pré-anunciados, debate de matéria e esclarecimento de dúvidas de aprendizagem.

3. Aulas práticas – Frequência obrigatória (2/3 do total). Duração máxima: 2h cada. Têm início no 2º semestre. Destinam-se aos mesmos módulos das TP, para desenvolvimento experimental de parte da matéria.

4. Seminários – Espaços criados no programa para debate global de temáticas com interpretação multidisciplinar e aplicação clínica. Duração máxima: 5h cada, distribuídas por 3 dias.

### III – Escolaridade

O ensino de Química Fisiológica reparte-se por dois semestres num total de 23 semanas úteis (9 no 1º semestre e 14 no 2º semestre), equivalendo a cerca de 133h de escolaridade total, aproximadamente, com a seguinte distribuição parcelar:

	1º Semestre		2º Semestre	
		(horas)		(horas)
Aulas teóricas	24	(24)	31	(31h)
Aulas Teórico-práticas	7	(14)	10	(20h)
Aulas práticas	0	(0)	12	(24h)
Seminários	0	(0)	4	(20h)
		(38h)		(95h)

As Aulas Teóricas têm lugar às 2.<sup>as</sup>, 4.<sup>as</sup> e 6.<sup>as</sup> f.<sup>as</sup> das 11 às 12h. Os Seminários decorrem nos mesmos dias podendo a aula de 6.<sup>a</sup> f decorrer noutra espaço horário mais conveniente. As Aulas Teórico-Práticas (8 turmas) decorrem às 2.<sup>as</sup>, 3.<sup>as</sup>, 5.<sup>as</sup> e 6.<sup>as</sup> f.<sup>as</sup> das 15 às 17h ou das 17h às 19h. As Aulas Práticas (8 turmas) decorrerão preferencialmente nas manhãs de 2.<sup>a</sup> a 6.<sup>a</sup> f.

### IV – Calendário

É o seguinte o Calendário oficial previsto para Química Fisiológica:

#### 1º Semestre

Início das Aulas	– 31/Out. 1994
Férias do Natal	– 22 Dez. a 4 Jan.
* Época de Exames (1ª parte)	– 16 Jan. a 24 Fev.

**2º Semestre**

Reinício das Aulas	– 27 Fev. 1995
Férias de Páscoa	– 10 Abril a 21 Abril
* Época de Exames (2ª parte)	– 19 Junho a 31 Junho
* <b>Exames de 2ª época:</b>	1 Setembro a 29 Setembro
(* Data a marcar com a Comissão de Curso)	

**V – Avaliação**

Para concluir com aproveitamento a disciplina, cada aluno necessita de obter:

(a) Frequência nas aulas teórico-práticas e práticas (no mínimo de 2/3 do total em cada)

(b) Classificação final igual ou superior a 10 valores

Não tendo frequência (por faltas), o aluno perde o direito a ser avaliado no mesmo ano lectivo, tendo de se inscrever e frequentar a disciplina em ano lectivo seguinte.

Os alunos inscritos pela primeira vez ou repetentes em Química Fisiológica poderão obter aproveitamento através de Avaliação Continuada (1).

Os alunos noutras condições e/ou que não obtiverem aproveitamento na Avaliação Continuada terão de realizar Exame Final Único (2) ou Exame Repartido por 2 semestres indissociáveis (3).

**(1) Avaliação Continuada (AC)**

Inclui quatro tipos de participação, indissociáveis: (i) Avaliação Teórico-Prática; (ii) Avaliação Prática; (iii) Seminários; (iv) Prova Final.

(i) Avaliação Teórico-Prática (TP) – Os alunos serão solicitados a responder por escrito a algumas perguntas da matéria, nos minutos finais de algumas das aulas teórico-práticas. Os resultados obtidos contam para a classificação global das aulas TP; para esta classificação conta também a apreciação do docente quanto às seguintes qualidades e capacidades reveladas pelo aluno nessa aula: assiduidade, pontualidade, interesse, qualidade da participação. Contam para a classificação as 8 melhores das 10 avaliações parcelares realizadas; a apreciação subjectiva dos docentes constitui a 9ª classificação do conjunto, para cálculo da média das TP.

(ii) Avaliação Prática (P) – Serão apreciadas pelos docentes as seguintes qualidades e capacidades individuais: interesse, conhecimentos, assiduidade, pontualidade, desenvolvimento de execução, rigor e clareza da exposição de resultados. Esta apreciação (constante) será completada pela aferição dos problemas realizados durante as aulas e relatório final, num total de 4 avaliações.

(iii) Seminários (S) – Incluem temáticas afins (1º a 3º), a desenvolver com base em problemas seleccionados. O desempenho individual será aferi-

do em uma das TP seguintes. O 4º Seminário é reservado para apresentação e discussão dos trabalhos realizados nas aulas P.

(iv) Prova Final (F) – A prova final tem lugar na época de exames de cada semestre. Inclui parte escrita que é eliminatória (da AC) para classificações inferiores a 8 valores. São admitidos à Prova Final de cada semestre os alunos que tenham obtido 10 ou mais valores em cada uma das provas anteriores (i a iii). Os alunos com 8 a 10 valores farão prova oral. É exigido aproveitamento global igual ou superior a 10 valores no 1º semestre para a realização do 2º semestre na modalidade de AC.

(v) Classificação Final – A classificação final na AC resulta do somatório da pontuação (corrigida) atribuída aos diferentes tipos de provas de avaliação realizadas em cada semestre, a dividir pelo total de factores de ponderação. Têm aproveitamento na AC os alunos que obtiverem classificação igual ou superior a 10 (dez) valores, em cada um dos semestros.

Serão utilizados os seguintes factores de ponderação: TP = 3,0; P = 2,5; S = 1,0; F = 4,0

Factor de ponderação de Semestre: 1º Semestre = 1; 2º Semestre = 2.

Exemplo:

### 1º Semestre

Média da classificação nas TP = 12

Prova Final = 14

$$\text{Sub-total 1} = \frac{(12 \times 3) + 14 \times 4,0}{7} = 13,14$$

### 2º Semestre

Média da classificação nas TP = 14

Média da classificação nas P = 15

Média da classificação nos S = 16

Prova final = 14

$$\text{Sub-total 2} = \frac{(14 \times 3,0) + (15 \times 2,5) + (16 \times 1,0) + (14 \times 4,0)}{10,5} = 14,43$$

$$\text{Total} = \frac{1 \times (\text{Sub-total 1}) + 2 \times (\text{Sub-total 2})}{3} = \frac{13,14 + 2 \times (14,43)}{3} = 14,0 \text{ valores}$$

## (2) Exame Final Único (EFU)

Reservado para os alunos nas seguintes condições:

- (a) Que tenham menos de 10 valores numa das avaliações do conjunto (i a v)
- (b) Que desistam da AC antes da última prova final F

O EFU pode ser realizado em qualquer das duas épocas de exame (Junho-Julho e/ou Setembro) Podem inscrever-se unicamente os alunos que obtiverem frequência no mesmo ano lectivo ou anteriores, e nele não tenham conseguido aproveitamento.

O exame final único inclui (I) prova escrita) e (ii) prova oral.

(i) Prova escrita – Abrange toda a matéria do programa. Não são incluídas questões ou problemas específicos das aulas práticas e seminários.

(ii) Prova oral – Completa a prova escrita. São admitidos a exame oral os alunos com pontuação mínima de 8 valores na parte escrita. Classificações inferiores excluem de exame. A prova oral é facultativa para classificações iguais ou superiores a 12 valores.

(iii) Classificação final – Resulta da ponderação do conjunto das provas (escrita e oral) do EFU.

#### **Observações.**

- O Exame Final pode ainda ser repetido numa época imediata para melhoria de nota, mediante inscrição na Secretaria da Faculdade.
- Os alunos que obtiverem aproveitamento na AC e desejarem melhoria de nota, apenas poderão fazê-lo numa 2ª época de exames ou ano lectivo seguinte, como Exame Final Único.
- Não podem inscrever-se no exame da 1ª época os alunos que, tendo realizado a prova final de AC, não tenham nela obtido aproveitamento.

#### **(3) Exame Repartido por 2 Semestres (válido apenas para a 1ª época)**

Cada avaliação inclui prova escrita e oral, que abrangem toda a matéria anterior. Não há eliminação da matéria do 1º semestre, quando da realização do 2º semestre. É exigido aproveitamento igual ou superior a 10 valores no 1º semestre para a admissão a prova do 2º semestre. Os alunos com classificação inferior a 8 valores no 2º semestre perdem o direito a realização ou continuação do exame. Alunos com classificação entre 8 a 10 no 1º semestre ou 8 a 12 no 2º semestre terão de realizar prova oral em cada um dos respectivos semestres. É exigido aproveitamento global igual ou superior a 10 valores para a obtenção de aproveitamento final. A classificação final tem em conta os factores de ponderação estabelecidos para cada semestre.

### **VI – Programa geral previsto do ensino teórico**

#### **1.º Semestre**

##### **Aulas nº Temas**

1 Abertura

##### **Nutrição**

2- 5 Nutrientes na dieta e ingestão

- 7- 9 Revisão do aproveitamento metabólico dos nutrientes
- 10-11 Défice e excesso energético. Consequências

**Metabolismo Especial**

- 12 Metabolismo dos nucleótidos púricos e pirimídicos
- 13-14 Conversão dos aminoácidos em produtos especializados
- 15 Síntese, catabolismo, renovação proteica
- 16-17 Integração e regulação hormonal do metabolismo
- 18-19 Adaptação geral do metabolismo a estímulos exteriores e desregulações hormonais

**Metabolismo Hepático**

- 20 Síntese e degradação das porfirinas e do heme
- 21 Metabolismo e excreção da bilirrubina e sais biliares
- 22 Mecanismos de destoxificação
- 23 Adaptação do metabolismo ao jejum e à alimentação
- 24 Adaptação a estímulos/agressões

**2.º Semestre****Líquidos e Compartimentos Corporais**

- 25 Líquidos orgânicos
- 26 Compartimentos
- 27-28 Regulação do pH e equilíbrio ácido-base

**Sangue**

- 29-40 Componentes e actividades específicas
- 41-42 Interação sangue – parede vascular
- 43 Interação sangue -tecidos extra- vasculares

**Metabolismo do Músculo**

- 44 Metabolismo dos diversos tipos de músculo
- 45 Adaptação metabólica do músculo esquelético ao exercício físico
- 46 Fadiga muscular e recuperação metabólica

**Metabolismo do Osso e das Articulações**

- 47-48 Metabolismo do cálcio e fósforo – mecanismos hormonais
- 49 Compreensão do metabolismo e tecido articular

**Metabolismo do Tecido Nervoso**

- 50-51 Metabolismo e funções
- 52 Bioquímica da visão
- 53 Bioquímica da memória
- 54 Bioquímica da dor

**VII – Programa geral previsto das aulas teórico-práticas****Aulas n° Temas****1.º Semestre**

- 1- 3 Revisão do metabolismo geral  
 4 Problemas sobre nutrição  
 5- 6 Metabolismo especial  
 7 Mecanismos de acção hormonal

**2.º Semestre**

- 8 Metabolismo da bilirrubina  
 9 Metabolismo do etanol  
 10 Adaptação do metabolismo hepático a estímulos agressores  
 11 pH e equilíbrio ácido-base  
 12 Metabolismo do ferro  
 13 Função respiratória do sangue  
 14 Bioquímica dos neutrófilos pós-activação  
 15 Mecanismos de coagulação e hemólise  
 16 Músculo-esquelético e exercício  
 17 Metabolismo ósseo

**VIII – Programa previsto das aulas práticas**

Assunto base: Determinar e interpretar bioquimicamente alguns parâmetros eventualmente alterados em doentes com Diabetes Mellitus.

**Aula n° Sumário**

- 1ª AP Sangue com e sem anticoagulante Separação dos constituintes sanguíneos  
 Realização de esfregaços para coloração e observação microscópica  
 Determinação da hemoglobina e hematócrito
- 2ª AP Execução da electroforese das proteínas no soro e  
 Concentração proteica pelo método do biureto
- 3ª AP Determinação da concentração das proteínas no plasma.  
 Determinação da concentração das proteínas de fase aguda/  
 /crónica ( $\alpha$ 1-antitripsina e fibrinogénio) por Imunodifusão.
- 4ª AP Determinação electroforética das lipoproteínas no soro  
 Determinação da viscosidade sérica e plasmática
- 5ª AP Curva de dissociação da oxi-hemoglobina e determinação da  
 P50  
 Determinação da hemoglobina glicosilada
- 6ª e 7ª AP Discussão de Relatório

- 8ª AP Determinação do perfil proteico da membrana eritrocitária  
9ª AP Agregação plaquetária  
10ª AP Sistema anti-oxidante leucocitário  
11ª e 12ª AP Preparação dos resultados para apresentação em “poster”

### **IX – Programa dos seminários**

- 1º (6 a 10 Março) Perfil bioquímico das Hepatopatias  
2º (3 a 7 Abril) Perfil bioquímico da Insuficiência renal crónica  
3º (22 a 26 Maio) Perfil bioquímico da Trombose  
4º (16 Junho) Resultados experimentais

### **X – Textos de apoio aconselhados**

Consideram-se mais adequados para a aprendizagem pretendida os seguintes tratados:

#### **Primeira escolha**

– Textbook of Biochemistry (3ª edição), por Thomas M. Devlin (Ed: John Wiley & Sons, New York), 1992

#### **Segunda escolha**

– Harper’s Biochemistry (23ª edição), por Robert K Murray, Daryl K Granner, Peter A Mayes, Victor W Rodwell (Ed: Prentice-Hall International Inc), 1993

---

## **Sumários das Aulas Teóricas**

### **1ª Aula – Abertura do curso**

Apresentação dos objectivos educacionais, escolaridade, calendário, metodologias, processos de avaliação, conteúdos e textos aconselhados.

### **2ª Aula – Digestão e absorção de nutrientes**

**1. Digestão** – Locais onde ocorre. Cavidade oral – amilase e lipase. Estômago – suco gástrico, formação de ácido clorídrico (acção da anidrase carbónica e ATPase H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>); pepsinogénio e pepsina; renina; lipase. Intestino – quimo; bílis (composição e propriedades), secreção pancreática (tripsinogénio e tripsina; quimotripsinogénio e quimotripsina; proelastase e elastase; procarboxipeptidases e carboxipeptidases; amilase, lipase, colipase, colesterol-esterase; ribonucleases e desoxiribonucleases; fosfolipase A2), secreção entérica (aminopeptidase e dipeptidases; oligossacaridasas e dissacaridasas; fosfatase; fosfolipasas; polinucleotidasas; nucleosidasas). Principais produtos de digestão: aminoácidos, monossacáridos, glicerol, ácidos gordos, monoacilglicéris, nucleósidos, bases azotadas, pentoses-fosfato.

## **2. Absorção intestinal de nutrientes**

Principais locais onde ocorre: jejuno e ileon. Glicídios – monossacáridos (glicose, frutose, manose, galactose, pentoses), sistemas de transporte (activo: dependente e independente do Na<sup>+</sup>; difusão simples). Lípídios – ácidos gordos, 2-monoacilglicerol, 1-monoacilglicerol, lisofosfolípidos, colesterol. Proteínas – L-aminoácidos, dipéptidos. Sistema de transporte (activo: dependente e independente de Na<sup>+</sup>).

## **3. Produtos de putrefacção e fermentação**

Acção da flora bacteriana no intestino grosso. Decomposição dos fosfolípidos, descarboxilação dos aminoácidos (produção de aminas tóxicas – vasoconstritores), outras substâncias (indois, mercaptans, amoníaco).

---

## **3ª e 4ª Aulas – Digestão e absorção de nutrientes**

**1. Secreções do tubo digestivo** – Secretagogos (principais: neurotransmissores, aminas biogénicas, hormonas peptídicas). Mecanismo regulador das secreções: receptores na superfície contraluminal e vias principais (fosfolipase C e adenilato-ciclase). Hormonas gastrointestinais principais: gastrina, colecistocinina e secretina. Formação e exocitose das secreções.

**2. Transporte epitelial** – Revisão sobre mecanismos de transporte: difusão simples, transporte mediado e transporte activo; co-transporte, (importador) contra-transporte (antiportador), uni portador; electrogénico ou neutro. Principais etapas do transporte de moléculas de solutos (reconhecimento, transporte, libertação e recuperação). Formas de energia disponíveis para o transporte activo: hidrólise de ATP e gradiente electroquímico iónico. Transporte epitelial, (transcelular ou paracelular) dos solutos electrolíticos. Diferenças entre as superfícies luminal e contraluminal, com referência ao sistema de transporte local. Secreções de HCl pelas células parietais gástricas. Absorção de NaCl e NaHCO<sub>3</sub> pelas células intestinais. Absorção de NaCl pelo epitélio do intestino delgado e grosso. Sistemas de transporte (activo e passivo) que participam na secreção e absorção de solutos no tubo digestivo.

**3. Revisão breve sobre o destino metabólico dos principais nutrientes absorvidos** – Referência à catabolização hepática da glicose, aminoácidos e ácidos gordos. Outro aproveitamento metabólico daqueles nutrientes: reservas de glicogénio, lipídicas e renovação proteica.

---



### **5ª Aula – Generalidades sobre nutrição**

**Nutrição** (Utilização dos alimentos pelos organismos vivos), Nutriente (essencial e disponível). Complexidade e meios de estudo: difíceis no homem (variabilidade, hábitos, alterações fisiopatológicas, polivariáveis); o recurso à experimentação animal.

Noção de desnutrição, sobre-nutrição e nutrição equilibrada. Conteúdo energético dos alimentos (Kcal). Equilíbrio entre consumo e gasto calórico. Metabolismo basal (energia consumida em repouso). Principais factores determinantes do consumo energético (superfície corporal, idade, sexo e actividade física). Alimentos e tipo alimentar. Valores dietéticos recomendados. Alterações induzidas pelo crescimento, dimensões corporais, gravidez, lactação, doenças, exercício físico.

Proteínas: aminoácidos essenciais (lisina, leucina, isoleucina, valina, metionina, fenilalanina, triptofano, treonina, histidina), proteínas de primeira qualidade, balanço de azoto; funções proteicas; necessidades proteicas na dieta; malnutrição proteica-calórica (Marasmo e Kwarshiorkor); excesso proteico-calórico. Glicídios na dieta: funções metabólicas principais; intolerância alimentar aos glicídios (deficiência em lactase intestinal, diabetes mel-litus). Lípidos na dieta; funções metabólicas principais (fonte energética, componente estrutural); ácidos gordos essenciais (linoleico, linolénico, araquidónico). Fibras (Tipos e funções específicas). Composição dietética equilibrada.

---

### **6ª Aula – Micronutrientes: (1) vitaminas lipossolúveis**

**1. Micronutrientes** – Caracterização: Vitaminas e minerais. Vitaminas hidrossolúveis (complexo B e vit C) e lipossolúveis (A, D, E, K). Caracterização. Absorção, depósito e excreção.

**2. Vitamina A** – Precursores (B-caroteroides) e formas activas (retinal, retinol e ácido retinoico). Alimentos em que é mais abundante. Transformação intestinal do  $\beta$  caroteno em retinal (dioxigenase), e deste aldeído em retinol (reductase). Ésteres de retinol (em circulação e depósito). Retinil-fosfato (dador de grupos glicosilo para a síntese de glicoproteínas e mucopolissacáridos). Mecanismo de acção do retinol e ácido retinoico (tipo hormona esteroide) Principais acções biológicas (manutenção do tecido epitelial) e sinais de deficiência (cutâneos, hematológicos, imunitários e visuais). Toxicidade.

**3. Vitamina D** – A vitamina D como pro-hormona esteroide. Precursores (desidrocolesterol, colecalciferol, ergocalciferol, 25-hidroxicolecalciferol), forma activa (1,25 dihidrocolecalciferol), depósito (hepático, como 25-0H-D), principais funções biológicas (regulação do metabolismo do cálcio).

cio e fósforo). Sinais de deficiência (raquitismo e osteomalácia) e toxicidade (calcificações múltiplas, descalcificação óssea, litíase renal). Alimentos mais ricos. Transformação de desidrocolesterol em coлекаliferol (vit D3) pela luz solar; transformação do ergosterol em ergocalciferol (vit D2). Metabolização hepática da vit D2 e D3 em 25-0H-D. Transformação (nos túbulos contornados proximais do rim) da 25-0H-D em 1,25-dihidrocolecalciferol (ou calciferol). Acção desta hormona (calciferol) na mucosa do intestino delgado (reabsorção do cálcio e fósforo), osteoblastos (mineralização óssea) e túbulos distais do rim (reabsorção do cálcio), em associação com a hormona paratiroideia e na dependência da calcémia.

**4. Vitamina E** – Formas activas (tocoferóis), locais de depósito (tecido adiposo e estruturas lipídicas), funções biológicas (anti-oxidante), sinais de deficiência (hemólise e neurológicos), alimentos mais ricos.

**5. Vitamina K** – Formas activas (K1-fitilmenaquinona, K2-multiprenilmenaquinona, e K3-menadiona), local de depósito (hepático), funções biológicas (activação dos factores da coagulação), sinais de deficiência (hemorragias) e alimentos mais ricos.

---

### **7ª Aula – Micronutrientes: (2) vitaminas hidrossolúveis**

**1. Vitaminas do complexo b e vitamina C** – Exceptuando a vit B 12 e o ácido fólico, não se depositam no organismo. Na generalidade, são excretadas por via renal quando os níveis circulantes ultrapassam o respectivo limiar de excreção. Em consequência, raramente há sinais de hipervitaminose do grupo de vitaminas em referência; por sua vez, os sinais de depleção ocorrem também rapidamente (semanas a meses). Na generalidade, actuam no metabolismo como coenzimas.

**2. Vitamina B1 (Tiamina)** – Forma activa (tiamina-pirofosfato), locais de acção principal (complexo da desidrogenase pirúvica e  $\alpha$ -cetoglutárica; transcetolase; transmissão de impulso nervoso). Consequências bioquímicas e clínicas da deficiência em Vit B 1.

**3. Vitamina B2 (Riboflavina)** – Formas activa (coenzimas flavínicas: FMN, FAD) e local de acção: reacções redox. Consequências da deficiência vitamínica.

**4. Niacina (Nicotinamida e nicotinamato)** – Formação de NAD e NADP, activação em reacção redox: catabolismo (NAD/NADH) e biossínteses redutoras (NADP/NADPH). Consequências da deficiência vitamínica.

**5. Vitamina B6 (Piridoxina, piridoxal, piridoxamina)** – Transformação em piridoxal fosfato. Participação em reacções de síntese, catabolismo e interconversão de aminoácidos; síntese de esfingolípido; regulação

da fosforilase do glicogénio; síntese de neurotransmissores; síntese das porfirinas e do heme. Consequências da deficiência vitamínica.

**6. Ácido pantoténico** – Componente da coenzima A e da fosfopantoteína do ACP (proteína transportadora de grupos acilo). Consequências da deficiência vitamínica.

**7. Biotina** – Grupos prostéticos de reacção de carboxilação (p.ex. piruvato carboxilase e acetil-CoA carboxilase). Consequências da deficiência vitamínica.

**8. Ácido fólico (Ácido pteroil-glutâmico)** – Poliglutamato de folato na dieta e transformação intestinal. Redução em tetrahidrofolato ( $H_4$  folato) na mucosa do intestino, por redutase específica. Formação de depósitos hepáticos (derivados poliglutâmicos de  $H_4$  folato) e circulação preferencial com  $N^5$ -metilfolato. Participação em biossínteses, por transferência de resíduos de 1 carbono ( $-CH_2-$  e  $CH_3-$ ). Participação electiva na síntese da colina, serina, glicina, metionina (a partir de  $N^5$ -metil  $H_4$  folato) e, sobretudo, do timidilato e purinas (através da  $N^5$ ,  $N^{10}$  metinil  $H_4$  folato e  $N^5$ ,  $N^{10}$  metileno  $H_4$  folato). Causas e consequências principais da deficiência em folato.

**9 – Vitamina B12 (Cobalamina)** – Forma alimentar (B12-proteína) e proteólise (estômago-HCl; intestino – tripsina); absorção no ileon (na presença do factor intrínseco); transporte plasmático (cobalamina – transcobalamina II), forma nos tecidos-alvo (hidroxicobalamina, metilcobalamina e 5'-desoxiadenosil cobalamina). Acção da metilcobalamina no citosol, na conversão de homocisteína em metionina (na presença de  $N^5$ -metil  $H_4$  folato) e da 5- desoxiadenosilcobalamina (mitocondrial) na síntese da metilmalonil CoA (transformação em succinil CoA). Consequências da deficiência vitamínica.

**10. Vitamina C (Ácido ascórbico)** – Acção como anti-oxidante (em reacções de carboxilação: Importância na manutenção do colagénio, osteogénese, matriz pericapilar, síntese de corticosteroides, antioxidante de vitaminas oxidáveis (A, B, E) e redutora de metais (p.ex.  $Fe^{3+}$  em  $Fe^{2+}$ ). Consequências da deficiência vitamínica.

---

### **8ª Aula – Micronutrientes (3) minerais**

**1. Macrominerais** – **Cálcio**: Fontes alimentares, moduladores metabólicos (vitamina D, paratormona, calcitonina), função (constituição de ossos e dentes, regulação neuromuscular, transdutor celular de acção hormonal). **Fósforo** (fosfato): fontes alimentares, modulação metabólica (reabsorção renal e outras, pouco conhecidas), funções (constituente de ossos e dentes, intermediários metabólicos fosforilados, ácidos nucleicos). **Sódio**: Fontes

alimentares, modulador metabólico (aldosterona), função (principal catião extracelular, ATPase,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , regulação do volume plasmático, equilíbrio ácido-base, função neuromuscular). **Potássio**: Fontes alimentares, modulador metabólico (aldosterona), funções (principal catião intracelular, função neuromuscular, ATPase  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ). **Cloreto**: Fontes alimentares, função (equilíbrio líquido e electrolítico), secreções gastrointestinais, contra-transporte iónico ( $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ ). **Magnésio**: Fontes alimentares, funções (constituente de ossos e dentes, cofactor enzimático). Estados deficitários e tóxicos.

**2. Nutrientes vestigiais** – Fontes alimentares conhecidas. **Crómio**: (potencia a acção insulínica). **Cobalto** (constituente da vit. B12). **Cobre**: (constituente enzimático, intervenção na absorção do ferro). **Iodo**: (constituente de hormonas tiroideias), **Manganésio**: (cofactor enzimático, síntese das glicoproteínas e proteoglicanos), **Molibdénio**: (constituente de oxidases), **Selénio** (constituente da glutatião peroxidase, acção antioxidante sinérgica com a vit E), **Silica**: (osteogénese, metabolismo dos glicosaminoglicanos da cartilagem e tecido conjuntivo), **Zinco**: (cofactor enzimáticos), **Flúor** (densificação dos ossos e dentes).

---

### **9ª e 10ª Aulas – Aproveitamento metabólico dos nutrientes**

**1. Distribuição dos nutrientes pelos principais órgãos** – Cooperação funcional com base na diferenciação celular (tecdual) e divisão do trabalho metabólico. Todos os tipos celulares têm, na generalidade, um núcleo de vias metabólicas que garantem a obtenção de energia química. Adicionalmente, cada tipo celular tem funções especiais, baseadas em vias metabólicas adequadas e exigências energéticas próprias. As hormonas e os neurotransmissores integram e coordenam as diversas actividades metabólicas em tecidos diferentes, preservando a economia e eficácia dos processos em cada órgão, e no organismo em geral. Adaptação metabólica global às exigências funcionais de cada órgão. Flexibilidade metabólica.

**2. Fígado** – O fígado como órgão central na distribuição e elaboração metabólica, fornecendo aos tecidos periféricos (extra-hepáticos) os metabolitos e factores metabólicos que estes possam requerer. Captação pelo hepatócito de monossacáridos e aminoácidos (recebidos por via venosa portal) e dos lípidos (por veia porta ou, indirectamente, pelo canal torácico).

**3. Hepatócitos – aproveitamento dos monossacáridos** – (glicose); opções metabólicas principais após fosforilação (em glicose 6-P): glicogénese, glicólise, via das fosfopentoses ou glicose circulante. Fosforilação da glicose pela glicocinase (e hexocinase) e; conversão da frutose, galactose e manose em glicose 6-P ou metabolitos da glicólise. Desfosforilação (pela glicose 6-fosfatase) da glicose 6-P em glicose livre, para manutenção da gli-

cémia. Activação da glicogénese pela insulina, por modulação da glicogénio-sintetase (alostérica e covalente). Importância das reservas de glicogénio muscular na manutenção da glicémia. Oxidação aeróbia (e anaeróbia) de glicose pela glicólise (modulação alostérica e covalente das enzimas chave). Conversão do piruvato em acetil CoA (pelo complexo da desidrogenase pirúvica; moduladores principais). Aproveitamento da acetil CoA para fins energéticos (ciclo de Krebs) ou lipogénese (síntese dos ácidos gordos, triacilgliceróis e colesterol). Veiculação dos lípidos sintetizados no fígado pelas lipoproteínas endógenas (VLDL), para os tecidos periféricos. Oxidação da glicose 6-P pela via das fosfopentoses, originando principalmente poder redutor (NADPH) necessário para biossínteses redutoras (lipogénese) e ribose 5-P (precursor dos nucleótidos e ácidos nucleicos).

**4. Hepatocito – aproveitamento dos ácidos gordos** – Principais opções metabólicas dos AG captados pelos hepatocitos: oxidação energética, cetogénese, síntese lipídica (ácidos gordos, triacilgliceróis, fosfolípidos, colesterol e derivados), lipoproteínas e ácidos gordos livres (para a circulação). Oxidação dos ácidos gordos em acetil CoA, NADH e FADH; pré-activação no cito sol por sintetase, transporte pela carnitina (acção das aciltransferase I e II específicas) do citosol para as mitocôndrias,  $\beta$ -oxidação e aproveitamento energético da acetil CoA. Importância da oxidação dos ácidos gordos como principal material energético a utilizar pelos hepatocitos. Aproveitamento do propionil-CoA (no caso da oxidação dos AG como número ímpar de carbonos). Formação dos corpos cetónicos (acetoacetato e  $\beta$ -hidroxibutirato) quando há excesso da acetil CoA não aproveitado pelo ciclo de Krebs. Importância energética dos corpos cetónicos para tecidos extra-hepáticos (especialmente músculo cardíaco (miocárdio) e cérebro, em condições extremas de jejum. Utilização da parte da acetil CoA para a biossíntese do colesterol (etapa reguladora, catalisada pela HMG CoA redutase) por sua vez precursor de hormonas esteroides e sais biliares. Síntese dos ácidos gordos (regulada pela acetil-CoA carboxilase; moduladores mais activos), triacilglicerol (a partir dos ácidos gordos e glicerol 3-P), e fosfolípidos. Formação de lipoproteínas para transporte lipídico do fígado para os tecidos extra-hepáticos (via endógena). Transporte dos ácidos gordos livres, ligados à albumina, do fígado para tecidos musculares (miocárdio e esquelético), como material energético preferencial.

**5. Hepatocito – aproveitamento dos aminoácidos** – Captação dos aminoácidos e aproveitamento nas seguintes opções: regeneração das proteínas (hepáticas, extra-hepáticas e plasmáticas), conversão em produtos azotados não-proteicos, utilização energética (conversão em piruvato e/ou intermediários do ciclo de Krebs, por aminotransferases, reconversão em glicose (pela gliconeogénese) ou glicogénio, formação dos ácidos gordos e lípidos em geral (a partir da acetil CoA). Formação da ureia, a partir de grupos amina-

dos removidos por aminotransferases ou desaminases. Além dos aminoácidos recebidos do intestino, o hepatócito é também porta de entrada de aminoácidos de origem muscular e outros tecidos periféricos. Participação do ciclo da glicose-alanina e glicose-lactato na interacção entre fígado e músculo, assegurando níveis adequados de glicémia. Importância hormonal da epinefrina, glicagina e corticosteroides.

**6. Adipocito – aproveitamento da glicose e lípidos** – Constituição prevalente em triacilglicerol. Comparação energética com as reservas de glicogénio. Actividade metabólica intensa, em resposta rápida a estímulos hormonais, e interacção com fígado, músculo-esquelético e miocárdio. Actividade glicolítica intensa originando acetil-CoA e glicerol 3-P (síntese do triacilglicerol e fins energéticos). Captação do triacilglicerol das lipoproteínas (por acção da lipase específica da membrana), proveniente do fígado (VLDL) ou intestino (quilomicra); transformação dos ácidos gordos em acetil-CoA a reutilizar na síntese do triacilglicerol. Hidrólise (por lipase hormono-dependente) do triacilglicerol em ácidos gordos e glicerol; parte dos ácidos gordos pode ser recapturado pelos adipocitos para subsequente síntese local do triacilglicerol, mas o restante ou a generalidade é veiculada, fixada à albumina, para o fígado e outros tecidos (em geral músculo esquelético e miocárdio). Importância hormonal da insulina (na lipogénese) e da epinefrina e/ou glicagina (na lipólise). Particularidades metabólicas do tecido adiposo “castanho”, com finalidades essencialmente na temperatura corporal.

**7. Miócitos – aproveitamento da glicose, ácidos gordos e corpos cetónicos** – A actividade metabólica varia com a intensidade da contracção muscular. Em exercício intenso, o músculo-esquelético pode utilizar cerca de 90% do oxigénio corporal, o que na fase de repouso oscila por 50%. Os nutrientes referidos são utilizados essencialmente para gerar ATP. Em repouso, são utilizados preferencialmente os ácidos gordos e os corpos cetónicos (com transformação em acetil-CoA). Durante o exercício muscular é utilizada também glicose (transformação em piruvato-lactato ou piruvato-acetil-CoA, conforme decorre em anaerobiose ou aerobiose). Utilização do glicogénio muscular com fonte alternativa da glicose, durante o exercício rápido, em anaerobiose, e sob modulação pela epinefrina. Utilização da fosfocreatina como fonte de grupos fosforilo que regeneram o ATP do ADP (pela fosfocreatina-cinase). No miocárdio a oxidação da glicose decorre exclusivamente em aerobiose, excepto em condições patológicas.

**8. Células nervosas – aproveitamento da glicose e corpos cetónicos** – Em condições normais a glicose é o único nutriente utilizado, oxidado em aerobiose (cerca de 20% do consumo de O<sub>2</sub> em repouso). A dependência estreita do tecido nervoso para a glicose justifica a cooperação do organismo na manutenção rigorosa da glicémia. Em situações extremas de jejum, com hipoglicémia acentuada (potencialmente geradora de lesões irreversíveis e

morte), o tecido cerebral pode utilizar vantajosamente o  $\beta$ -hidroxibutirato como material energético (originando acetil-CoA), poupando ainda aminoácidos. Grande parte do ATP obtido por oxidação da glicose (e corpos cetónicos) é utilizada na activação do ATPase  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e subsequente potencial eléctrico de membrana.

---

### **11ª Aula – Adaptação do metabolismo hepatocitário ao ciclo alimentar**

**1. Ciclo alimentar** – Ritmo do consumo alimentar, exigências metabólicas e formação/utilização de reservas energéticas. Consequências extremas do desequilíbrio – emagrecimento ou obesidade. Períodos pós-prandiais e períodos de jejum. Homeostasia da glicémia. Ciclo hormonal: insulina/glicagina.

**2. Adaptação pós-prandial** – Controlo do aproveitamento da glicose por efectores alostéricos e covalentes. Principais etapas reguladoras afectadas por factores alostéricos sujeitos a modulação da síntese enzimática por estímulos hormonais. A insulina como hormona anabólica e hipoglicémica, com actuação específica na síntese proteica, síntese lipídica, aproveitamento (anabólico e catabólico) da glicose, actuação como indutora de enzimas-chave da glicólise, glicogénese, lipogénese, via das fosfopentoses e represora da enzimas-chave da gliconeogénese.

**3. Adaptação ao jejum** – (de duração curta ou prolongada). Controlo por efectores alostéricos e covalentes. Principais etapas afectadas, com domínio do gliconeogénese, lipólise e proteólise (músculo). Preservação da glicémia e do metabolismo cerebral. Utilização preferencial dos ácidos gordos e dos corpos cetónicos, para preservação da glicose (por inibição da fosfofrutocinase e desidrogenase pirúvica). A cetogénese como adaptação potencialmente exacerbada em condições de jejum extremo.

**4. Regulação hormonal do metabolismo energético** – Acções metabólicas principais da epinefrina, glicagina e insulina, a nível da actividade/síntese de enzimas-alvo.

---

### **12ª Aula – Síntese e degradação dos nucleótidos púricos**

**1. Nucleósidos e nucleótidos** – Revisão da composição e estrutura. Bases púricas e pirimídicas. Origens das bases (dieta e biossíntese).

**2. Biossíntese dos nucleótidos púricos** – O fígado como principal órgão da biossíntese dos nucleótidos púricos. Reacções de síntese e degradação dos nucleótidos púricos: (decorrem no citosol). Formação do PRPP (5-fosforilil-1-pirofosfato). Dependências da via das fosfopentoses (princi-

palmente, da ribose 5-fosfato; revisão do funcionamento da regulação da via) e enzima (reguladora) da reacção (PRPP sintetase). O PRPP como intermediário comum na biossíntese de NAD<sup>+</sup>, NADP<sup>+</sup>, biossíntese das purinas e pirimidinas e reacções de recuperação das purinas. Três mecanismos de biossíntese dos nucleótidos púricos: (1) “de novo”, a partir de intermediários anfílicos; (2) fosforibosilação das purinas; (3) fosforilação de nucleósidos púricos.

**3. Síntese “de novo”** – Requer a formação do anel de purina a partir de fragmentos de N e C de aminoácidos (glicina, aspartato, glutamato), tetrahidrofolato (N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup>-metenil e N<sup>10</sup> formil) e CO<sub>2</sub>. Dez reacções em sequência sintetizam o 1º produto da via (inosina 5'-monofosfato, IMP), precursor de dois mononucleótidos púricos (AMP: adenosina 5'-monofosfato; GMP: guanina 5'-monofosfato). Formação da fosforibosilamina (N<sub>9</sub> do anel de purina pela PRPP amidotransferase, e principal etapa reguladora da biossíntese; inibição alostérica por IMP, AMP, GMP, activação por PRPP); do 5'fosforibosilglicinamida (C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub> e N<sub>7</sub>, pela fosforibosil-glicinamida sintetase); da 5'fosforibosil-formilglicinamida (C<sub>8</sub>, por formil transferase); da 5' -fosforibosil-formilglicinamidina (N<sub>3</sub>, por sintetase); da 5'fosforibosil-5-aminoimidazol (encerramento do anel imidazol, por sintetase); da 5'fosforibosil 5-aminoimidazol-4-carboxilato (C<sub>6</sub>, por carboxilase independente da biotina); da 5'-fosforibosil 5-aminoimidazol 4-N succinocarboxamida (N<sub>1</sub>, por sintetase, que incorpora aspartato); da 5'-fosforibosil-5-aminoimidazol-4-carboxamida (separação do fumarato, por adenil-succinase); da 5'-fosforibosil-5-formamidoimidazol-4-carboxamida (C<sub>2</sub>, por formil transferase); do IMP (por encerramento do anel, por inosinase).

**4. Conversão do IMP em AMP e GMP** – Dependência energética (ATP para a biossíntese do GMP; GTP, para a do AMP). Transformação do IMP em AMP (formação de adenil-succinato, por sintetase, formação do IMP em AMP (formação de adenil-succinato, por sintetase; formação do AMP, por adenil-succinase); transformação do IMP em GMP (formação da xantosina 5'-monofosfato, XMP, por desidrogenase NAD<sup>+</sup> dependente), formação de GMP, por sintetase).

**5. Reacções de recuperação das purinas** – Origens das bases (exógenas, de dieta; endógenas de ácidos nucleicos degradados). Fosforibosilação da guanina em GMP e da hipoxantina em IMP, pela inosina transferase (regulação por IMP ou GMP), e da adenina em AMP por transferase específica (regulação pelo AMP). Fosforilação de nucleótidos púricos pelo ATP (por adenilato cinase, ou desoxicitidina cinase).

**6. Regulação da síntese dos nucleótidos púricos** – Controlo da síntese do PRPP, pela da fosforibosilamina (principal etapa reguladora). Etapas de controlo na conversão do AMP pela IMP desidrogenase (inibição



competitiva pelo GMP) e pela adenil-succinato sintetase (inibição competitiva pelo AMP).

**7. Transformação dos nucleósidos (púricos) em desoxirribonucleótidos** – Complexo da nucleósido-redutase (Tio-redoxina, redutase e NADPH).

**8. Catabolismo dos nucleósidos púricos** – Catabolismo dos nucleósidos por nucleotidasas; catabolismo da adenosina (desaminação em inosina, por desaminase), da guanosina e da inosina (em guanina e hipoxantina, respectivamente), da guanina em xantina (por desaminação, pela guanase), da hipoxantina em xantina (pela xantina-oxidase) e da xantina em ácido úrico (pela xantina-oxidase).

---

### **13ª Aula – Síntese e degradação dos nucleótidos pirimídicos**

**1. Biossíntese** – Diferenças e semelhanças com a biossíntese das purinas. Formação do carbamoilfosfato (C2, N3-carbamoil sintetase II), condensação com aspartato (N1, C4, C5, C6 – transcarbamoilase), encerramento do anel (dihidro-orotase)), formação de orotato (desidrogenase de dihidro-orotato, mitocondrial; todas as restantes etapas decorriam no citosol), fosforibosilação (com PRPP) do orotato, originando a orotidina monofosfato (por transferase), descarboxilação em UMP, transformação em UDP e UTP (por fosforilação com ATP), aminação do UTP em CTP, com a glutamina e ATP, pela sintetase do CTP.

**2. Transformação de nucleósidos em desoxirribonucleósidos** – Mecanismo idêntico ao das purinas, por complexo da redutase da tio-redoxina; Formação do d UTP; transformação do d UMP em TMP (por sintetase, com N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup>-metileno H4 folato).

**3. Reações de recuperação dos nucleósidos pirimídicos** – Fosforibosilação das pirimidinas (por fosforibosiltransferase) e fosforilação (por cinases).

**4. Regulação da biossíntese** – Alostérico e a nível genético. Controlo alostérico (pelo UTP e PRPP) da carbamoil sintetase; da aspartato transcarbamoilase (pelo CTP e ATP); da OMP descarboxilase (pelo UMP e CMP), e da sintetase do CTP (pelo CTP).

**5. Catabolismo dos nucleótidos pirimídicos** – Transformação de bases (citosina, uracilo e timina) em produtos hidrossolúveis: CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, β-aminoisobutirato, β-alanina.

---

### **14ª Aula – Metabolismo dos aminoácidos (1)**

**1. Interconversão dos aminoácidos** – Consequências metabólicas das reacções de transaminação e desaminação. Aminoácidos essenciais e não essenciais. Síntese de aminoácidos não essenciais a partir dos intermediários da glicólise e ciclo de Krebs e conversão inversa, através de reacções anabólicas e catabólicas. Os aminoácidos como precursores da síntese proteica e dos produtos azotados não proteicos. Aminoácidos glicogénicos, cetogénicos e mistos.

**2. Catabolismo de aminoácidos essenciais** – (a) Fenilalanina e tirosina – Conversão da fenilalanina em tirosina (hidroxilase; participação da coenzima tetrabiopterina). Consequências de um defeito (congénito ou adquirido) na etapa: formação do fenilpiruvato e produtos subsequentes. Principais conversões da tirosina: catecolaminas, melanina, fumarato e acetoacetato, formação de tiroxina. Catecolaminas: Transformação da tirosina em DOPA (hidroxilase: coenzima tetrabiopterina); descarboxilação em dopamina (descarboxilase; fosfato de piridoxal); transformação em norepinefrina (dopamina  $\beta$ -hidroxilase); metilação (por metiltransferase) em epinefrina. Melanina: oxidação da tirosina (tirosinase) em dopaquinona, que, formando polímeros, origina a melanina (localização nos melanocitos, das células pigmentares). Transformação em Fumarato e Acetoacetato: Transformação da tirosina em hidroxifenil piruvato (por aminotransferase inductível); oxidação em homogentisato (por oxidase, com descarboxilação associada); transformação em maleilacetoacetato (por oxidase); isomerização em fumaril-acetoacetato, (com subsequente hidrólise em fumarato e acetoacetato. (b) Aminoácidos de cadeia ramificada (valina, leucina, isoleucina)- Reacções de decomposição comum, (transaminação em cetoácidos; descarboxilação oxidativa em acil-CoA tioésteres, oxidação em tioésteres  $\alpha$  e  $\beta$  insaturados) originando por fim propionil CoA (valina), ou acetil-CoA e propionil-CoA (isoleucina), ou acetil-CoA e acetoacetato (leucina); em consequência, a valina é um aminoácido potencialmente glicogénico; a leucina é cetogénico, e a isoleucina é misto.

### **15ª Aula- Metabolismo dos aminoácidos (2)**

#### **1. Catabolismo de aminoácidos essenciais (conclusão)**

(c) Arginina – Transformações opcionais:  $\alpha$ -cetogluturato, ureia e ornitina, creatina e monóxido de azoto (NO).

(d) Histidina – Transformações opcionais: por desaminação em urocato (com conversão sequencial em  $\alpha$ -cetogluturato); por descarboxilação, em histidina.

(e) Metionina – Transformações opcionais: conversão em succinil-CoA (com formação prévia de propionil-CoA e metilmalonil-CoA, cisteína (da S-

-adenosilhomocisteína) e poliaminas (da S-adenosil-metil-propilamina); importância da S-adenosilmetionina como forma activa da metionina, interveniente em reacções de metilação celular (com transformação em S-adenosilhomocisteína).

(f) Treonina – Transformações opcionais: pela treonina-aldolase, forma-se acetaldeído (conversão em acetil) e glicina (conversão em L-serina e, na sequência, em piruvato e acetil-CoA); por acção da treonina desidratase é formado o propionil-CoA (conversão em succinil-CoA); por acção de uma desidrogenase, é transformado em metilgloxal (conversão em piruvato e lactato).

(g) Triptofano – Transformações opcionais: pela via da quinurenina-antranilato, decorre o catabolismo em glutaril-CoA (conversão em acetil-CoA) e a formação da nicotinamida (importância dos respectivos derivados no retrocontrolo alostérico da triptofano-oxigenase). Outros produtos da transformação: alanina, serotonina, e xanturenato (em situações de deficiência da vitamina B6, coenzima da quinureninase).

(h) Lisina – Transformação em acetil-CoA (conversão prévia em sacropina,  $\alpha$ -aminoadipato,  $\alpha$ -cetoaladipato, glutaril-CoA, e por reacções próprias da  $\beta$ -oxidação, em acetil-CoA).

## 2. Catabolismo dos aminoácidos não-essenciais

(a) Alanina – Transformação directa em piruvato

(b) Asparagina e Aspartato – Conversão em asparagina em aspartato (por desaminação pela asparaginase) e deste em oxaloacetato (por aminotransferase).

(c) Glutamina e glutamato – Desaminação da glutamina em glutamato (pela glutaminase) e deste em  $\alpha$ -cetoglutarato.

(d) Glicina – Transformações opcionais: conversão em serina (por hidroximetil transferase) e, na sequência em piruvato (por serina desidratase) e acetil-CoA; clivagem completa em  $O_2$ ,  $NH_4^+$  e grupo metileno (reacção reversível catalisada pela sintase da glicina, também designada enzima da clivagem da glicina); por oxidase, conversão glioxalato (com formação de oxalato, na origem de cristais de oxalato de cálcio excretados pelo rim).

(e) Prolina – Conversão  $\Delta^1$ -pirrolina-5-carboxilato (por oxidase), com transformação espontânea em glutamato  $\delta$ -semialdeído (e subsequente conversão em  $\alpha$ -cetoglutarato, por via comum com arginina).

(f) Serina – Transformações opcionais: degradação em glicina e  $N^5$ - $N^{10}$ -metileno tetrahydrofolato; conversão em piruvato (por desaminação pela serina desidratase); formação de 3-fosfoglicerato (e, na sequência, glicose).

(g) Cisteína – Transformações opcionais: oxidação directa (por dioxigenase, originando cisteína-sulfinato) e transaminação (formando 3-mercaptopiruvato) ambos originando piruvato. Da cisteína sulfinato forma-se a hipotaurina (por descarboxilação, e na sequência, a taurina, por dioxigenase) ou o sulfinil-piruvato. Do mercaptopiruvato resulta o piruvato (por transamina-

ção) e o 3-mercaptolactato (por redução). A cisteína pode ser o produto de redução da cistina (por redutase), com degradação final sobreponível.

(h) Tirosina – Via comum à fenilalanina: degradação final em fumarato e acetoacetato.

---

### **16ª Aula – Metabolismo dos aminoácidos (3)**

#### **1. Conversão em produtos especializados**

(a) Glicina – Precursor do heme (em conjunto com succinil-CoA, purinas, conjugados metabólicos (por ex. glicocolato), creatina (e, na sequência, creatinina).

(b) Alanina – origina a carnosina (com a histidina) por ação da carnosina sintetase.

(c) Serina – biossíntese da esfingosina, purinas e pirimidinas

(d) Metionina – (através da S-adenosilmetionina) principal fornecedor de grupos metilo e enxofre, intervém na biossíntese de poliaminas e da creatina

(e) Cistina e Cisteína – Precursores da coenzima A e taurina.

(f) Histidina – Origina histamina (por descarboxilase) e carnosina (com a alanina).

(g) Arginina (e Ornitina) – Síntese da creatina (creatinina, creatinina fosfato), poliarminas (putrescina, espermina, espermidina), ureia. Importância reguladora das poliaminas (na proliferação e crescimento celulares); regulação da biossíntese das poliaminas (a nível da ornitina descarboxilase e S-adenosilmetionina descarboxilase).

(h) Triptofano – Síntese da serotonina (degradação pela monoaminoxidase). (i) Tirosina – Melaninas, catecolaminas, tiroxina e triiodotirosina).

#### **2. Produtos especiais derivados de aminoácidos**

Glutatião – Composição (tripéptido do glutamato, cisteína e glicina), origem das funções redutoras (grupo SH da cisteína).

Creatina (e creatinina) – Composição (síntese de parte da glicina, arginina e metionina) participação como reserva de grupos fosforilo (fosfocreatina); ciclização em creatinina.

Produtos de inativação das aminas – (intervenção das monoamina- e diamino-oxidases) ou metilação (por ex: pela catecol-O-metiltransferase), originando respectivamente derivados aldeído ou metilaminas. Os derivados aldeídos são finalmente oxidados em derivados álcool ou ácido.

Poliaminas (Espermidina e Espermina) – Formação a partir da arginina e ornitina, através da putrescina. Importância da ornitina-decarboxilase e da S-adenosilmetionina descarboxilase. Ação das poliaminas na proliferação e crescimento celulares, em associação a DNA e RNA.

### 3. Biossíntese das porfirinas e do heme

Síntese dos precursores (ácido  $\delta$ -aminolevulínico e porfobilinogénio); a sintetase do ácido  $\delta$ -aminolevulínico como enzima reguladora; síntese dos tetrapirrois, por condensação de 4 unidades de porfobilinogénio: formação dos uroporfirinogénio I e III (pela sintetase e co-sintetase), conversão em coproporfirinogénio I e III (por descarboxilação), oxidação em protoporfirinogénio III, oxidação em protoporfirina, quelatação com metal (ferro), originando o heme. Localização intracelular da biossíntese (citosol e mitocôndria) e prevalência tecidual (linhagem eritropoiética da medula óssea e hepatócitos). Regulação alostérica (pelo produto final, heme) e constitutiva (indução e repressão genética, pelo heme).

---

## 17ª Aula – Degradação do heme e metabolismo dos pigmentos biliares

**1. Hemoproteínas** – Revisão sobre tipos de moléculas hemínicas mais comuns e funções respectivas: proteínas respiratórias (hemoglobina e mioglobina), translocases de electrões (cito cromos), enzimas redox (catalase, peroxidase) ou outras (triptofano pirrolase).

**2. Catabolismo do heme** – Localização celular (microsomas das células do sistema retículo-endotelial, SRE). Transformação do tetrapirrol cíclico (heme) em linear, pela heme-oxigenase e (após remoção da fracção proteica da hemoproteína), com libertação de uma molécula de monóxido de carbono (CO) e do átomo do ferro (na forma trivalente, oxidada). Daqui resulta a transformação do heme em biliverdina e deste (por uma redutase) em bilirrubina (não conjugada).

**3. Metabolização da bilirrubina** – Transporte de bilirrubina não conjugada (fixada à albumina) das células do SRE extra-hepático e captação (por transporte facilitado) pelos hepatócitos. Centros de fixação (um com grande, outro com baixa afinidade) existentes na molécula de albumina para a bilirrubina. Transporte intracelular (ligação às proteínas Y e Z) e solubilização da bilirrubina por conjugação (no retículo endoplásmico liso dos hepatócitos) com diglicuronato (pela UDP glicuroniltransferase), originando bilirrubina diglicuronato e bilirrubina monoglicuronato.

**4. Secreção e eliminação da bilirrubina** – Transporte activo da bilirrubina conjugada do hepatócito para os canalículos biliares, que a veicula até ao intestino (íleon e grosso); remoção local da fracção glicuronato (por glicuronidases, enzimas de flora bacteriana intestinal), com redução em etapas sucessivas em compostos tetrapirrólicos incolores (urobilinogénio ou estrobilinogénio). Reabsorção parcial do intestino para o fígado, com re-excreção para o intestino (ciclo enterohepático) de uma fracção de urobilinogénio, a qual pode ser também eliminada (particularmente em situações anormais –

hiperformação ou doença hepática) pela urina. O urobilinogénio ou esterobilinogénio é oxidado em contacto com o ar (originando urobilina ou esterobilina).

---

### **18ª Aula – Mecanismos de destoxificação hepática**

**1. Xenobióticos** – Noção, tipos e importância médica. Metabolização geral (essencialmente hepática), fases de transformação e reacções principais: hidroxilações, metilações, ou conjugações (com glicuronato, sulfato, acetato ou glutatião). Efeitos da metabolização dos xenobióticos na respectiva acção biológica: activação, diminuição ou inactivação. Repercussão celular por metabolitos reactivos, na sequência da ligação covalente a macromoléculas biológicas: lesões celulares, alterações das características antigénicas, mutações (carcinogénese). Acção protectora celular da epóxido-hidrolase.

**2. Reacções de hidroxilação** – Monooxigenases, genericamente designadas citocromo P450. Composição bioquímica (hemoproteína). Mecanismo de acção no retículo endoplásmico (microsomas). Participação de NADPH e NADPH-citocromo P-450 redutase na transferência de 1º electrão (grupos prostéticos: FAD e FMN) para o Cit P450, para fixação do O<sub>2</sub>. Transferência do 2º electrão (daquele sistema ou, em alternativa, de NADPH e citocromo b<sub>5</sub>, pela respectiva redutase-FAD dependente) para que ocorra a clivagem de oxigénio em 2 átomos, um incorporado no substrato de hidroxilase, sendo o outro eliminado na água. Mecanismo de acção mitocondrial: electrões transferidos de NADPH para uma proteína (adrenoxina) por acção de uma redutase (NADPH -adrenoxina-redutase, FAD dependente) e complexos ferro enxofrem, com aceitação final pelo Cit P450. Funções do Cit P450: metabolização de substâncias lipofílicas endógenas (p.ex., síntese de esteroides, oxigenação de eicosanóides) e exógenas (xenobióticos).

#### **3. Reacções de conjugação**

(a) Glicuronidação: intervenção do UDP-glicuronato e glicuronil transferases (retículo endoplásmico e citosol).

(b) Sulfatação: intervenção do “sulfato-activo” (fosfoadenosina fosfosulfato, ou PAPS).

(c) Glutatião: catalise pela glutatião S-transferase; outras enzimas que utilizam o glutatião (peroxidase e redutase) e também constituem Mecanismos de defesa celular contra substâncias oxidantes ou tóxicas. Ciclo do  $\gamma$ -glutamil e intervenção da  $\gamma$ -glutamil transferase.

(d) Acetilação: com grupo acetilo do acetil-CoA.

(e) Metilação: utilização do grupo metilo, da S-adenosilmetionina.

---

### **19ª Aula – Citocinas e resposta hepática a estímulos agudos e crónicos**

**1. Síntese e secreção de proteínas pelo hepatocito** – Mecanismo e localização da síntese (retículo endoplasmático), modificações pós-tradução (no aparelho de Golgi e vesículas de secreção). Tipos de proteínas formadas perante um estímulo extra-hepático; proteínas de fase aguda, positivas (p.ex. fibrinogénio) e negativas (p.ex. albumina).

**2. Indutores da resposta da fase aguda** – Principais tipos de agressão do organismo (traumatismo, doença aguda, inflamação). As citocinas como principais factores envolvidos na síntese de proteínas hepáticas de fase agudas:

**2a. Classes de citocinas** – Factores de crescimento (GF, growth factors) linfocinas (IL, interleucinas) factores estimuladores em colónia (CSF, colony stimulating factors), factores transformadores de crescimento (TGF, transforming growth factors), factor de necrose tumoral (TNF, tumor necrosis factor), interferões (IFN, interferons).

**2b. Mecanismo de acção** – Interação citocina-receptor da célula alvo, internalização, reciclagem ou inactivação do receptor. Sinais de transdução e mecanismos de intervenção: inosina-cinases, proteínas G, AMP cíclico, inositol fosfato, diacilglicerol e cálcio, eicosanoides.

**2c. Principais efeitos biológicos** – Proliferação e diferenciação celular, regulador da hematopoiese, regulação da resposta imunológica, controlo da inflamação e infecção.

**2d. Proteínas da fase aguda** – Estimulação hepatocitária por interleucinas 1 e 6 e factor da necrose tumoral.

---

### **20ª e 21ª Aulas – Água e compartimentos corporais**

**1. Água.** Constituição, estrutura e estados físicos. Soluções e dispersões aquosas. Ionização da água (ião hidrónio e ião hidroxilo). Presença no meio celular (como substância inorgânica, a par de gases dissolvidos, sais e iões) e espaços (intra e extracelulares). Distribuição corporal: água total e balanço hídrico (variação com o peso, idade, conteúdo lipídico, ingestão, eliminação e metabolismo).

**2. Compartimentos líquidos** – Compartimentos intracelulares e extracelulares (plasma, interstício/linfa, tecidos densos e líquidos trans-celulares). Volémia total (5L ou  $\pm$  80mL/Kg peso corporal), volume plasmático (2,5-3,0L). Composição dos compartimentos corporais, composição electrolítica em equivalentes químicos (mEq/L), e valores da osmolalidade ou osmolaridade dos compartimentos intra e extracelu-

lares, neutralidade eléctrica (equilíbrio entre aniões e catiões) e diferenças com neutralidade ácido-base.

**3. Acção biológica dos electrólitos** – Neutralidade, distribuição dos líquidos corporais e acção metabólica. Difusão, pressão osmótica e pressão oncótica. A construção de  $\text{Na}^+$  corporal como principal determinante do volume do líquido extracelular, e a concentração de  $\text{K}^+$  corporal como determinante do volume líquido intracelular. Adaptação do volume do líquido intracelular em condições hipotónicas e hipertónicas extracelulares. Causas e consequência da desidratação (por défice de água ou sódio).

#### **4. Trocas líquidas entre os compartimentos corporais**

(a) Trocas plasma-líquido intersticial. Características da rede capilar e trocas por difusão (transcelular ou por poros); diferenças de gradiente entre extremidade arterial e venosa dos capilares. Dependência das pressões: intracapilares (hidrostática), intersticial, oncótica do plasma, oncótica do interstício. Equilíbrio Donnan; importância da albumina para o valor de pressão oncótica do plasma; filtração e reabsorção capilar, drenagem linfática e formação de edemas (por aumento da pressão intracapilar, diminuição da pressão oncótica plasmática. obstrução da drenagem linfática, aumento anormal da permeabilidade capilar).

(b) Trocas líquidas entre interstício e células- Mecanismos de transporte passivo (simples ou mediado) e mecanismos de transporte activo (ATPase dependente).

---

### **22ª, 23ª e 24ª Aulas -pH e equilíbrio ácido-base**

**1. Revisão de conceitos** – Noção de ácido e base. Constante de ionização ou dissociação (K) e pK. Ácidos e bases fortes e fracas. Concentração hidrogeniónica. Lei de acção de massas. Expressão e significado do valor de pH. Equação de Henderson-Hasselbach. Sistemas tampão. Curvas de titulação.

**2. pH e tampões fisiológicos** – Valores de pH intra e extracelulares. Principais tampões fisiológicos (bicarbonato, fosfato, proteínas). Sistemas tampão bicarbonato/dióxido de carbono; noção do conteúdo total de  $\text{CO}_2$  ( $\text{HCO}_3^- + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{CO}_3$ ); equilíbrio das reacções de transformação. Regulação de  $\text{CO}_2$  pela ventilação alveolar, e do  $\text{HCO}_3^-$  pelo mecanismo renal. Sistemas tampão fosfato ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{RPO}_4^{2-}$ ). Sistemas tampão de proteínas (da hemoglobina no eritrocito). Importância relativa no controlo da  $[\text{H}^+]$  extra e intracelular. Princípio iso-hídrico.

**3. Regulação do equilíbrio ácido-base** – Acidose e alcalose; acidemia e alcalemia. Adaptação fisiológica à sobrecarga ácida ou alcalina (acidose ou



alcalose metabólicas). Fontes endógenas de ácidos e bases. Adaptação fisiológica à acidose e à alcalose respiratórias. Variação de pH intra e extracelular. Regulação da excreção renal de  $H^+$ : tampão bicarbonato, tampão fosfato, íon amónio; acidificação proximal e distal; reabsorção de bicarbonato (90% proximal) ou secreção de bicarbonato (na alcalose metabólica); produção e excreção de íon amónio, e reciclagem  $NH_4^+NH_3$  na medula renal. pH urinário. Efeito do pH arterial na ventilação.

---

### **25ª e 26ª Aulas – Função respiratória do sangue**

**1. Constituintes sanguíneos** – O sangue como tecido. Plasma e corpúsculos celulares em suspensão.

**2. Eritrocitos** – Local de formação e precursores imaturos (reticulócitos). Caracterização morfológica e elástica: membrana e conteúdo; relação área superficial/volume: variação com a idade globular (da forma discoide para esferóide). Deformabilidade globular na macrocirculação (por acção de forças hemodinâmicas) e na microcirculação (por adaptação a calibres vasculares mais restritos).

**3. Sistema de transporte de oxigénio** – Transporte de oxigénio fixado à hemoglobina, (dos pulmões para os tecidos periféricos) com retorno do  $CO_2$  (sob diversas formas). Revisão da importância metabólica do oxigénio (nas reacções aeróbias). Principais componentes do sistema de transporte de oxigénio: trocas gasosas pulmonares, sistema cardiovascular, concentração da hemoglobina e afinidade da hemoglobina para o oxigénio. Noção de pressão parcial de oxigénio (e de outros gases no sangue). Gradiente de  $PaO_2$  a nível dos tecidos e  $PvO_2$  resultante.

**4. Curva de saturação da hemoglobina com oxigénio** – Mecanismo e local de fixação de  $O_2$  nas moléculas de hemoglobina; bolsas do heme nas 4 subunidades constituintes de cada tetrâmero; fixação de cada molécula de oxigénio na 6ª posição de coordenação do átomo do ferro (bivalente) orientada para a histidina distal (com ligação do heme à histidina proximal, da 5ª ligação de coordenação). Equilíbrio oxi-hemoglobina e desoxihemoglobina; curva de dissociação da oxi-hemoglobina (por efeito cooperativo positivo entre as 4 subunidades do tetrâmero). Comparação à molécula de mioglobina (constituída apenas por uma cadeia hemoproteica). Estados de conformação da hemoglobina (R, da oxi-hemoglobina, e T da desoxihemoglobina), na dependência de pontes salinas entre as diversas subunidades (designadamente entre  $\alpha_2\beta_1$  e  $\alpha_1\beta_2$ ). O efeito Bohr (ácido e alcalino), como exemplo de mecanismo alostérico particular (a mesma molécula fixa alternadamente  $O_2$  e prótons). Determinação e significado da P50 (pressão de oxigénio que satura

50% da hemoglobina com oxigénio). Principais moduladores fisiológicos e bioquímicos da curva de dissociação da oxi-hemoglobina: temperatura, protões,  $\text{CO}_2$  e 2,3-bisfosfoglicerato. Síntese do 2,3-BPG (via de Rapport-Luebering), e fixação a resíduos catiónicos da cadeia  $\beta$ , provocando o aumento da P50 por 2 mecanismos: rotação e afastamento relativo das cadeias  $\beta$ , com a dissociação das moléculas de  $\text{O}_2$  da  $\text{O}_2\text{Hb}$ , e por diminuição local do pH (pelas características químicas do 2,3-BPG). Fixação do  $\text{CO}_2$ , a resíduos das 4 subunidades, com formação de carbamino-hemoglobina, e dissociação do  $\text{O}_2$ . Outras formas de transporte do  $\text{CO}_2$  da periferia para os pulmões: em solução no plasma e sob a forma de  $\text{RCO}_3^-$ . Trocas gasosas a nível dos tecidos e pulmões; mecanismos e importância da anidrase carbónica eritrocitária.

**5. Oxigenação tecidual** – Controlo metabólico da microcirculação. Sistema de oxigenação em cone truncado. Definição de hipoxia, anoxia e disoxia. Definição e causas (pulmonares e extra-pulmonares) da hipoxemia. Causas e significado da isquémia. Mecanismo de adaptação à hipoxia (por regulação local (recrutamento de novos capilares) ou variações (global ou parcial) dos principais componentes do sistema de transporte de oxigénio).

### **27ª e 28ª Aulas – Metabolismo do ferro e eritropoiese contributo do ácido fólico e vitamina B12**

**1. Caracterização e propriedades químicas do ferro** – O ferro no estado  $\text{Fe}^2$  (ferroso) e  $\text{Fe}^{3+}$  (férrico). Afinidade para átomos electronegativos (p.ex., oxigénio). Estado redox: em meio ácido ( $\text{Fe}^2$ ) e meio neutro ou alcalino ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Formação de agregados e precipitados do complexo com  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{OH}^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  ou aniões diversos. Fixação do ferro a macromoléculas (quelatação), influenciando propriedades e funções; acção protectora de proteínas fixadas de ferro (armazenamento e transporte): grande afinidade para o metal e insaturação relativa. Mecanismos subjacentes na transferência do ferro entre macromoléculas distintas (com base no estado redox e na quelatação, ambos favoráveis ao  $\text{Fe}^{3+}$ ).

**2. Compartimentos corporais do ferro** – Principais compartimentos de ferro no organismo (% decrescente), hemoglobina, depósito, mioglobina, lábil, outras formas e transporte. Ligação directa a resíduos proteicos (não-hemínica) ou indirecta unindo-se à protoporfirina (hemínica); diferenças entre heme (com  $\text{Fe}^{2+}$ ) e hematina (com  $\text{Fe}^{3+}$ ). Funções das proteínas com ferro hemínico: transporte (hemoglobina) ou reserva (mioglobina) de oxigénio, e catálise enzimática como grupos prostético (p.ex., na catalase). Funções das proteínas com ferro não-hemínico: transporte (transferrina) ou reservatório tecidual (ferritina, hemossiderina) de ferro, catálise enzimática (presença em centro activo) e outras reacções redox não enzimáticas (grupos

Fe-S ou ferredoxinas) Caracterização e propriedades da (apo)transferrina ( $\beta_1$ -glicoproteína, sintetizada nos hepatócitos e também nas células de SRE), fixação preferencial de  $\text{Fe}^{3+}$ , em 2 centros de cada molécula de transferrina, na presença de um anião (em geral  $\text{CO}_3^{2-}$ ) por cada átomo de ferro trivalente que se fixa. Mecanismo de captação: fixação a receptores celulares para a transferrina, endocitose do complexo e dissociação de ferro nos lisossomas, com recuperação da apotransferrina e receptor. Caracterização e propriedades da ferritina – estrutura camada proteica periférica (24 monômeros do tipo H e tipo L), e núcleo central de  $\text{FeOOH}$  ( $\text{Fe}^{3+}$  + hidróxido + fosfato); capacidade de saturação (máximo de 4500 átomos de  $\text{Fe}^{3+}$ /molécula; em geral 1/2 a 2/3 saturada); a deposição do ferro em excesso na periferia das moléculas de ferritina origina a hemossiderina (cristais de  $\text{FeOOH}$ , insolúvel em água e com pouco ou nenhuma apoferritina na sua estrutura). Mobilização do ferro da ferritina (reverte de  $\text{Fe}^{3+}$  em  $\text{Fe}^{2+}$ ), sendo re-oxidado (por ação da ceruloplasmina plasmática) antes de se fixar à transferrina.

**3. Balanço de ferro corporal. Perdas e absorção intestinal de ferro** – Necessidades diárias na dieta. Variação com estado fisiológico. Perdas fisiológicas por descamação epitelial e faneras, hemorragias menstruais. Aumento da necessidade nas fases de crescimento corporal e gravidez (4-5 vezes o normal). Digestão alimentar, com separação de ferro dos ligandos; a redução ao estado ferroso no estômago (a pH ácido) e na presença de redutores (em geral ascorbato) facilita aquela dissociação. Absorção no intestino delgado (designadamente no duodeno) como grupo heme ou ião livre; na presença de secreções pancreáticas com bicarbonato, o ferro passa ao estado férrico; a quantidade absorvida para a circulação é regulada pelas necessidades corporais, através da variação da síntese de apoferritina (por modulação da aconitase citoplásmica que se fixa ao IRE (-elemento de resposta ao ferro do RNAm da apoferritina) nas células da mucosa intestinal: a síntese aumenta quando o organismo não requer mais ferro, retendo-o como reserva no epitélio intestinal, e vice-versa.

**4. Transporte de ferro e eritropoiese** – Ciclo endógeno de ferro; reutilização constante e quase integral do ferro do plasma (unido à transferrina) para a medula óssea (eritroblastos, para a síntese de hemoglobina), sangue circulante (na hemoglobina dos eritrócitos maduros), e captação pelas células de SRE (monócitos-macrófagos, por senescência eritrocitária). Uma quantidade mínima (1 mg) é perdida ou transferida diariamente, sendo substituída por quantidades equivalentes da dieta. Endocitose do complexo transferrina-ferro, após fixação aos receptores membranares das células alvo; características estruturais dos receptores da transferrina. Mobilização do complexo da membrana para o citoplasma, com fusão aos lisossomas, libertação local de ferro e reciclagem do receptor-apotransferrina para a membrana (onde se fixa ao receptor) e recupera-

ção da apoferritina no plasma para transporte de átomos de ferro adicionais. Destino de ferro nos eritroblastos: mitocôndrias para a síntese do heme, ou para os lisossomas (siderossomas) formando ferritina. Controle recíproco da síntese do receptor de transferrina, apoferritina e heme (síntese do ALA) pela concentração de ferro intracelular tradução genética (do respectivo RNA). Carências de ferro (na anemia ferropénica); depósito de ferro em excesso (hemocromatose).

**5. Captação e reserva de ferro** – Degradação da hemoglobina nas células de SRE. Libertação do ferro da ferritina, com redução (na presença de FMN) do ferro ao estado bivalente até atravessar a membrana celular, após o que é oxidado pela ceruloplasmina plasmática antes de se fixar à transferrina. As células de SRE também regulam a concentração de transferrina (sintetizam apotransferrina e captam/degradam a transferrina circulante).

**6. Funções eritropoiéticas do ácido fólico** – Revisão das características químicas, origem e necessidades nutricionais. Metabolismo do folato – etapas enzimáticas com participação mais relevante (destaque para a síntese das purinas e do DNA).

**7. Funções eritropoiéticas da cobalamina** – Revisão das características químicas das cobalaminas, origem e necessidades nutricionais. Absorção intestinal e factor intrínseco; a transcobalamina celular. Principais acções metabólicas (a nível da metilmalonil-CoA mutase e metiltransferase de homocisteína). Interrelação folato-cobalamina e anemias megalobásticas.

---

#### **29ª e 30ª Aula – Revisões:**

1. Síntese e degradação do heme (intra e extra vascular). Proteínas transportadoras intravasculares de hemoglobina (haptoglobina) e grupos heme (hemopexina). Formação e eliminação de bilirrubina.
  2. Função respiratória do sangue.
  3. Eritropoiese e síntese da hemoglobina.
  4. Metabolismo do ferro, folato e vitamina B 12.
- 

#### **31ª Aula – Metabolismo eritrocitário**

**1. Generalidades** – Necessidades energéticas/funções prioritárias: conservação do ferro da hemoglobina no estado bivalente; equilíbrio  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$  intraglobular, versus gradiente extraglobular; conservação dos

grupos sulfidrílicos de enzimas, membrana e hemoglobina no estado reduzido; conservação da forma discoide bicôncava. Consequências de alterações incidentes naquelas funções: remoção eritrocitária da circulação pelo baço e sistema fagocitário (monócitos-macrófagos), oxidação da hemoglobina em metahemoglobina, esfericidade/rigidez globular. Metabolismo da glicose (substrato virtualmente único) pela glicólise anaeróbia e via das fosfopentoses nos eritrocitos maduros. Consequências de defeitos enzimáticos: anemias hemolíticas.

**2. Via glicolítica** – A oxidação aeróbia é possível unicamente nos reticulocitos e fases de maturação antecedentes. Mecanismo de captação da glicose através da membrana eritrocitária (por transportador inespecífico para a glicose e outros açúcares), independente da insulina. Grande sensibilidade da glicólise a  $\text{pH} < 7,0$ , com virtual perda da actividade; a valores de  $\text{pH} > 7,0$  aumenta a actividade glicolítica, embora limitada pela disponibilidade em  $\text{NAD}^+$ . Flexibilidade glicolítica a nível de 1,3 BPG, com formação de ATP ou 2,3-BPG, e 3PG. Regulação da concentração de 2,3-BPG (através da actividade da mutase e fosfatase) pelo  $\text{pH}$  ( $> 7,0$  estimula a sintase, enquanto o aumento de  $[\text{H}^+]$  inibe a mutase e activa a fosfatase, diminuindo a concentração) e concentração relativa desoxi Hb/oxi Hb (apenas a desoxi Hb fixa 2,3-BPG, estimulando a síntese deste metabolito). Utilidade do NADH (reduzindo a metahemoglobina em hemoglobina, ou convertendo o piruvato em lactato), com formação final de piruvato ou lactato. Contributo destes produtos para a gliconeogénese.

**3. Via das fosfopentoses** – Funções prioritárias: redução da  $\text{NADP}^+$ . Utilização da NADPH nas reacções catalisadas pelo glutatião-redutase (e glutatião peroxidase). Eliminação activa da GSSH dos eritrocitos por ATPase específicas.

**4. Redução da metahemoglobina** – Sistema NADH-dependente: Metahemoglobina-redutase (ou NADH diaforase); o NADH reduz o cito cromo 5, o qual converte o  $\text{Fe}^{3+}$  da metahemoglobina em  $\text{Fe}^{2+}$ . Sistema NADPH-dependente (requerem aceitador artificial de electrões, p.ex. azul de metileno). Redução pelo GSH e ácido ascórbico: participação irrelevante.

**5. Metabolismo do glutatião** – Síntese e utilidade da GSH (eliminação directa e indirecta do peróxido de hidrogénio, redução de grupos sulfidrílicos das proteínas intraglobulares oxidadas). Activação da glutatião peroxidase (redução de  $\text{H}_2\text{O}$  resultante do superóxido dismutase em  $\text{H}_2\text{O}$ ) e da glutatião redutase (redução do GSSG em GSH, dependente de NADPH). Eliminação do glutatião oxidado por ATPases específicas. Eliminação de xenobióticos pelo glutatião S transferase.

**6. Outros substratos e outras enzimas eritrocitárias** – Outros substratos: adenosina, inosina, frutose, manose, galactose, gliceraldeído e

dihidroxiacetona. Aproveitamento da adenosina (conversão sucessiva em inosina, ribose 1-P e hipoxantina, com interferência na síntese de ATP); galactose (conversão em glicose 6-P), manose e frutose (conversão em frutose 6-P); gliceraldeído e dihidroxiacetona (fosforilação em trioses-fosfato). Outras enzimas mais relevantes: catalase (decomposição de concentrações elevadas de  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e oxigénio). Superóxido dismutase (protegendo a hemoglobina e outros componentes globulares do anião superóxido), acetilcolinesterase, (relacionada com a fixação da fosfatidilinositol e outras funções não clarificadas), adenosina 3,5' monofosfato desaminase (regulação da concentração de nucleótidos adenílicos), proteínas-cinase membranares (transferência do grupo fosforilo do ATP para proteínas do citoesqueleto), enzimas proteolíticas (calpaína), ATPases ( $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ).

**7. Síntese dos nucleótidos** – Idêntica à de outros tipos celulares. Prevalece a via de recuperação para os nucleótidos púricos (pela fosforibosil transferase da adenina e guanina-hipoxantina). Síntese do NAD e NADP pelos mecanismos habituais.

---

### **32ª Aula – Membrana eritrocitária**

**1. Composição e estrutura** – Principais constituintes: bifolheto lipídico, proteínas integrais e citoesqueleto: (a) Bifolheto lipídico – Composição 95% de fosfolípidos (P), e colesterol (C); distribuição relativa (proporção molar P/C = 1,3). Distribuição assimétrica dos fosfolípidos; fracção predominante no folheto externo: fosfatidilcolina (28%), e esfingomiéline (26%); predominantes no folheto interno: fosfatidilcolina-etanolamina (27%), fosfatidilserina (13%) e fosfatidilinositol (2-5%). Consequências da modificação daquela distribuição e mecanismos corretores (movimentos passivos transmembranares, acção de translocase ou flipase, acção estabilizante do citoesqueleto). Fluidez do bifolheto lipídico (variação entre estado líquido normal e estado gel, com base no conteúdo do colesterol, e da insaturação e comprimento da cadeia fosfolipídica). Síntese lipídica (durante a eritropoiese). Trocas de fosfolípidos e colesterol entre as membranas de eritrocitos maduros e de lipoproteínas em circulação; participação de LCAT (lecitina colesterol aciltransferase) e incorporação activa de ácidos gordos em lisofosfolípidos de membrana, gerando fosfatidilcolina. (b) Proteínas de membrana (citoesqueleto e integrais). Disposição relativa no bifolheto membranar (o citoesqueleto reveste a superfície interna em cerca de 60% enquanto as proteínas integrais atravessam o bifolheto). Disposição do citoesqueleto numa malha de “hexágonos” adjacentes, em contacto com as proteínas integrais. Interações verticais: espectrina-anquirina-banda 3, espectrina-proteína 4.1-glicoforina, espectrina-fosfatidilserina (consequências de defeitos nas interações verti-

cais: perdas lipídicas, originando esferocitose). interações horizontais espectrina-proteína 4.1-anquirina e dímero-dímero de espectrina (consequência de defeitos nas interações horizontais: perda da integridade do citoesqueleto e originando eliptocitos ou fragmentação globular. Modulação das proteínas membranares: modificações irreversíveis (p.ex. metilação, glicosilação, oxidação) e dinâmicas (fosforilação).

**2. Propriedades físicas** – Dobragem, deformação (distensão, deformação plástica), expansão (do folheto externo ou do folheto interno): reflectem as propriedades conjuntas do bifolheto lipídico e citoesqueleto. Deformação eritrocitária – factores determinantes (geometria globular, viscosidade do conteúdo, propriedades viscoelásticas da membrana). O citoesqueleto como principal determinante da integridade membranares (integridade estrutural e estabilidade do bifolheto lipídico). Determinantes da forma globular: relação área superfície/volume globular, composição da membrana em fosfolípidos e colesterol, e características do citoesqueleto.

**3. Permeabilidade** – Virtualmente impermeável a catiões mono e divalentes (justificando  $K^+$  elevado intraglobular, e  $Na^+$  e  $Ca^{2+}$  diminuídos, relativamente aos valores intraglobulares) e permeável a aniões (através da proteína transportadora aniónica), moléculas de água (canais proteicos) e glicose (transportador). Sistemas de transporte com acção no volume globular (cotransporte  $K^+-Cl^-$  e efeito Gardos). Bombas cationicas (dependente de ATP): bomba de  $Na^+$  ouabaína sensível ( $Na^+$ ,  $K^+$  ATPase) e bomba de  $Ca^{2+}$  ( $Ca^{2+}$  ATPase).

**4. Superfície globular** – Carga eléctrica (negativa, derivada dos resíduos de ácido neuramínico – 90% presente na glicoforina A), antigénios (grupos sanguíneos) e receptores. Ancora glicosilfosfatidilinositol: caracterização bioquímica, localização e funções (ligações do sector hidrofóbico às proteínas hidrofílicas da superfície externa); proteínas da superfície externa (com mobilidade lateral e rotação) e interacção com meio -envolvente (p.ex. aglutinação globular).

**5. Grupos sanguíneos** – Determinantes antigénicos (cerca de 100, referentes a 21 sistemas independentes de grupos sanguíneos humanos). Controlados por 1 locus genético com diversos alelos. Caracterização bioquímica de sistemas ABO, Rh, e MN. Substâncias (antigénios) do sistema ABO (oligosacáridos complexos), e precursores (substância H). A substância H como precursor dos antigénios A e B e identificador do tipo O. Sistema Rh. O factor Rh (antigénio D) é uma proteína integral em interacção com fosfolípidos da membrana eritrocitária. Sistema MN – determinado por glicoforinas A e B.

---

**33ª, 34ª e 35ª Aulas – Leucócitos: estrutura, metabolismo e funções**

**1. Caracterização e origem** – Os dois grandes grupos de leucócitos: fagócitos (granulócitos e monocitos-macrófagos) e imunócitos (linfócitos e plasmócitos). Produção medular e cinética de granulócitos e monocitos-macrófagos. Mecanismo de fagocitose/pinocitose de partículas estranhas ou elementos celulares não-viáveis (etapas – acumulação no local, ligação, captação, destruição, eliminação). Produção e maturação dos linfócitos; órgãos linfáticos primários (medula óssea e timo), secundários (baço, gânglios, tecido linfático subepitelial do tubo digestivo), presença em circulação (sangue e linfa). Funções prioritárias (memória, especificidade) na defesa do organismo; linfócitos T e B função e localização. Imunoglobulinas (anticorpos) – tipos e características estruturais. Cinética (diferenciação, proliferação e destino dos linfócitos). Participação dos mastócitos nas funções de defesa e interacção com granulócitos eosinófilos. Cinética dos neutrófilos (na medula, sangue e tecidos).

**2. Composição e metabolismo** – Granulócitos – conteúdo dos grânulos primários e secundários; actividade específica (designadamente microbicida, antibacteriana, enzimas diversas). Principais vias metabólicas (glicólise aeróbia, via das fosfopentoses, metabolismo oxidativo, metabolismo lipídico).

**3. Funções dos neutrófilos** – Quimiotaxia, motilidade e fagocitose. Oponinas e factores quimiotáxicos. Atracção, rolamento e adesão dos leucócitos activados às paredes vasculares. Factores de adesão (selectinas) e agregação (integrinas). Estímulo-resposta leucocitária: interacção ligando-receptor, proteína G, metabolismo fosfolipídico (fosfatidilinositois, com formação de IP<sub>3</sub> e 1,2-diacilglicerol). Mobilização e influxo de cálcio, acção do Ca<sup>2+</sup> como efector (p.ex. activação da proteína-cinase C e desgranulação). Formação de eicosanóides, a partir de araquidonato, com destaque para os leucotrienos e tromboxano B<sub>2</sub>. Fagocitose e mecanismos bactericidas: mecanismos não-oxidativos e oxidativos. Componentes do sistema oxidativo: radicais livres de oxigénio e sistema NADPH-oxidase.

**4. Funções dos eonófilos, basófilos e mastócitos** – Relação com a composição granular. Mediadores eosinófilos (lipídicos, proteicos, citocinas), funções (defesa antiparasitária). Composição dos grânulos dos basófilos e mastócitos (proteoglicanos); contribuição para respostas de hipersensibilidade imediata e tardia.

---



**36<sup>a</sup>, 37<sup>a</sup> e 38<sup>a</sup> Aulas – Plaquetas, coagulação,  
fibrinólise e parede vascular**

**1. Hemostase** – Conceito, componentes (vasos sanguíneos, corpúsculos sanguíneos, proteínas plasmáticas) e fases principais (vasoconstrição, rolhão plaquetário, coágulo, dissolução do coágulo)

**2. Plaquetas** – Origem medular (megacariopoiese) e cinética. Características estruturais. Constituição plaquetária – zona periférica (glicocálice, membrana, sistema canalicular aberto), zona-sol gel (microtúbulos, microfilamentos, trombostenina, sistema tubular denso), zona dos organitos (corpos densos, grânulos menos densos, e outros). Caracterização bioquímica do glicocálice (tipos e significado funcional das diversas glicoproteínas) e da membrana plasmática. Caracterização bioquímica dos corpos densos e grânulos a. Significado dos sistemas membranares (canalículos, túbulos). Estímulos e receptores membranares. Sequência da resposta plaquetária aos estímulos exógenos: adesão, agregação, coesão e efeitos. Formação do rolhão primário (plaquetas e fibrina) e vasoconstrição. Sequência bioquímica da transdução do sinal (estímulo) na activação plaquetária: activação da proteína G e da fosfolipase C, hidrólise do fosfatidilinositol bisfosfato (PIP<sub>2</sub>) em inositol 1,4,3-trifosfato e 1,2-diacilglicerol, e subsequente efeito de 2<sup>o</sup> mensageiro intracelular (mobilização do Ca<sup>2+</sup> e activação da proteína cinase C) no desencadeamento da activação plaquetária (agregação e desgranulação). Amplificação da resposta plaquetária pelos eicosanoides formados dos fosfolípidos de membrana (activação da fosfolipase A<sub>2</sub>, formação de araquidonato, transformação em PGG<sub>2</sub> e PGH<sub>2</sub>, e formação de tromboxano A<sub>2</sub>). Formação da prostaciclina nas células endoteliais por mecanismo semelhante. Mecanismo de modulação da função plaquetária através da concentração de AMPc (activação da proteína cinase, fosforilação de proteína-receptor, subsequente captação de Ca<sup>2+</sup> intracelular), de que resulta uma plaqueta hipoaderente e hipoagregável.

**3. Proteínas plasmáticas da coagulação** – Sistemas de proteínas interactivas na hemostase: coagulação, fibrinólise, cininas, complemento e inibidores respectivos. Proteínas da coagulação e sistemas de coagulação (extrínseco e intrínseco) conducente à formação do factor Xa, formação de trombina e formação de fibrina. Componentes gerais dos sistemas da coagulação: serina proteases (por activação de zimogénios – factores II, VII, IX, X, XI, XII), cofactores (factor V, VIII e factor tecidual), superfície estranha ou membrana, iões cálcio. As serina proteases dependentes da vitamina K (II, VII, IX) têm resíduos de carboxiglutamato para fixarem Ca<sup>2+</sup>. Via comum da coagulação: formação de trombina e de fibrina. A conversão do fibrinogénio em fibrina pela trombina, com remoção dos fibrinopéptidos A e B. Monómeros de fibrina e polímeros; estabilização em rede insolúvel pelos factor XIIIa (ou transglutaminase). Acção múltipla da trombina no processo de coagulação e

fibrinólise: agregação plaquetária, formação de fibrina, activador do factor XII, redução da própria síntese (ao unir-se antitrombina III), activador da proteína C. Acção anticoagulante da proteína C: activação pelo complexo trombina-trombomodulina e proteína S, com degradação dos factores V e VIII e activação da fibrinólise. Actividade da antitrombina III como inibidor da trombina, na presença de heparina.

**4. Proteínas dos sistemas fibrinolítico, cininas, complemento e inibidor** – Sistema fibrinolítico: proenzima plasminogénio e conversão na enzima fibrinolítica activa, a plasmina. Efeitos resultantes: lise de fibrina e do plasminogénio em fragmentos peptídicos, degradação de proteínas da coagulação (V, VIII, IX e X) e outras proteínas. Dois sistemas activadores do sistema fibrinolítico: através de tPA e/ou do factor XIIIa (que actua através da calicreína). O tPA. Inibição do sistema fibrinolítico (acção da plasmina pela  $\alpha$ -antiplasmina e pela  $\alpha$ -macroglobulina. O activador do plasminogénio tecidual (tPA) derivado do endotélio é inibido por outros 2 factores PAI-I e PAI-2 (inibidores do activador do plasminogénio). Sistema de complemento: activação da via clássica (activação da fracção C<sub>1</sub> por complexos antígeno-anticorpo) ou da via alternativa (via da propedina, através do C<sub>3</sub>), por Ig, lipopolissacáridos bacterianos, e outras), com formação do C<sub>5</sub> (fase de activação) a que se segue a fase de ataque (com formação de C<sub>8</sub>-C<sub>9</sub>), com lesão celular e opsonização (fagocitose e destruição de agente microbianos opsonizados). Sistema das cininas (por activação do cininogénio pela calicreína) e efeitos associados: fibrinólise, activação do complemento com lise celular, coagulação, vasodilatação, entre outros. Sistemas de inibidores (incluído no texto).

**5. Endotélio** – Características próprias de órgão endócrino e propriedades hemostáticas. Formação da prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) e do factor relaxante do endotélio (EDRF) e do monóxido de azoto (NO), glicosaminoglicanos (heparano-sulfato e dermatano-sulfato) e activadores teciduais do plasminogénio (tPA), antitrombina III, proteína C, proteína S, trombomodulina e inibidor do factor tecidual (do complexo VII – factor tecidual).

### **39ª, 40ª e 41ª Aulas – Músculo e exercício muscular**

**1. Caracterização estrutural e funcional do músculo** – Tipos de músculo (esquelético cardíaco e liso) e movimento/contracção. Organização estrutural do músculo-esquelético em fibras (células multinucleadas), compostas por sarcolema, sarcoplasma e miofibrilhas. O sarcómero como unidade funcional, bandas I, A, M zona H, linhas Z e filamentos. Composição dos filamentos: espessos (miosina) e finos (actina, troponina e tropomiosina). O sistema troponina (TpC, TpI,

TpT). Modelo contráctil (deslizamento recíproco dos filamentos finos e espessos) durante a contração e relaxamento musculares. Constituição da miosina: segmento globular e segmento fibroso. Localização da actividade ATPase e sector de união à actina na porção globular.

**2. Mecanismo bioquímico da contração e relaxamento** – Significado da transdução energética (energia eléctrica em energia química, e desta em energia mecânica). Estímulo contráctil e despolarização (do nervo, sarcolema e membranas do sistema tubular); abertura do canal de  $\text{Ca}^{2+}$  do retículo sarcoplasmático, e aumento da concentração no sarcoplasma. Fixação do  $\text{Ca}^{2+}$  à TpC, interacção com TpI e TpT, modificação funcional da tropomiosina e interacção subsequente do segmento globular da miosina com o sector de fixação na actina F. Ciclo de contração muscular e participação do ATP; formação e dissociação da actomiosina. Regulação do nível intracelular do  $\text{Ca}^{2+}$ , calsequestrina, (proteína fixadora do  $\text{Ca}^{2+}$  no retículo sarcoplasmático), e sistema de transporte da  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase. Particularidades contrácteis do músculo cardíaco e do músculo liso. Activador ( $\text{Ca}^{2+}$ ) e inibidores da contração do músculo-esquelético (sistema de troponina) e do músculo liso (desfosforilação da cadeia leve p da miosina; caldesmon). Mecanismo regulador do AMPc. Particularidades do músculo liso vascular: relaxamento muscular induzido pela monóxido de azoto (NO), formação do NO a partir da arginina, por sintase específica.

**3. Metabolismo do músculo em repouso e exercício, período de recuperação** – Tipos de fibras contrácteis (vermelhas e brancas) do músculo-esquelético: proporção variável com a função muscular e o treino. Características metabólicas de cada tipo de fibras. Reservas energéticas e tipo de exercício físico: fosfogénios (ATP e fosfocreatina), glicogénio, triglicéridos. Proveniência do ATP para consumo muscular (glicogenólise e glicólise, fosforilação oxidativa, fosfocreatina). Importância da creatina fosfocinase e da adenilato cinase na regulação do ATP. Reutilização do ADP pela adenilato cinase, outras interconversões dos nucleótidos adenílicos (com formação de  $\text{NH}_3$ , adenosina, AMP e Pi). Activação das enzimas chave de glicólise (pelo AMP, Pi,  $\text{NH}_3$ ) e da glicogenólise (pela AMP,  $\text{Ca}^{2+}$  e epinefrina) durante o exercício muscular. Formação da fosfocreatina e conversão em creatinina; a creatinina como índice de massa muscular. Nutrientes do músculo em repouso e em actividade (anaeróbica e aeróbia). Formação de lactato e “divida” de oxigénio na fase de repouso, com recuperação das reservas de fosfogénio e glicogénio (muscular e hepático). Metabolismo proteico em exercício: síntese e libertação da alanina e glutamina, ciclo da glicose-alanina, importância da gliconeogénese para a homeostase da glicemia. Metabolismo lipídico durante o exercício: hidrólise de triglicéridos, utilização preferencial de ácidos gordos, consumo de corpos cetónicos. Influência da insulina, glicagina e epinefrina na homeostase da glicémia e interacções metabólicas durante o exercício.

---

### **42ª e 43ª Aulas – Bioquímica do osso**

**1. Estrutura e funcionalidade** – O osso como estrutura mecânica e reservatório de cálcio corporal. Dinâmica tecidual, assegurada por constante formação e reabsorção estrutural, por acção de osteoclastos, osteoblastos e osteócitos. A matriz extra celular constitui cerca de 90% do peso ósseo total, dos quais cerca de 60% é componente inorgânico (hidroxiapatite) e 30% é proteína (colagénio tipo 1, osteopondina, osteocalcina). Os osteoblastos na síntese da matriz orgânica do osso e regulação da respectiva mineralização. As proteínas osteopondina e osteocalcina na formação e remodelação óssea. Acção lítica dos osteoclastos a pH ácido.

**2. Modulação e remodelação ósseas** – A modulação (indução das dimensões e formas) durante o crescimento do esqueleto, e a remodelação (manutenção da forma, dimensões e estrutura) durante a vida adulta, com base num equilíbrio (instável) entre formação e reabsorção ósseas. Mecanismo interactivo da actividade dos osteoblastos e osteoclastos, através de sinais químicos. Factores locais e gerais reguladores da reabsorção óssea. Acção das hormona paratiroideia na activação dos osteoclastos (via AMPc ou redistribuição do cálcio intraglobular) e subsequente reabsorção óssea. A calcitonina como inibidor hormonal da reabsorção óssea, ao actuar nos osteoclastos, inibindo-lhe a actividade e proliferação. Acção dos factores hormonais e locais no controlo da formação óssea (a nível da proliferação e da diferenciação dos osteoblastos).

**3. Hormonas reguladoras do metabolismo do cálcio** – Principais hormonas participantes: paratormona (PTH) e calcitriol [ $1,25(\text{OH})_2\text{-D}_3$ ]; participação acessória da calcitonina (inibição aparente da actividade dos osteoclastos). Características da paratormona, forma inactiva (prepro PTH, pro-PTH) e activa (PTH); destinos da PTH (reservatório intra-glandular, degradação intraglandular ou secreção). Regulação da síntese, metabolismo e secreção da PTH; fixação a receptores periféricos e mecanismo de acção na homeostase da  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$ . Calcitriol; síntese do metabolismo (pele, fígado e rim). Regulação da síntese e metabolismo. Acção celular, fixação a receptores intracelulares, acção na absorção intestinal e formação do osso.

**4. Mecanismo do cálcio no osso** – O osso como reservatório do cálcio (cerca de 99% de 1Kg corporal), que combinado ao fosfato (formando cristais de hidroxiapatite) assegura a estrutura (mecânica) do osso. Apenas 2% do cálcio ósseo é livremente miscível com outros componentes; a maioria, sob a forma de hidroxiapatite, não é facilmente miscível. No plasma/soro, o  $\text{Ca}^{2+}$  forma complexos com ácidos orgânicos (p.ex. citrato, fosfato), proteínas (geralmente a albumina, fornecida a pH alcalino) ou está ionizado (único estado activo, pH ácido); os níveis extracelulares são rigidamente controlados pelas hormonas específicas. Nas células, a concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  ionizado é muito baixa. Mecanismos de transporte do  $\text{Ca}^{2+}$  transmembranar e proteínas fixadoras de cálcio (intracelular e extracelular).

---

## 2.2.2 – Ano lectivo de 2004/05

### PROGRAMA E CONTEÚDOS

#### I – Objectivos gerais

Ensino-Aprendizagem de conteúdos da Bioquímica na perspectiva da sua utilização e aplicação em contextos de intervenção médica.

#### II – Metodologia do ensino

**Conhecimentos de base** – Os capítulos do *Metabolismo Geral* e da *Intercunicação Celular*, do programa de Bioquímica Celular, constituem matéria nuclear do programa de Bioquímica Fisiológica.

**Plano Geral do Curso** – O ensino de Bioquímica Fisiológica decorre em aulas: teóricas (T), teórico-práticas (TP) e seminários (S). É incentivada a aprendizagem não presencial, quer individual quer em grupo de trabalho.

1. **Aulas teóricas:** Aulas plenárias com frequência voluntária, com a duração máxima de uma hora cada, que perspectivam a matéria na generalidade e através de exemplos.

Os sumários, palavras-chave e esquema de cada aula são editados no “Programa de Estudos” da disciplina.

2. **Aulas teórico-práticas:** Duração máxima de duas horas cada, com frequência obrigatória (2/3 do total). Decorrem em 8 turmas, organizadas em grupos de trabalho de cinco alunos. Pretende-se que o aluno (isoladamente e em grupo) aprenda a resolver problemas de bioquímica aplicada.

3. **Seminários:** Espaços criados no programa para debate multitemático pluridisciplinar, com potencial aplicação clínica. Duração máxima de duas horas cada.

#### III – Escolaridade

A actividade lectiva abrange 21 semanas de aulas.

As *aulas teóricas* têm lugar às 2<sup>as</sup>, 4<sup>as</sup> e/ou 6<sup>as</sup> f, das 12 às 13h (excepcionalmente, alguns módulos terão de ser leccionados das 13 às 14 horas). Os *seminários da disciplina* decorrem em período alargado das aulas teóricas às 4<sup>as</sup>.f. As *aulas teórico-práticas* decorrem durante os dias úteis, em horário definido no início do ano e afixado.

**IV – Calendário**

É o seguinte o calendário oficial previsto para Bioquímica Fisiológica:

Período de Aulas	18 Out. 2004 a 27 Maio 2005
Férias do Natal	23 Dez 2004 a 31 Dez 2004
Férias de Carnaval (período intercalar)	7 e 8 Fev. 2005
Férias de Páscoa	21 a 29 Março 2005

**1ª. Época*****Em provas parciais***

1ª Parte (escrita)	9 Fevereiro 2005
2ª Parte (escrita)	16 Junho 2005
Oral	17 a 23 Junho 2005

***Em exame único (escrita)***

1ª Chamada	14 Junho 2005
2ª Chamada	16 Junho 2005
Oral	17 a 23 Junho 2005

**2ª. Época**

Escrita	9 Setembro 2005
Oral	<i>Dias seguintes</i>

**V – Classificação**

- O aproveitamento na disciplina requer: frequência nas aulas teórico-práticas (no mínimo de 2/3 do total) e classificação final igual ou superior a 10 valores no exame (escrito e oral).
- Não tendo frequência (por faltas), o aluno perde o direito a ser avaliado no mesmo ano lectivo (excepto trabalhadores estudantes).
- O exame de 1ª época pode ser efectuado em duas provas parciais, ou em uma prova única escrita.
- Os alunos que optarem por realizar o exame em duas provas parciais, são dispensados de parte da matéria realizada na prova de Janeiro (conteúdos 2, 3 e 4 do programa); têm acesso à 2ª parte somente os alunos que tenham obtido aproveitamento (no mínimo 10 valores) na 1ª parte.
- Os alunos que tenham faltado ou que não obtiverem aproveitamento na 1ª parte, terão de realizar o exame completo em Junho ou Setembro.
- O exame (prova final em 1ª ou 2ª época) inclui parte escrita e parte oral (somente para os alunos com classificação entre 9,5 e 11,4 valores na prova escrita).
- Somente os alunos que obtenham aproveitamento em exame de 1ª época beneficiam da classificação em avaliação continuada atribuída pelo respectivo assistente (no mesmo ano em que realizarem o exame). A

avaliação continuada resulta da assiduidade, interesse e participação activa nos debates e exercícios realizados durante as aulas teórico-práticas, contribuindo o valor atribuído para 15% da classificação média final de exame.

## VI – Conteúdos do ensino teórico, teórico-prático e seminários

### A – Módulos

1. Metabolismo geral e Intercomunicação celular (conhecimento prévio de Bioquímica Celular)
2. Metabolismo complementar
3. Nutrição, equilíbrio energético e peso corporal
4. Digestão, absorção e aproveitamento metabólico geral de nutrientes
5. Adaptação, desregulação e anomalias metabólicas.
6. Formas activas de oxigénio, stress oxidativo e consequências bioquímicas.
7. Bioquímica do sistema nervoso.
8. Bioquímica do músculo e do exercício físico.
9. Bioquímica do fígado e sistema biliar.
10. Acção bioquímica das principais hormonas.
11. Bioquímica do osso, cartilagem e hormonas reguladoras.
12. Bioquímica do rim, água, compartimentos corporais e líquidos orgânicos.
13. Bioquímica da função respiratória do sangue e da oxigenação dos tecidos.
14. pH e equilíbrio ácido-base.
15. Bioquímica do sangue e vasos sanguíneos.
16. Bioquímica da adaptação corporal ao stress, agressão e envelhecimento.

### B – Matéria individualizada

1. Matéria Nuclear de Bioquímica Celular, de conhecimento obrigatório:
  - a) *Constituintes e estratégias*: origem e natureza dos substratos metabólicos; vias metabólicas, destinos potenciais e produtos principais; oxidações metabólicas e sequências endergónicas; regulação e integração metabólicas.
  - b) *Metabolismo dos glúcidos*: glicólise; via das fosfopentoses; gliconeogénese; glicogenólise e glicogénese; aproveitamento metabólico da frutose, manose e galactose.
  - c) *Metabolismo dos lípidos*: catabolismo dos ácidos gordos ( $\beta$ -oxidação); cetogénese; biossíntese dos ácidos gordos; síntese e anabolismo de acilgliceróis.

- d) *Metabolismo das proteínas*: mecanismos de degradação das proteínas (normais e anormais; intracelulares e extracelulares): mecanismos ATP dependentes. Marcadores da degradação proteica; ubiquitina. Catabolismo geral dos aminoácidos: formação do amoníaco e da ureia; catabolismo do esqueleto carbonatado dos L- $\alpha$ -Aminoácidos (em geral). Renovação proteica: origem e destino dos aminoácidos.
- e) *Intercomunicação celular*: sinais e vias de intercomunicação celular; mecanismos de transdução transmembranar.

## 2. Nutrição, equilíbrio energético e peso corporal

Macronutrientes e micronutrientes (vitaminas oligoelementos). Valor biológico dos nutrientes: componentes da dieta; metabolismo basal; estado alimentar e estado de malnutrição. Importância bioquímica dos glícidos, lípidos e proteínas na composição da dieta; características e acções de alguns oligoelementos: cobre, zinco, crómio, vanádio, selénio, manganésio. Características e acção metabólica de algumas vitaminas: tiamina, niacina (e derivados), piridoxal-fosfato, riboflavina, ácido pantoténico, biotina, tocoferol, ácido ascórbico, derivados do caroteno.

## 3. Metabolismo Complementar

- a) *Catabolismo dos aminoácidos naturais*: valina; leucina; isoleucina; alanina; arginina; asparagina e aspartato; cisteína e cistina; fenilalanina e tirosina; glicina; glutamina e glutamato; histidina; lisina; metionina; prolina; serina; treonina; triptofano.
- b) *Derivados azotados de aminoácidos*: glicina;  $\beta$ -alanina; serina; metionina; cisteína e cistina; histidina; arginina e ornitina; triptofano; tirosina.
- c) *Metabolismo das glicoproteínas, glicosaminoglicanos e proteoglicanos*: mecanismos de síntese das glicoproteínas; glicosilação enzimática e não enzimática das proteínas (colagénio e elastina), glicoconjugados (glicoproteínas e proteoglicanos) e glicosaminoglicanos.
- d) *Metabolismo dos ácidos gordos insaturados e de eicosanoides*: ácidos gordos essenciais e araquidonato; prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos: enzimas específicas, derivados e funções metabólicas. Síntese e derivados do colesterol.
- e) *Metabolismo dos nucleótidos púricos e pirimídicos*: biossíntese dos nucleótidos púricos; regulação da síntese e formação dos principais derivados (FMN, FAD, NAD, NADP e coenzima A); catabolismo dos nucleótidos e nucleósidos púricos; biossíntese, regulação e catabolismo de nucleótidos pirimídicos.



#### 4. Digestão, absorção e aproveitamento metabólico geral de nutrientes

Secreção e enzimas da digestão; transporte de solutos através do epitélio digestivo; absorção dos nutrientes; distribuição dos nutrientes pelos principais órgãos; aproveitamento dos nutrientes glicídicos, lipídicos e proteicos pelos hepatócitos, adipócitos, miócitos, células nervosas e eritrócitos.

#### 5. Adaptação, desregulação e anomalias metabólicas

Estratégia metabólica e mecanismos reguladores. Principais vias metabólicas e centros de controlo: encruzilhadas metabólicas (a nível da glicose-6-fosfato, piruvato e acetil-CoA). Características metabólicas do sistema nervoso (cérebro), músculo (esquelético e cardíaco), fígado, tecido adiposo. Regulação hormonal do metabolismo energético – intervenção da insulina, glicagina e epinefrina. Controlo da glicemia (em jejum e pós-absorção). Interação entre o metabolismo dos glícidos, lípidos e proteínas. Lipoproteínas. Aumento das necessidades energéticas e utilização de reservas metabólicas. Adaptação metabólica às diferentes fases do jejum. Situações tipo de desregulação metabólica: Acidose láctica; cetogénese; anomalias do metabolismo glicídico; anomalias do metabolismo dos aminoácidos; anomalias da nutrição; anomalias do metabolismo lipídico e lipoproteico; anomalias do metabolismo das purinas e pirimidinas; anomalias do metabolismo das porfirinas.

#### 6. Formas activas de oxigénio, stress oxidativo e consequências bioquímicas

Origem e natureza química das formas activas do oxigénio; anião superóxido, radical oxidrilo, peróxido de hidrogénio; principais sistemas antioxidantes (superóxido dismutase; catalase; glutatião-peroxidase). Vitaminas com acção antioxidante (A, E, C). Origem e principais consequências do stress oxidativo (lipoperoxidação; oxidação de aminoácidos e proteínas; alteração das bases do DNA; clivagem de proteoglicanos; oxidação de açúcares). Radicais livres com azoto (monóxido de azoto e peroxinitrito). Envelhecimento, apoptose e degenerescência celular.

#### 7. Bioquímica do sistema nervoso

*Conceitos Básicos:* Potencial de repouso; potencial de acção, transmissão sináptica; integração e plasticidade sináptica; bioquímica dos sistemas de neurotransmissores centrais. *Bioquímica da visão:* retina; fotorreceptores; campo receptivo; vias ópticas; visão da forma; visão da cor; visão da profundidade; visão do movimento. *Bioquímica da audição:* organização da cóclea e do órgão de Corti; vias auditivas; audição da frequência e intensidade do som; processamento cortical da informação auditiva. *Bioquímica das funções corticais:*

estado de consciência; sono; coma; motivações; emoções; memória e aprendizagem; bioquímica das doenças psiquiátricas; bases bioquímicas da psicofarmacologia.

#### 8. Bioquímica do músculo e do exercício físico

Constituição molecular e mecanismo de contracção muscular (músculo esquelético, cardíaco e liso). Acção da acetilcolina e outros componentes do miorelaxamento. Dispêndio metabólico no ciclo contracção-relaxamento muscular. Adaptação metabólica ao tipo e intensidade de exercício físico.

#### 9. Bioquímica do fígado e sistema biliar

Hemoproteínas: biossíntese e degradação do heme; metabolismo (formação, secreção e eliminação) dos pigmentos biliares. Xenobióticos e mecanismos de destoxificação: reacções de hidroxilação e conjugação. Síntese e secreção de proteínas pelo hepatócito.

#### 10. Acção bioquímica das principais hormonas

Hierarquia do sistema endócrino. Regulação hormonal do metabolismo. Mecanismos de acção e efeitos das hormonas do sistema nervoso central (factores libertadores e inibidores) hipotalâmicos (CRH, TRH, GnRH, GHRH, GHRH, PRIH ou dopamina), hipófise anterior (corticotrofina, ACTH; tirotrofina, TSH; somatotrofina, GH; gonadotrofinas-luteotrofina, LH e folículo-estimulina, FSH), hipófise posterior (oxitocina e vasopressina), pâncreas (insulina, glicagina, amilina, polipéptido pancreático e somatostatina), gastrointestinais (secretina, gastrina, colecistocinina, péptido insulínico dependente da glicose, motilina, enteroglicagina, neurotensina, péptido intestinal vasoactivo, substância P, bombesina e encefalinas), tireoideia (triiodotironina, T<sub>3</sub>; tiroxina, T<sub>4</sub>; calcitonina) e feto-placentárias (esteroides, gonadotrofina coriónica, lactogénio), paratormona (PTH), córtex suprarrenal (mineralcorticoides e glicocorticoides), medula suprarrenal (catecolaminas: norepinefrina e epinefrina) e gónadas (androgénios, estrogénios e progesterona).

#### 11. Bioquímica do osso, cartilagem e hormonas reguladoras

Características estruturais e bioquímicas do osso. Remodelação óssea. Modificação da actividade dos osteoclastos por sinais químicos locais e gerais. Hormonas reguladoras do metabolismo do cálcio (hormonas paratiroideia, calcitriol e calcitonina): síntese e acção metabólica. Características químicas, transporte e localização do cálcio corporal. Controlo da calcémia através da regulação da absorção intestinal, reabsorção renal e reabsorção óssea do cálcio. Composição da cartilagem e líquido sinovial.

12. Bioquímica do rim, água, compartimentos corporais e líquidos orgânicos

Metabolismo energético e função renal. Eliminação do  $\text{NH}_4^+$ . Função endócrina renal com acção na homeostase do cálcio (calcitriol), eritropoiese (eritropoietina) e pressão sanguínea (renina). Formação e composição da urina. Água, soluções e dispersões aquosas: compartimentos líquidos corporais (intra e extracelulares), respectiva composição electrolítica e trocas líquidas recíprocas (plasma-líquido intersticial e líquido intersticial – células). Formação e composição da linfa.

13. Bioquímica da função respiratória do sangue e da oxigenação dos tecidos

Sistema de transporte de oxigénio; curva de dissociação da oxihemoglobina; significado e principais moduladores bioquímicos e fisiológicos: oxigenação tecidual; controlo metabólico da microcirculação.

14. pH e equilíbrio ácido-base

Conceitos sobre ácido, base e neutralização. Lei da acção de massas; equação de Henderson-Hasselbach. Expressão e significado de pH e de sistema tampão. Principais tampões fisiológicos. Acidemia e acidose; alcalemia e alcalose. Adaptação bioquímica e fisiológica aos principais tipos de acidose e alcalose (metabólica e respiratória).

15. Bioquímica do sangue e vasos sanguíneos

- a) *Constituintes do sangue*: componentes celulares, plasma e soro; caracterização e propriedades.
- b) *Eritrocito*: forma, deformabilidade, sobrevivência e funções do eritrocito em circulação. Membrana eritrocitária: composição e estrutura; propriedades físicas; permeabilidade e sistemas de transporte. Outras características da superfície globular (carga eléctrica; antígenos; receptores; enzimas; interacção com o meio envolvente). Grupos sanguíneos (sistemas AB0, MN e Rh). Metabolismo eritrocitário: via glicolítica e formação do ATP e 2,3-BPG; via das fosfopentoses e formação de NADPH; sistema redutor da metahemoglobina; metabolismo do glutatião; outros mecanismos antioxidantes.
- c) *Metabolismo do ferro e eritropoiese*: características, propriedades e compartimentos corporais (balanço do ferro corporal; perda e absorção intestinal). Transporte de ferro e eritropoiese; captação e reservatórios de ferro corporal. Vitaminas hematopoiética (ácido fólico e cobalamina): características, absorção intestinal, formas de transporte e depósito, e acção bioquímica.

- d) *Leucócitos*: caracterização e origem dos fagocitos e monocitos. Composição e metabolismo. Produção medular e cinética dos granulocitos e monocitos-macrófagos. Função e mecanismo de acção dos granulocitos neutrófilos (quimiotaxia, motilidade, fagocitose). Composição e actividade específica dos grânulos. Estímulo-resposta leucocitária. Função e mecanismos de acção dos granulocitos eosinófilos e basófilos-mastocitos. Produção e maturação dos linfocitos. Caracterização, mecanismos e funções prioritárias dos linfocitos T e B.
- e) *Hemostase e plaquetas*: conceito, componentes e fases principais da hemostase. Plaquetas: origem, cinética, características e composição das plaquetas. Receptores membranares, estímulos e mecanismo bioquímico de activação plaquetária. Proteínas plasmáticas da coagulação: componentes do sistema intrínseco e extrínseco e vias comuns. Proteínas anticoagulantes e sistema regulador da coagulação. Proteínas do sistema fibrinolítico, do complemento, cininas e mecanismo regulador da fibrinólise.

16. Bioquímica da adaptação corporal ao stress, agressão e envelhecimento

Proteínas de fase aguda e crónica; tipo e características das principais proteínas plasmáticas. Indutores da resposta de fase aguda. Citocinas. Conceitos de neuroimuno-regulação, mediadores bioquímicos. Caracterização do envelhecimento celular e corporal, mecanismos bioquímicos.

**VII – Bibliografia geral aconselhada**

Consideram-se mais adequados para a generalidade da aprendizagem pretendida os seguintes tratados:

- “*Textbook of Biochemistry*” (por T.M. Devlin), 5ª edição, Ed: Wiley-Liss, 2001.

ou

- “*Harper’s Biochemistry*” (por R.K. Murray, D.K. Granner, V.W. Rodwell), 26ª edição.
- “*Biochimie Pathologique*” (por J. Delattre, G. Durand, J.-C. Jardil-lier). Ed.: Médecine-Sciences, Flammarion, 2003

Sugestões complementares:

- *Dicionário Médico* (por L. Manuila, A. Manuila, P. Lewalle, M. Nicoulin), Climepsi Editora, Lisboa, 2000.
- Serão divulgados textos monográficos que incluem os conteúdos da matéria insuficientemente focada nos livros aconselhados.

## SUMÁRIOS DA AULAS TEÓRICAS

### 1ª Aula – Apresentação do programa

### 2ª -5ª Aulas – Nutrição

**Generalidades** – Nutrição: (utilização dos alimentos pelos organismos vivos). Nutriente (essencial e disponível). Complexidade e meios de estudo: difíceis no homem (variabilidade, hábitos, alterações fisiopatológicas, polivariáveis); o recurso à experimentação animal.

**Consumo energético e necessidades corporais** – Noção de desnutrição, hipernutrição e nutrição equilibrada. Conteúdo energético dos alimentos (Kcal). Equilíbrio entre consumo e gasto calórico. Metabolismo basal (energia consumida em repouso). Principais factores determinantes do consumo energético: índices corporais (superfície corporal, idade, sexo), actividade física, metabolismo basal, efeito termogénico dos alimentos e temperatura ambiente. Alimentos e tipo alimentar. Valores dietéticos recomendados. Alterações induzidas pelo crescimento, dimensões corporais, gravidez, lactação, doenças, exercício físico.

**Macronutrientes** – Proteínas: aminoácidos essenciais (lisina, leucina, isoleucina, valina, metionina, fenilalanina, triptofano, treonina, histidina), proteínas de primeira qualidade, balanço de azoto; funções proteicas; necessidades proteicas na dieta; malnutrição proteica-calórica (Marasmo e Kwashiorkor); excesso proteico-calórico. Glícidos na dieta: funções metabólicas principais; intolerância alimentar aos glícidos (deficiência em lactase intestinal, diabetes mellitus). Lípidos na dieta; funções metabólicas principais (fonte energética, componente estrutural); ácidos gordos essenciais (linoleico, linolénico, araquidónico). Fibras (Tipos e funções específicas). Composição dietética equilibrada.

**Micronutrientes** – Caracterização: Vitaminas e minerais. Vitaminas hidrossolúveis (complexo B e vit C) e lipossolúveis (A, D, E, K). Caracterização. Absorção, depósito e excreção.

#### **Vitaminas hidrossolúveis**

Vitaminas do complexo B e vitamina C – Exceptuando a vit B12 e o ácido fólico, não se depositam no organismo. Na generalidade, são excretadas por via renal quando os níveis circulantes ultrapassam o respectivo limiar de excreção. Em consequência, raramente há sinais de hipervitaminose do grupo de vitaminas em referência; por sua vez, os sinais de depleção ocorrem também rapidamente (semanas a meses). Na generalidade, actuam no metabolismo como coenzimas.

- a) Vitamina B1 (tiamina) – Forma activa (tiamina-pirofosfato), locais de acção principal (complexo da desidrogenase pirúvica e  $\alpha$ -cetoglutárica; transcetolase; transmissão do impulso nervoso). Consequências bioquímicas e clínicas da deficiência em Vit B1.
- b) Vitamina B2 (riboflavina) – Formas activa (coenzimas flavínicas: FMN, FAD) e local de acção: reacções redox. Consequências da deficiência vitamínica.
- c) Niacina (nicotinamida e nicotinamato) – Formação de NAD e NADP, activação em reacções redox: catabolismo (NAD/NADH) e biossínteses redutoras (NADP/NADPH). Consequências da deficiência vitamínica.
- d) Vitamina B6 (piridoxina, piridoxal, piridoxamina) – Transformação em piridoxal fosfato. Participação em reacções de síntese, catabolismo e interconversão de aminoácidos; síntese de esfingolípido; regulação da fosforilase do glicogénio; síntese de neurotransmissores; síntese das porfirinas e do heme. Consequências da deficiência vitamínica.
- e) Ácido pantoténico – Componente da coenzima A e da fosfopanteteína do ACP (proteína transportadora de grupos acilo). Consequências da deficiência vitamínica.
- f) Biotina – Grupos prostéticos de reacções de carboxilação (p.ex. piruvato carboxilase e acetil-CoA carboxilase). Consequências da deficiência vitamínica.
- g) Ácido fólico (ácido pteroil-glutâmico) – Poliglutamato de folato na dieta e transformação intestinal. Redução em tetrahidrofolato ( $H_4$  folato) na mucosa do intestino, por redutase específica. Formação de depósitos hepáticos (derivados poliglutâmicos de  $H_4$  folato) e circulação preferencial com  $N^5$ -metilfolato. Participação em biossínteses, por transferência de resíduos de 1 carbono ( $-CH_2-$  e  $CH_3-$ ). Participação electiva na síntese da colina, serina, glicina, metionina (a partir de  $N^5$ -metil  $H_4$  folato) e, sobretudo, do timidilato e purinas (através de  $N^5, N^{10}$ -metenil  $H_4$ -folato e  $N^5, N^{10}$ -metileno- $H_4$ -folato). Causas e consequências principais da deficiência em folato.
- h) Vitamina B12 (cobalamina) – Componente alimentar (B12-proteínas) e proteólise (estômago: HCl; intestino: tripsina); absorção no íleon (na presença do factor intrínseco); transporte plasmático (cobalamina-transcobalamina II), composição nos tecidos-alvo (hidroxicobalamina, metilcobalamina e 5'-desoxiadenosil cobalamina). Acção da metilcobalamina no citosol, na conversão de homocisteína em metionina (na presença de  $N^5$ -metil- $H_4$ -folato) e da 5-desoxiadenosilcobalamina (mitocondrial) na síntese da metilmalonil CoA (transformação em succinil CoA). Consequências da deficiência vitamínica.
- i) Vitamina C (ácido ascórbico) – Acção como anti-oxidante (em reacções de carboxilação: Importância na manutenção do colagénio, osteo-

gênese, matriz pericapilar, síntese de corticosteroides, antioxidante de vitaminas oxidáveis (A, B, E) e redutora de metais (p.ex.  $\text{Fe}^{3+}$  em  $\text{Fe}^{2+}$ ). Consequências da deficiência vitamínica.

### Vitaminas lipossolúveis

a) Vitamina A – Precursores ( $\beta$ -caroteroides) e formas activas (retinol, retinol e ácido retinoico). Alimentos em que é mais abundante. Transformação intestinal do  $\beta$ -caroteno em retinol (dioxigenase), e deste aldeído em retinol (redutase). Ésteres de retinol (em circulação e depósito). Retinil-fosfato (dador de grupos glicosilo para a síntese de glicoproteínas e mucopolissacáridos). Mecanismo de acção do retinol e ácido retinoico (tipo hormona esteroide) Principais acções biológicas (manutenção do tecido epitelial) e sinais de deficiência (cutâneos, hematológicos, imunitários e visuais). Toxicidade.

b) Vitamina D – A vitamina D como pro-hormona esteroide. Precursores (desidrocolesterol, colecalciferol, ergocalciferol, 25-hidroxicolecalciferol), composição activa (1,25-dihidro-colecalciferol), depósito (hepático, como 25-OH-D), principais funções biológicas (regulação do metabolismo do cálcio e fósforo). Sinais de deficiência (raquitismo e osteomalácia) e toxicidade (calcificações múltiplas, descalcificação óssea, litíase renal). Alimentos mais ricos. Transformação de desidrocolesterol em colecalciferol (vit D3) pela luz solar; transformação do ergosterol em ergocalciferol (vit D2). Metabolização hepática da vit D2 e D3 em 25-OH-D. Transformação (nos túbulos contornados proximais do rim) da 25-OH-D em 1,25-dihidro-colecalciferol (ou calciferol). Acção desta hormona (calciferol) na mucosa do intestino delgado (reabsorção do cálcio e fósforo), osteoblastos (mineralização óssea) e túbulos distais do rim (reabsorção do cálcio), em associação com a hormona paratiroideia e na dependência da calcémia.

c) Vitamina E – Fontes alimentares, formas activas (tocoferóis), locais de depósito (tecido adiposo e estruturas lipídicas), funções biológicas (antioxidante), sinais de deficiência (hemólise e neurológicos).

d) Vitamina K– Fontes alimentares, formas activas (K1-fitilmenaquinona, K2-multi-prenilmenaquinona e K3-menadiona), local de depósito (hepático), funções biológicas (activação dos factores da coagulação), sinais de deficiência (hemorragias).

### Minerais

a) Macrominerais – Cálcio: Fontes alimentares, moduladores metabólicos (vitamina D, paratormona, calcitonina), função (constituição de ossos e dentes, regulação neuromuscular, transdutor celular de acção hormonal). Fósforo (fosfato): fontes alimentares, modulação metabólica (reabsorção renal e outras, pouco conhecidas), funções (constituente de ossos e dentes, intermediários metabólicos fosforilados, ácidos nucleicos). Sódio: Fontes alimentares, modulador metabólico (aldosterona),

função (principal catião extracelular, ATPase ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) regulação do volume plasmático, equilíbrio ácido-base, função neuromuscular). Potássio: Fontes alimentares, modulador metabólico (aldosterona), funções (principal catião intracelular, função neuromuscular, ATPase  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ). Cloro: Fontes alimentares, função (equilíbrio líquido e electrolítico), secreções gastrointestinais, contra-transporte iónico ( $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ ). Magnésio: Fontes alimentares, funções (constituente de ossos e dentes, cofactor enzimático). Estados deficitários e tóxicos.

b) Nutrientes vestigiais – Fontes alimentares conhecidas. Crómio (potencia a acção insulínica). Cobalto (constituente da vit. B12). Cobre (constituente enzimático, intervenção na absorção do ferro). Iodo (constituente de hormonas tiroideias). Manganésio (cofactor enzimático, síntese das glicoproteínas e proteoglicanos). Molibdénio (constituente de oxidases). Selénio (constituente da glutatíon peroxidase, acção antioxidante sinérgica com a vit E). Sílica (osteogénese, metabolismo dos glicosaminoglicanos da cartilagem e tecido conjuntivo). Zinco (cofactor enzimáticos). Flúor (densificação dos ossos e dentes).

### **6ª -8ª Aulas – Digestão e absorção de alimentos**

**Digestão** – A digestão começa na boca e termina no intestino. As macromoléculas alimentares são decompostas em moléculas simples assimiláveis através do epitélio do tubo digestivo, num processo designado por digestão. As alterações químicas da digestão são catalisadas por hidrolases do tubo digestivo: Os glícidos são transformados em monossacáridos, as proteínas em aminoácidos, os triacilgliceróis em monoacilgliceróis, glicerol e ácidos gordos, e os ácidos nucleicos em nucleósidos, nucleobases e pentoses. Sobra ainda, como principal resíduo, a fibra, da celulose e lenhite vegetais.

- (a) Os polímeros glicídicos (glicogénio e amido) são decompostos pela amilase da saliva (em maltose, oligossacáridos e maltotriose), pela amilase do pâncreas (origina os mesmos produtos, dissacáridos e alguma glicose), sendo o processo terminado por dissacaridasas e oligossacaridasas da parede intestinal, na formação de monossacáridos.
- (b) A digestão proteica é iniciada no estômago pela pepsina (endopeptidase) activada a pH ácido, continuada por endopeptidasas (tripsina, quimotripsina, elastase) e exopeptidasas de origem pancreática (carboxipeptidasas), e concluída por secreções entéricas (aminopeptidasas e dipeptidasas) de que resultam finalmente aminoácidos.  
Acção da quimosina na digestão proteica (da caseína do leite) dos lactentes.



- (c) A digestão lipídica é iniciada na boca (lipase lingual, com formação de ácidos gordos e 1,2 diacilglicerois), prossegue no estômago (lipases com acção idêntica), e termina no intestino delgado, por acção da lipase pancreática (activadas por sais biliares, fosfolípidos e colipase; origina ácidos gordos, 2-monoacilglicerois e glicerol), fosfolipase A<sub>2</sub> (actua nos glicerofosfolípidos; origina ácidos gordos e lisofosfolípidos) e colesterol-esterase (forma colesterol e ácidos gordos). Os produtos de digestão dos lípidos são absorvidos pela parede intestinal a partir das micelas formadas com sais biliares.
- (d) Os ácidos nucleicos são degradados por ribonucleases e desoxiribonucleases, de origem pancreática e entérica, nos respectivos nucleótidos; nucleosidases entéricas transformam os nucleósidos em nucleobases (púricas ou pirimídicas) e pentoses--fosfato.
- (e) Os resíduos derivados da digestão no interior do intestino delgado são sujeitos a processos de concentração, fermentação e putrefacção no intestino grosso. Durante este processo, há absorção electiva da água e decomposição bacteriana de resíduos de natureza glicídica e proteica. Além de gases são produzidas substâncias tóxicas (p.ex., aminas e amoníaco), que pode ser causa de sintomatologia de gravidade variável. A destruição da flora bacteriana intestinal (p.ex., por antibióticos de largo espectro) pode alterar profundamente o trânsito no intestino grosso e a decomposição dos resíduos alimentares.

**Absorção** – Os monossacáridos, aminoácidos, glicerol e ácidos gordos da cadeia curta (<10-12C) são absorvidos pela parede intestinal e veiculados directamente pela circulação sanguínea (veia porta) para o fígado. Os ácidos gordos de cadeia extensa e os monoacilglicerois absorvidos são retransformados nos enterocitos em moléculas de triacilglicerol e, juntamente com outros lípidos, são veiculados pela circulação linfática, sob a forma de quilomicra.

**Secreções digestivas** – As enzimas digestivas produzidas pelas glândulas salivares, mucosa gástrica, intestinal e pâncreas são secreções exócrinas. As secreções exócrinas são sintetizadas por células especiais no retículo endoplásmico, como glicoproteínas. Algumas das enzimas são secretadas como zimogénios, transformados em forma activa após exocitose. A maior parte das secreções digestivas é formada no pâncreas, sendo a sua acção completada por enzimas das paredes do intestino delgado (secretadas para o lúmen, presentes na superfície luminal, ou no citoplasma dos enterocitos). O mecanismo de secreção (de enzimas e electrólitos) é regulado por secretagogos, com acção nos receptores da superfície contraluminal das células exócrinas. Mecanismos principais: por activação do fosfatidilinositol-fosfolipase C e por activação da adenilato-ciclase.

**Transporte de solutos** – Transporte trans-epitelial ou paracelular; superfícies luminal e contraluminal e junções intercelulares. Transporte activo e passivo de nutrientes, electrólitos e vitaminas através do epitélio intestinal. Gradientes electroquímico e de concentração. Absorção e secreção do NaCl (componentes activo e passivo) no intestino delgado e grosso. ATPase  $\text{Na}^+ \text{K}^+$ , canal de cloreto ( $\text{Cl}^-$ ), contra-transporte  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  e  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ . Secreção de NaCl (e água) pelo intestino; sistemas:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  ATPase, cotransporte  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$ . Secreção de NaCl e  $\text{NaHCO}_3$  pelo pâncreas. Absorção de nutrientes (glicose e aminoácidos) em associação com  $\text{Na}^+$ . Secreção de HCl no estômago. Contra- transporte  $\text{H}^+/\text{K}^+$  (ATP dependente), contra- transporte  $\text{Cl}^-/\text{CHO}_3^-$ , canal  $\text{Cl}^-$ .

## **9ª 11ª Aulas – Revisões do Metabolismo Geral e Intercomunicação Celular**

### *Constituintes e estratégias*

- 1. Enzimas – Conceito, natureza e mecanismo de acção.** Biocatalisadores, velocidade das reacções químicas, e vida. Natureza química e estrutura das enzimas. Mecanismos de acção, equilíbrio e cinética das reacções catalisadas; estados de transição, modulação da velocidade das reacções enzimáticas (por pH, temperatura, concentração de substrato e produtos, coenzimas reguladoras). Principais mecanismos de regulação enzimática (por alteração da eficácia catalítica e/ou da concentração molecular das enzimas reguladoras). Mecanismos determinantes da actividade catalítica das enzimas reguladoras (por efectores alostéricos, por modificação covalente, por activação proteolítica, por moléculas proteicas inibidoras ou activadoras); mecanismos determinantes da concentração molecular das enzimas reguladoras (variação da síntese e/ou da degradação proteica).
- 2. Metabolismo – Conceito, origem e natureza dos substratos metabólicos**  
*Conceito de metabolismo.* Coerência funcional e economia de meios (sequências multienzimáticas para objectivos comuns e/ou pontos de diversificação; mecanismos de transformação simples e de tipo relativamente limitado; regulação por mecanismos comuns). Estado energético e estrutura molecular. Variação da energia livre no decurso das reacções metabólicas como índice do potencial químico dependente da natureza e concentração das moléculas reagentes. Reacções endergónicas e exergónicas. Importância das reacções exergónicas (do catabolismo) para os processos endergónicos essenciais à vida (biossíntese, mobilidade, gradientes electroquímicos). Fosfatos orgânicos de “alta energia”; potencial de transferência do grupo fosforilo. Ciclo ATP/ADP entre reacções exergónicas e endergónicas. Estado energético celular e potencial de fosforilação.

*Substratos metabólicos.* A glicose, ácidos gordos, glicerol e aminoácidos, como principais substratos do catabolismo. O acetil-CoA como produto comum do catabolismo daqueles substratos. Fluxo dos metabolitos, nas sequências metabólicas, anabólicas e ciclo anfibólico: significado, produtos finais e variação energética. NADH e FADH<sub>2</sub> (e FMNH<sub>2</sub>) como principais transportadores de electrões nas reacções de oxidação metabólica. O NADPH como principal transportador de electrões para as biossínteses redutoras. Outras moléculas transportadoras intervenientes no metabolismo (coenzima A e lipoamida: grupos acilo; tiamina-pirofosfato, TPP: grupos aldeído; biotina: CO<sub>2</sub>; tetrahidrofolato: unidades com 1 carbono; S-adenosilmetionina: grupos metilo; uridinadifosfatoglicose: UDP-glicose; citidina-difosfato-diacilgliceril-fosfatidato e nucleósidos trifosfato: nucleótidos). Intervenção metabólica das vitaminas hidrossolúveis (como coenzimas) e lipossolúveis (funções diversas).

**3. Oxidações Metabólicas** – A maior parte da energia química resultante dessas oxidações é obtida em aerobiose, no compartimento mitocondrial. Exceptua-se a formação de ATP pela glicólise em anaerobiose, que decorre no citosol, por fosforilação associada ao substrato. Em aerobiose a formação de ATP resulta da fosforilação oxidativa, na sequência do transporte de equivalentes redutores ao longo da cadeia respiratória para se combinar com o oxigénio molecular. A oxidação metabólica em aerobiose dos principais nutrientes celulares (glicose, ácidos gordos, aminoácidos) converge na formação do acetil-CoA. O ciclo do citrato é a sequência final onde decorre a oxidação do acetil-CoA, após originar citrato, por condensação com a oxaloacetato. O citrato é sucessivamente decomposto, com regeneração final do oxaloacetato, num conjunto de etapas em que se destacam quatro reacções de desidrogenação (3 NAD e 1 FAD dependentes), duas das quais também de descarboxilação. Alguns dos intermediários metabólicos são ponto de origem de diversos produtos da biossíntese, actuando também como produtos de sequência catabólica. Os equivalentes redutores são transportados para a cadeia respiratória, originando a formação de ATP por fosforilação oxidativa. Em uma das etapas do ciclo do citrato ocorre também a formação de ATP (GTP) por fosforilação associada ao substrato.

#### **4. Metabolismo da glicose – Produtos possíveis**

Importância da glicose como substrato universal; células estritamente dependentes da glicose. Principais vias de transformação metabólica da glicose: (a) *Glicólise*, com formação de lactato (em anaerobiose) ou piruvato (em aerobiose); oxidação do piruvato em acetil-CoA e subsequente oxidação deste metabolito (comum à oxidação dos principais nutrientes metabólicos) pelo ciclo de citrato (e formação de ATP por fosforilação oxidativa); (b) *Via das fosfopentoses*, com formação de equivalentes redutores (para biossínteses redutoras) e ribose-5-P (para

biossínteses de nucleótidos e ácidos nucleicos); (c) *Formação de acilglicerois*, a partir da transformação da diidroxiacetona-fosfato, (metabolito da glicólise) em glicerol 3-P; (d) *Formação de ácidos gordos, colesterol e esteroides*, a partir do acetil-CoA; (e) *Transformação em aminoácidos*, por aminação do piruvato e intermediários do ciclo do citrato; (f) *Formação do glicogénio*, como reserva de glicose em situações excedentárias de energia.

#### 5. Metabolismo dos ácidos gordos

*Origem de lípidos teciduais*: por oxidação da glicose (glicerol 3-P e acetil-CoA) ou da dieta alimentar. *Transformações mais importantes*: (a) oxidação de ácidos gordos em acetil-CoA ( $\beta$  oxidação), com subsequente oxidação pelo ciclo do citrato; (b) esterificação de ácidos gordos com glicerol 3-P, originando as reservas lipídicas, triacilglicerois; (c) outros destinos do acetil-CoA em excesso: síntese de ácidos gordos (lipogénese), corpos cetónicos (cetogénese), colesterol (colesterogénese) e esteróides (esteroidogénese).

#### 6. Metabolismo dos aminoácidos

*Origens*: proteínas alimentares (essenciais e não essenciais) e teciduais (catabolismo); *Destinos potenciais*: proteínas teciduais, derivados azotados não proteicos e (por transaminação), diversos metabolitos, de que podem formar-se: (a) glicose (por gliconeogénese), (b) outros aminoácidos não essenciais; (c) acetil-CoA, com subsequente oxidação pela via do citrato, e finalidade energética; (d) corpos cetónicos; (e) ureia (por desaminação).

#### 7. Regulação e integração metabólica

Cada tecido (e órgão) tem particularidades metabólicas que justificam funções próprias. As diferenças metabólicas de cada tecido requerem a existência de processos coordenadores do conjunto corporal. A coordenação incide a dois níveis: tecidual (e órgão) e celular. A coordenação entre os diversos tecidos e órgãos é assegurada pelo sistema circulatório. O fígado é, neste contexto, o órgão regulador da concentração sanguínea e destino metabólico de muitos dos nutrientes, em particular, glicose e aminoácidos; a nível celular, a coordenação depende da existência de compartimentos subcelulares onde decorrem sequências e actividades específicas. Os quatro principais compartimentos subcelulares são: citosol, mitocôndrias, retículo-endoplasmático e núcleo. Os três primeiros incluem grande parte das sequências multienzimáticas. O fluxo metabólico é controlado pelas características dos intervenientes em cada etapa enzimática mas, fundamentalmente, por enzimas reguladoras. Estas enzimas catalisam reacções irreversíveis em desequilíbrio químico, através da modulação da sua actividade (alostérica ou covalente), da concentração activa (síntese ou degradação) ou da disponibilidade dos substratos. A compartimentação das sequências enzimáticas também favorece a

regulação metabólica. Requer a participação de sistemas de transferência (vaivém) na translocação de metabolitos entre compartimentos diferentes, e isoenzimas sob regulação distinta em cada um desses compartimentos.

### *Metabolismo dos Glícidos*

- 1. Glicólise** – Sequência multienzimática que decorre no citosol de virtualmente todos os tipos celulares, pela qual a glicose é oxidada em piruvato e/ou lactato. Opções em anaerobiose (formação do lactato; fermentação láctica) ou aerobiose (piruvato) e fermentação alcoólica (formação de etanol, como produto final). Três enzimas reguladoras: hexocinase fosfofrutocinase (a principal) e piruvato-cinase. Em anaerobiose é essencial a regeneração do  $\text{NAD}^+$  na reacção catalisada pela desidrogenase do gliceraldeído 3-P. Nos eritrocitos (principalmente), o metabolito 1,3-BPG pode ser transformado em 3-PG (com formação de ATP), ou 2,3-BPG (essencial para modular a afinidade da hemoglobina para o oxigénio). A dihidroxiacetona-P pode ser reduzida em glicerol 3-P com aproveitamento na síntese lipídica. Em aerobiose o piruvato tem várias opções metabólicas, por exemplo: oxidação em acetil-CoA (intramitocondrial), carboxilação em oxaloacetato (produto final e inicial do ciclo do citrato), alanina (por transaminase).
- 2. Via das Fosfopentoses** – Sequência multienzimática do citosol, que pode oxidar completamente a glicose em  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2$ . A via tem duas fases: oxidativa (irreversível) em que é gerado o NADPH, e não-oxidativa (reversível), onde é formada a ribose (precursora de nucleótidos e ácidos nucleicos) e metabolitos com 3 a 7 carbonos com utilidade diversa. A sequência completa existe particularmente em tecidos com grande actividade redutora (p.ex., biossíntese lipídica).
- 3. Gliconeogénese** – Sequência multienzimática para formação da glicose a partir de substratos não glicídicos (designadamente: lactato, piruvato, glicerol, aminoácidos, glicogénicos); hiperactiva quando diminui a disponibilidade de glícidos na dieta e a glicose em circulação; localizada predominantemente nos hepatocitos e, cerca de 1/10 do valor, nas células do córtex renal. A sequência multienzimática decorre nas mitocôndrias e no citosol; neste compartimento utiliza grande parte da sequência glicolítica (em direcção inversa), a que acrescem outras reacções indispensáveis para ultrapassar as etapas reguladoras da glicólise. Enzimas reguladoras: piruvato-carboxilase, fosfoenolpiruvato carboxicinase, frutose 1,6-bisfosfatase e glicose-6-fosfatase. A glicólise e a gliconeogénese decorrem em direcções opostas e não simultaneamente, sendo sujeitas a regulação recíproca: por modulação alostérica ou covalente (fosforilação enzimática) e indução/repressão das enzimas reguladoras.
- 4. Glicogénese/glicogenólise** – O glicogénio é um polímero da glicose, a principal reserva de glícidos corporais. Existe sobretudo no fígado e mús-

culo (que no total, perfaz cerca de 3 a 4 vezes os depósitos hepáticos). Por glicogenólise, a glicose hepática é eventualmente mobilizada para a circulação, assegurando a normoglicemia e suplementando as necessidades glicídicas dos tecidos extra-hepáticos. O glicogénio muscular é estritamente utilizado para as necessidades metabólicas das células musculares. A glicogenólise muscular conduz à formação de piruvato e/ou lactato, enquanto a hepática pode contribuir para a glicémia. A enzima glicose-6-fosfatase dos hepatocitos (e células renais) assegura a desfosforilação da glicose 6-P em glicose para o sangue; aquela enzima não existe nas células musculares.

O glicogénio pode ser sintetizado (glicogénese) a partir da glicose da dieta ou formada de precursores aproveitados pela gliconeogénese. A glicogénese e a glicogenólise são vias recíprocas, não simultâneas, com regulação independente. A coordenação de ambos os processos depende da modulação da actividade e/ou concentração de enzimas reguladoras; fosforilase de glicogénio (na glicogenólise) e sintase de glicogénio (glicogénese). Ambas as enzimas são afectadas pela disponibilidade em substratos e produtos das respectivas reacções (glicose 6-fosfato, glicogénio, fosfato inorgânico) e pela formação de AMP cíclico (na dependência de estímulos hormonais). O aumento da concentração de AMP cíclico (por exemplo, pela epinefrina ou glicagina) activa a fosforilase do glicogénio e, simultaneamente, inibe a sintase. A insulina activa a sintase do glicogénio (e portanto a glicogénese) ao promover a desfosforilação (activação) da sintase respectiva. Deste modo, a insulina exerce acção antagónica à da glicagina nos hepatocitos (e à epinefrina, no músculo) relativamente à síntese/degradação do glicogénio. A glicogenólise hepática pode ser AMPc independente, através da fixação da epinefrina (e outras hormonas) a receptores  $\alpha_1$ ; da sequência da mobilização de  $\text{Ca}^{2+}$  dos depósitos intracelulares, é estimulada a fosforilase-quinase dependente da calmodulina com subsequente glicogenólise.

- 5. Controlo da glicemia** (revisão preliminar) – O controlo da glicemia a níveis constantes, independentemente da ingestão de alimentos ou das reservas de glicogénio, é vital para a finalidade dos tecidos estritamente dependentes da glicose. A glicemia é mantida à custa dos glícidos alimentares, da glicogenólise e da gliconeogénese. A glicemia aumenta rapidamente nos períodos pós-alimentares, regressando aos níveis basais cerca de 1 a 1,5h depois. As variações de glicemia decorrem sensivelmente a par com as da insulinemia. Esta hormona é secretada por estímulos alimentares e assegura a metabolização imediata da glicose, ao estimular a glicogénese e aumentar o consumo da glicose pelos tecidos periféricos. A hiperglicemia instala-se quando a insulina é relativamente insuficiente e não actua nas células insulino-dependentes (músculo e tecido adiposo). A hipoglicémia progressiva pode ser relativamente tole-

rada, mas, sendo de instalação brusca, origina situações neurológicas graves, que podem terminar no coma ou morte do indivíduo. O controlo de glicemia envolve a participação do fígado, tecidos extra-hepáticos e outras hormonas. A actividade da glicocinase hepática é fundamental para a fosforilação e utilização subsequente da glicose nos hepatocitos, sendo estimulada pela insulina na presença de glicemia elevada. Em normoglicemia o fígado funciona como produtor de glicose. Em hipoglicemia intervém a glicagina, que disponibiliza glicose do fígado para a circulação à custa da estimulação de glicogénese e da gliconeogénese, e inibição da glicólise hepatocitária. A hipoglicemia pode ser corrigida também por hormonas da hipófise anterior (corticotrofina, somatotrofina: tendem a diminuir o consumo tecidual da glicose); hormonas do córtex supra-renal (glicocorticoides, que estimulam a gliconeogénese à custa da degradação proteica e também inibem a utilização da glicose pelos tecidos extra-hepáticos), e pela epinefrina. (da medula supra-renal), que induz a glicogénólise hepática (além da muscular).

- 6. Aproveitamento metabólico de outras oses** – Aproveitamento hepático da frutose, manose e galactose: a frutose pode gerar glicose ou, ser metabolizada pela glicólise, por conversão em frutose-6-fosfato ou ultrapassar a etapa reguladora da fosfofrutocinase, transformando-se em frutose-1-fosfato. Neste caso estimula a síntese dos ácidos gordos e a formação hepática de triacilglicerol para os tecidos extra-hepáticos. A transformação da frutose em frutose-1-fosfato ocorre nos hepatocitos. A conversão em frutose-6-fosfato é comum nos adipocitos. A frutose pode ser formada a partir da glicose em alguns tipos celulares (por exemplo, no cristalino do olho), através da via do sorbitol. Em situações de hiperglicemia, o sorbitol tende a acumular-se, provocando lesão osmótica nessas células. A galactose pode ser também formada da glicose na glândula mamária (por acção da lactose-sintase) e ser utilizada para a síntese dos glicolípidos, glicoproteínas e proteoglicanos. A galactose da dieta é convertida em glicose-1-fosfato e glicogénio, com aproveitamento subsequente (como glicose-6-fosfato) através da glicólise. A conversão da glicose-1-fosfato (da glicose ou galactose) em glicogénio passa pela formação de UDP-glicose. Esta fase metabólica é comum à via do ácido urónico, pelo que a UDP-glicose, transformando-se em UDP-glicuronato (por oxidação) origina o glicuronato (para conjugação de substâncias endógenas e exógenas a eliminar na fase solúvel pela urina). A manose, ao ser fosforilada em manose-6-fosfato e convertida em frutose-6-fosfato é, sob esta forma, oxidada pela glicólise.

### ***Metabolismo dos Lípidos***

O acetil-CoA é o produto final da oxidação dos ácidos gordos e também o precursor da biossíntese dos ácidos gordos, triacilgliceróis, fosfolípidos,

corpos cetónicos, colesterol e esteróides. A síntese e a degradação dos ácidos gordos decorrem em compartimentos celulares diferentes e sob controlo de enzimas reguladoras independentes. O mesmo se passa com cada um dos seus derivados metabólicos

- 1. Catabolismo dos ácidos gordos** – Os ácidos gordos captados do plasma podem ser esterificados em triacilglicerois e fosfolípidos, ou serem oxidados numa sequência enzimática mitocondrial, após activação prévia no citosol e transporte através da membrana mitocondrial. A activação origina acil gordo-CoA (por acção de sintetases localizadas na superfície externa do retículo endoplásmico e das mitocôndrias). Os derivados acil-CoA de cadeia extensa atravessam a membrana mitocondrial fixados à carnitina (acilcarnitina), por acção de transferases (I e II) e de uma translocase. A carnitina não é necessária para a translocação dos compostos acil-CoA com 10 ou menos carbonos de cadeia. Os derivados acil gordo-CoA são oxidados pela sequência da  $\beta$ -oxidação, pela qual são removidas sucessivas moléculas de acetil-CoA do acil gordo-CoA original. Em cada etapa de oxidação resultam uma molécula de acetil-CoA, uma molécula de NADH, uma de FADH<sub>2</sub>, e uma molécula de acil-CoA com menos 2 carbonos da molécula original. Os ácidos gordos com número ímpar de carbonos originam diversas moléculas de acetil-CoA e uma de propionil-CoA (que se transforma em succinil-CoA). Os ácidos gordos de cadeia extensa podem ser oxidados de modo diferente nos peroxisomas (com formação de acetil-CoA e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). A oxidação de ácidos gordos insaturados requer dois tipos adicionais de enzimas (isomerase e redutase) que permitem a intervenção regular da sequência da  $\beta$ -oxidação.
- 2. Cetogénese** – Havendo oxidação excessiva de ácidos gordos com acumulação de acetil-CoA, a par com défice relativo da glicose, é activada a cetogénese (com formação de acetoacetato,  $\beta$ -hidroxibutirato e acetona). A síntese do acetoacetato e do  $\beta$ -hidroxibutirato ocorre nas mitocôndrias dos hepatocitos. A maior parte dos corpos cetónicos deriva da formação de HMG-CoA (por condensação do acetoacetyl-CoA com acetil-CoA) e subsequente formação de acetoacetato, por acção de duas enzimas sequenciais (HMG-CoA sintase e liase). Em alternativa (metabolicamente irrelevante), o acetoacetyl-CoA, por acção de uma desacilase, é transformado em acetoacetato. O acetoacetato descarboxilase espontaneamente em acetona na circulação sanguínea, ou é reduzido (nos hepatocitos) por uma desidrogenase em  $\beta$  – hidroxibutirato. Os corpos cetónicos são secretados para a circulação (exceptuando a acetona, que é eliminada pela expiração), captados e utilizados pelos tecidos extra-hepáticos como substratos energéticos. Nos tecidos extra-hepáticos, o acetoacetato (pré-existente ou derivado do  $\beta$ - hidroxibutirato, por oxidação) é essencialmente activado em acetoacetyl-CoA a partir do succinil-CoA, por acção de uma transferase. Em alternativa, qualquer destes corpos cetónicos



pode ser activado directamente nos tecidos extra-hepáticos por sintetases específicas originando acetoacetil-CoA ou  $\beta$ -hidroxibutiril-CoA. A cetogénese é regulada a nível da lipólise (no tecido adiposo), da esterificação hepática (controlo da carnitina-palmitoil-transferase I pelo malonil-CoA), e oxidação da acetil-CoA pelo citrato (disponibilidade/necessidade em ATP).

### 3. Biossíntese dos ácidos gordos (lipogénese)

A síntese dos ácidos gordos de cadeia longa baseia-se em duas etapas principais do citosol: (a) formação da malonil-CoA, pela acetil-CoA carboxilase, e (b) formação de palmitato pela sintase dos ácidos gordos. A lipogénese requer NADPH e ATP, entre outros compostos. Na síntese dos ácidos gordos (maioritariamente derivados da glicose) o acetil-CoA presente no citosol provém do citrato transferido das mitocôndrias por translocase específica. No citosol, a citrato-liase desdobra o citrato em acetil-CoA e oxaloacetato. Na sequência da redução do oxaloacetato em malato há formação de NADPH pela enzima málica (malato  $\rightarrow$  piruvato). Em alternativa, o malato ingressa directamente na mitocôndria por permuta com o citrato. A acetil-CoA carboxilase é uma enzima reguladora da lipogénese (por modulação alostérica covalente e por indução/repressão). A formação do malonil-CoA é activada alostericamente pela presença de citrato e inibida pela palmitoil-CoA. A lipogénese é também indirectamente regulada através da conversão do piruvato da acetil-CoA (piruvato desidrogenase; pela ATP/ADP; NADH/NAD e acetil-CoA/CoA). A insulina activa a acetil-CoA carboxilase (e a piruvato desidrogenase do tecido adiposo) por desfosforilação (a curto prazo), tendo a glicagina e a epinefrina efeitos opostos. O complexo da sintase dos ácidos gordos é um dímero de duas cadeias polipeptídicas idênticas, cada uma constituída por sete unidades funcionalmente indissociáveis, das quais seis são enzimas, sendo a 7<sup>a</sup> uma proteína transportadora de grupos acilo. Cada monómero actua independentemente, donde resultam 2 moléculas de palmitato por cada dímero, em simultâneo. A acetil-CoA é a molécula iniciadora originando os carbonos 15 e 16 do palmitato (em alternativa, o butiril-CoA pode ser o iniciador na síntese que ocorre no fígado e na glândula mamária). A lipogénese requer NADPH gerado na via das fosfopentoses, pela enzima málica e também pela desidrogenase isocítrica NADP-dependente, do citosol. O palmitato é activado em palmitoil-CoA por uma sintetase; o palmitoil-CoA pode ter dois principais destinos metabólicos: (a) alongamento da cadeia e/ou dessaturação; (b) esterificação (originando acilglicerois, ésteres do colesterol). A cadeia dos ácidos gordos pode aumentar (alongamento) a partir do C<sub>16</sub> (palmitoil-CoA) por acção de enzimas do retículo endoplásmico hepatocitário. O alongamento decorre pela condensação de unidades de 2 C, a partir do malonil-CoA; as reduções também requerem NADPH.

### **Metabolismo das proteínas**

#### **1. Renovação proteica**

As proteínas corporais estão em constante síntese e degradação (cerca de 1-2%, sobretudo de origem muscular). Balanço azotado positivo (por exemplo, no crescimento corporal das crianças e adolescência, na gravidez) e negativo (por exemplo, no jejum e envelhecimento). A degradação varia com o tipo de proteína e estado fisiológico, dependendo de proteases e peptidases (ATP dependentes ou independentes). Estão identificados três tipos de mecanismos, dois activos no citosol e o restante ocorrendo nos lisossomas. As proteínas intracelulares de meia-vida curta e anormal são degradadas no citosol, após identificação e fixação a um oligopéptido, a ubiquitina, sendo a proteólise catalisada por um complexo protease 26S ATP-dependente; as proteínas da membrana, extracelulares ou de meia-vida longa são degradadas nos lisossomas por catépsinas (ATP-independentes) após endocitose. Uma terceira modalidade de degradação proteica extra-lisossomal envolve enzimas  $\text{Ca}^{2+}$ -dependentes. Cerca de 75% dos aminoácidos provenientes da degradação (proteica) são reutilizados na síntese proteica; os restantes participam na formação da ureia (grupos  $\text{NH}_2$ ) e formação de metabolitos anfibólicos (esqueleto carbonado). Na generalidade os aminoácidos não imediatamente incorporados na proteína, são degradados; é o que sucede também com os aminoácidos consumidos em excesso na alimentação.

#### **2. Catabolismo em geral dos aminoácidos**

Todos os aminoácidos provenientes da alimentação ou das proteínas celulares podem ser reutilizados na síntese proteica ou catabolisados. O catabolismo é iniciado pela desaminação dos aminoácidos nos respectivos cetoácidos, por remoção do grupo amina.

##### **a) Remoção do grupo $\alpha$ -amina – Formação do amoníaco e da ureia**

**1ª fase** – Remoção do grupo amina de um dado aminoácido (que se transforma em cetoácido) para um  $\alpha$ -cetoácido aceitador, por transaminação. Por acção de aminotransferases, virtualmente todos os aminoácidos perdem o grupo  $\alpha$ -amina para o  $\alpha$ -cetoglutarato, originando L-glutamato (par  $\alpha$ -cetoglutarato-glutamato). Participação do fosfato de piridoxal no centro activo da aminotransferase, como transportador transitório do grupo amina entre o aminoácido dador e o cetoácido receptor. **2ª fase** – Desaminação oxidativa do L-glutamato pela glutamato-desidrogenase (a maioria), ou por uma aminoácido-oxidase (D ou L), originando amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) ou ião amónio ( $\text{NH}_4^+$ ). Acção reguladora da glutamato desidrogenase (modulação alostérica).

**3ª fase** – Transporte e transformação do amoníaco. Acção tóxica do amoníaco (no sistema nervoso central). Remoção do  $\text{NH}_3$  da circulação, originando glutamato, glutamina e ureia. A alanina e a glutamina como

transportadores plasmáticos do amoníaco (como grupo aminado). Acção da glutamina-sintase e da glutaminase na interconversão do glutamato e glutamina. Particularidades do transporte de azoto pela glutamina do tecido extra-hepático para o fígado (para a síntese da ureia) e/ou rim (para eliminar o  $\text{NH}_4^+$ ). Significado do ciclo da glicose-alanina para a estabilidade dos níveis circulantes dos aminoácidos (entre fígado e músculo) e para a gliconeogénese, com remoção de  $\text{NH}_2$  para a síntese da ureia.

**4ª fase** – Ciclo da ureia. Síntese do carbamoilfosfato a partir do ião amoníaco e  $\text{CO}_2$  e condensação com a ornitina, originando a citrulina (nas mitocôndrias). As restantes reacções, até à formação da ureia, decorrem no citosol. Regulação do ciclo através da modulação alostérica da carbamoilfosfato sintetase pelo N-acetilglutamato, e pela variação da concentração das enzimas do ciclo. Interação dos ciclos da ureia e do citrato (a nível da arginina-sucinato).

b) Catabolismo do esqueleto carbonado dos L-aminoácidos

O esqueleto carbonado dos L-aminoácidos pode ser aproveitado metabolicamente para fins energéticos ou como substrato das biossínteses glicídica e lipídica (14 aminoácidos são glicogénicos; 2 são cetogénicos e 4 são mistos). Numa primeira fase, após remoção do grupo aminado (excepções; prolina, hidroxiprolina e lisina), o esqueleto carbonado é transformado em 7 intermediários anfóbicos (piruvato, acetil-CoA, acetoacetil-CoA,  $\alpha$ -cetogluturato, succinil-CoA, fumarato, oxaloacetato), seis aminoácidos convertem-se em piruvato (doze transformam-se em acetil-CoA e dez originam intermediários do ciclo do citrato, alguns partilhando vias de acesso comuns. Defeitos enzimáticos detectados na generalidade dessas sequências catabólicas estão na origem de erros genéticos de metabolismo que, não sendo tratados, conduzem a mortalidade infantil precoce. Os grupos aminados removidos podem ser reutilizados na síntese proteica ou ser excretados (como ureia).

**Intercomunicação Celular**

1. **Sinais e vias de intercomunicação celular** – Sinais ou estímulos químicos (produtos específicos de secreção celular) ou físicos (em geral, pressão ou luz). Componentes da cascata de transdução do sinal nas células alvo (onde ocorrem os sinais específicos): receptores, canais, enzimas e proteínas reguladoras. Tipos de sinais extracelulares: justácrinos, autócrinos, parácrinos e endócrinos. Tipos de resposta metabólica induzida nas células-alvo: activação enzimática (rápida) e/ou alteração da expressão genética (lenta). Tipos de receptor: na membrana citoplásmica ou intracelulares (citoplásmico ou nuclear); ligando, complexos receptor-ligando; resposta celular: variável com o tipo de ligando e, para o mesmo ligando, com o tipo celular em que actua, ganho e perda da função, sobrevivência ou morte celular. Tipos particulares de intercomunicação celular sem inter-

venção directa dos receptores através da junção intercelular (por ex., pelo AMPc e  $\text{Ca}^{2+}$ ) pelo monóxido de azoto (NO).

- 2. Mecanismos de transdução transmembranar** – Transdução de sinal por reacção da fosforilação/desfosforilação por cinases e fosfatases (da tirosina ou serina-treonina) e por famílias de GTPases. Moléculas com acção de 2º mensageiro: nucleótidos cíclicos (AMPc ou GMPc), diacilglicerol, inositol 1,4,5-trisfosfato e  $\text{Ca}^{2+}$ . Receptores, proteínas de transdução (p.ex. proteína G) e proteínas efectoras (p.ex. proteínas-cinase). Tipos de receptores superficiais: activadores de canais iónicos (p.ex. receptores da acetilcolina na placa motriz nervo-músculo); activador de proteínas-cinase (p.ex. insulina); activador da tirosina-fosfatase, activador da guanilato-ciclase; activador da proteína G-adenilato ciclase. Receptores  $\beta$ -adrenérgicos e sistema de proteína G – adenilato ciclase; proteína Gs e Gi; síntese e hidrólise do AMP cíclico. Activação da proteína-cinase A. Sistema formador de GMP cíclico. Cascata de fosfoinositois e disponibilização do cálcio intra e extracelular; activação de proteína-cinase C; principais efeitos metabólicos resultantes da activação do sistema proteína G-adenilato ciclase e da cascata de fosfoinositois. Cálcio, calmodulina e activação enzimática. Receptores tirosina-cinase; tipos de ligando; comportamento próprio dos factores de crescimento: insulina, factor de crescimento da epiderme (EGF), factor de crescimento dos fibroblastos (FGF) e factor de crescimento derivado das plaquetas (PDGF). Receptores com actividade tirosina-cinase persistente (por mutação) e oncogenes.

**12ª e 13ª Aulas – Metabolismo complementar:  
catabolismo dos aminoácidos naturais**

- **Aminoácidos de cadeia ramificada (valina, leucina, isoleucina)** – Reacções de decomposição comum, (transaminação em cetoácidos; descarboxilação oxidativa em acil-CoA tioésteres, oxidação em tioésteres  $\alpha$  e  $\beta$  insaturados) originando por fim propionil-CoA (valina), ou acetil-CoA e propionil-CoA (isoleucina), ou acetil-CoA e acetoacetato (leucina); em consequência, a valina é um aminoácido potencialmente glicogénico; a leucina é cetogénico, e a isoleucina é aminoácido misto.
- **Alanina** – Transformação directa em piruvato (por aminotransferase).
- **Arginina** – Transformações opcionais:  $\alpha$ -cetoglutarato, ureia e ornitina, creatina e monóxido de azoto (NO).
- **Asparagina e Aspartato** – Conversão da asparagina em aspartato (por desaminação pela asparaginase) e deste em oxaloacetato (por aminotransferase).

- **Cisteína** – Transformações opcionais: oxidação directa (por dioxigenase, originando cisteína-sulfinato) e transaminação (formando 3-mercaptopiruvato) ambos originando piruvato. Da cisteína sulfinato forma-se a hipotaurina (por descarboxilação, e na sequência, a taurina, por dioxigenase) ou o sulfinil-piruvato. Do mercaptopiruvato resulta o piruvato (por transaminação) e o 3-mercaptolactato (por redução). A cisteína pode ser o produto de redução da cistina (por reductase), com degradação final sobreponível.
- **Fenilalanina e tirosina** – Conversão da fenilalanina em tirosina (hidroxilase; participação da coenzima tetrahydrobiopterina). Consequências de um defeito (congénito ou adquirido) na etapa: formação do fenilpiruvato e produtos subsequentes. Principais conversões da tirosina: catecolaminas, melanina, fumarato e acetoacetato, formação de tiroxina.
- **Glicina** – Transformações opcionais: conversão em serina (por hidroximetil transferase) e, na sequência em piruvato (por serina desidratase) e acetil-CoA; clivagem completa em  $O_2$ ,  $NH_4^+$  e grupo metileno (reacção reversível catalisada pela sintase da glicina, também designada enzima da clivagem da glicina); por oxidase, conversão glicoxalato (com formação de oxalato, na origem de cristais de oxalato de cálcio excretados pelo rim).
- **Glutamina e glutamato** – Desaminação da glutamina em glutamato (pela glutaminase) e deste em  $\alpha$ -cetoglutarato (por aminotransferase); por descarboxilação, o glutamato é transformado em  $\gamma$ -aminobutirato.
- **Histidina** – Transformações opcionais: por desaminação em urocanato (com conversão sequencial em  $\alpha$ -cetoglutarato); por descarboxilação, em histamina.
- **Lisina** – Transformação em acetil-CoA (conversão prévia em sacaropina;  $\alpha$ -aminoadipato,  $\alpha$ -cetoadipato, glutaril-CoA, e por reacções próprias da  $\beta$ -oxidação, em acetil-CoA).
- **Metionina** – Conversão em succinil-CoA (com formação prévia de propionil-CoA e metilmalonil-CoA), outras transformações não catabólicas opcionais, cisteína (da S-adenosilhomocisteína) e poliaminas (da S-adenosil-metil-propilamina); importância da S-adenosilmetionina como forma activa da metionina, interveniente em reacções de metilação celular (com transformação em S-adenosilhomocisteína); ciclo do grupo metilo activado.
- **Prolina** – Conversão em  $\Delta^1$ -pirrolina-5-carboxilato (por oxidase), com transformação espontânea em glutamato  $\gamma$ -semialdeído (e subsequente conversão em  $\alpha$ -cetoglutarato, por via comum com arginina).
- **Serina** – Transformações opcionais: degradação em glicina e  $N^5$ - $N^{10}$ -metileno tetrahydrofolato; conversão em piruvato (por desaminação pela serina desidratase); formação de 3-fosfoglicerato (e, na sequência, glicose).
- **Treonina** – Transformações opcionais: pela treonina-aldolase, forma-se acetaldeído (conversão em acetil) e glicina (conversão em L-serina, e na sequência, em piruvato e acetil-CoA); por acção da treonina desidratase é formado o propionil-CoA (conversão em succinil-CoA); por acção de uma

desidrogenase, é transformado em metilglicoxal (conversão em piruvato e lactato).

- **Triptofano** – Transformações opcionais: pela via da quinurenina-antranilato, decorre o catabolismo em glutaril-CoA (conversão em acetil-CoA) e a formação da nicotinamida (importância dos respectivos derivados no retrocontrolo alostérico da triptofano-oxigenase). Outros produtos da transformação: alanina, serotonina e xanturenato (em situações de deficiência da vitamina B6, coenzima da quinureninase).
- **Tirosina** – Via comum à fenilalanina: degradação final em fumarato e acetoacetato.

#### **14ª e 15ª Aulas – Metabolismo complementar: derivados azotados de aminoácidos**

- **Glicina** – Precursor do heme (em conjunto com succinil-CoA), purinas, conjugados metabólicos (p. ex. glicocolato), creatina (e, na sequência, creatinina).
- **β-Alanina** – Origina a carnosina (com a histidina) do músculo-esquelético.
- **Serina** – Biossíntese da esfingosina, purinas e pirimidinas.
- **Metionina** – Através da S-adenosilmetionina (forma activa da metionina): principal fornecedor de grupos metilo (reações de metilação celular, com transformação em S-adenosilhomocisteína) e enxofre; intervém na biossíntese de poliaminas (através de S-adenosilmetionina descarboxilada) e da creatina.
- **Cistina e Cisteína** – Precursores da coenzima A e taurina. Participação da cisteína na síntese do glutatião (tripéptido de glutamato, cisteína e glicina; funções redutoras com base no grupo SH da cisteína). A cisteína como principal fonte de enxofre corporal para incorporação em proteínas (p.ex. ferridoxina), e intervenção nos mecanismos de destoxificação.
- **Histidina** – Origina histamina (por descarboxilase) e carnosina (com a β-alanina).
- **Arginina (e Ornitina)** – Síntese da creatina (a partir da arginina, glicina e metionina), creatinina e creatina-fosfato (reserva de grupos fosforilo), monóxido de azoto (NO), poliaminas (putrescina, espermina, espermidina), ureia. Importância reguladora das poliaminas (na proliferação e crescimento celulares); regulação da biossíntese das poliaminas (a nível da ornitina descarboxilase e S-adenosilmetionina descarboxilase).
- **Triptofano** – Síntese da serotonina (degradação pela monoaminoxidase) e melatonina, NAD e NADP.
- **Tirosina** – Melaninas, catecolaminas, tiroxina e triiodotironina. *Sequência de formação das catecolaminas* – Transformação da tirosina em DOPA (por hidroxilase; coenzima tetrahydropterina); descarboxilação em dopamina

(por descarboxilase; coenzima: fosfato de piridoxal); transformação em norepinefrina (por dopamina- $\beta$ -hidroxilase); metilação (por metiltransferase) em epinefrina. *Sequência de formação da melanina* – Oxidação da tirosina (tirosinase) em dopaquinona, que, formando polímeros, origina e melanina (localização nos melanocitos, das células pigmentares). *Produtos de inactivação das aminas* – (ou intervenção das monoamina- e diamino-oxidases) ou metilação (p.ex. pela catecol-O-metiltransferase), originando respectivamente derivados aldeído ou metilaminas. Os derivados aldeídos são finalmente oxidados em derivados álcool ou ácido.

- **Glutamato** – Síntese do anel das purinas, pirimidinas ( $\text{NH}_2$  da citosina), aminoaçúcares, proteínas, fixação do  $\text{NH}_3$  (ou  $\text{NH}_4^+$ ) em excesso (como glutamina) e aminação do aspartato em asparagina.

### 16ª e 17ª Aulas – Metabolismo complementar: síntese e degradação dos nucleótidos purínicos e pirimidínicos

**Nucleósidos e nucleótidos** – Revisão da composição e estrutura. Bases púricas e pirimidínicas. Origens das bases (dieta e biossíntese).

**Biossíntese dos nucleótidos purínicos** – O fígado como principal órgão da biossíntese dos nucleótidos purínicos. Reacções de síntese e degradação dos nucleótidos purínicos: (decorrem no citosol). Formação do PRPP (5-fosforibosil-1-pirofosfato). Dependência da via das fosfopentoses (principalmente, da ribose 5-fosfato; revisão do funcionamento da regulação da via) e enzimas (reguladoras) da reacção. O PRPP como intermediário comum na biossíntese de  $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADP}^+$ , biossíntese das purinas e pirimidinas e reacções de recuperação das purinas. Três mecanismos de biossíntese dos nucleótidos purínicos: (1) “de novo”, a partir de intermediários anfibólicos; (2) fosforibosilação das purinas; (3) fosforilação de nucleósidos purínicos.

**Síntese “de novo”** – Requer a formação do anel de purina a partir de fragmentos de N e C de aminoácidos (glicina, aspartato, glutamato), tetrahydrofolato ( $\text{N}^5$ ,  $\text{N}^{10}$ -metenil e  $\text{N}^{10}$  formil) e  $\text{CO}_2$ . Dez reacções em sequência sintetizam o 1º produto da via (inosina 5'-monofosfato, IMP), precursor de dois mononucleótidos purínicos (AMP: adenosina 5'-monofosfato; GMP: guanosina 5'-monofosfato). Formação da fosforibosilamina ( $\text{N}_9$  do anel de purina pela PRPP aminotransferase, e principal etapa reguladora da biossíntese; inibição alostérica por IMP, AMP, GMP; activação pelo PRPP); da 5'fosforibosil-glicinamida ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_5$  e  $\text{N}_7$ , pela fosforibosil-glicinamida sintetase); da 5'fosforibosil-formilglicinamida ( $\text{C}_8$ , por formil transferase); da 5'fosforibosil-formilglicinamida ( $\text{N}_3$ , por sintetase); da 5'-fosforibosil-5-amino-imidazol (encerramento do anel imidazol, por sintetase); da 5'-fosforibosil 5-aminoimidazol-4-carboxilato

(C<sub>6</sub>, por carboxilase independente da biotina); da 5'-fosforibosil 5-aminoimidazol 4-N succinocarboxamida (N<sub>1</sub>, por sintetase, que incorpora aspartato); da 5'-fosforibosil-5-aminoimidazol-4-carboxamida (separação do fumarato, por adenil-succinase); da 5'-fosforibosil-5-formamidóimidazol-4-carboxamida (C<sub>2</sub>, por formil transferase); do IMP (por encerramento do anel, por inosinicase).

**Conversão do IMP em AMP e GMP** – Dependência energética (ATP para a biossíntese do GMP; GTP, para a do AMP). Transformação do IMP em AMP (formação de adenil-succinato, por sintetase e formação do AMP, por adenil-succinase); transformação do IMP em GMP (formação da xantossina 5'-monofosfato, XMP, por desidrogenase NAD<sup>+</sup> dependente; formação de GMP, por sintetase).

**Reações de recuperação das purinas** – Origem das bases (exógenas, de dieta; endógenas de ácidos nucleicos degradados). Fosforribosilação da guanina em GMP e da hipoxantina em IMP, por fosforribosiltransferases comuns (regulação por IMP ou GMP), e da adenina em AMP por fosforribosiltransferase específica (regulação pelo AMP). Fosforilação de nucleósidos purínicos pelo ATP.

**Regulação da síntese dos nucleótidos purínicos** – Controlo da síntese do PRPP, pela da sintetase do PRPP, pela aminotransferase da fosforibosilamina (principal etapa reguladora). Etapas de controlo na formação do AMP a nível da IMP desidrogenase (inibição competitiva pelo GMP) e formação do GMP na adenil-succinato sintetase (inibição competitiva pelo AMP).

**Transformação dos nucleósidos (purínicos) em desoxirribonucleósidos** – Complexo da nucleótido-redutase (tio-redoxina, redutase e NADPH).

**Formação de derivados dos nucleósidos e nucleótidos purínicos** – Síntese do FMN e FAD, a partir da riboflavina (vit B2); do NAD e NADP, a partir da niacina (nicotinamida ou nicotinamato) e triptofano; da coenzima A, a partir do pantotenato.

**Catabolismo dos nucleósidos purínicos** – Catabolismo dos nucleósidos por nucleotidasas; catabolismo da adenosina (desaminação em inosina, por desaminase), da guanosina e da inosina (em guanina e hipoxantina, respectivamente), da guanina em xantina (por desaminação, pela guanase), da hipoxantina em xantina (pela xantina-oxidase) e da xantina em ácido úrico (pela xantina-oxidase).

**Biossíntese dos nucleótidos pirimidínicos** – Diferenças e semelhanças com a biossíntese das purinas. Formação do carbamoilfosfato (C2, N3- carbamyl sintetase II), condensação com aspartato (N1, C4, C5, C6 – transcarbamilase ou carbamoiltransferase), encerramento do anel (dihidro-orotase),



formação de orotato (desidrogenase de dihidro-orotato, mitocondrial; todas as restantes etapas decorrem no citosol), fosforibosilação (com PRPP) do orotato, originando a orotidina monofosfato (por transferase), descarboxilação em UMP, transformação em UDP e UTP (por fosforilação com ATP), aminação do UTP em CTP (com a glutamina e ATP) pela sintetase do CTP.

**Transformação de nucleósidos em desoxirribonucleósidos pirimidínicos** – Mecanismo idêntico ao das purinas, por complexo da redutase da tio-redoxina; Formação do d UTP; transformação do d UMP em TMP (por sintetase, com N<sup>5</sup>, N<sup>10</sup>-metileno H<sub>4</sub> folato).

**Reacções de recuperação dos nucleósidos pirimidínicos** – Fosforibosilação das pirimidinas (por fosforribosiltransferase) e fosforilação (por cinases).

**Regulação da biossíntese** – Alostérico e a nível genético. Controlo alostérico (pelo UTP e PRPP) da carbamoil-sintetase II; da aspartato transcarbamilase (pelo CTP e ATP); da OMP descarboxilase (pelo UMP e CMP), e da sintetase do CTP (pelo CTP).

**Catabolismo dos nucleótidos pirimidínicos** – Transformação de bases (citosina, uracilo e timina) em produtos hidrossolúveis: CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, β-aminoisobutirato, β-alanina.

**Exemplos e consequências de disfunções metabólicas específicas:**

- Gota
- Síndrome Lesch Nyhan

**18º e 19ª Aulas – Metabolismo complementar: derivados das oses, metabolismo das glicoproteínas, glicosaminoglicanos e proteoglicanos**

**A. Transformações especiais**

1. *Interconversão metabólica das principais oses* (manose, frutose, galactose e glicose). Importância das reacções de isomerização e fosforilação. Via do sorbitol. Principais derivados por descarboxilação (pH UDP-xilose), oxi-redução (p.ex.: GDP-fucose) e transaminação (p.ex.: glicosamina 6-fosfato)
2. *Via dos ácidos urónicos*. Síntese e utilização dos glicuronatos. Transformação do UDP-glicuronato em UDP-xilose para a síntese de proteoglicanos; utilização de glicuronato na formação de glicurono-conjugados e xilulose 5-fosfato (via das fosfopentoses). Controlo da via dos ácidos urónicos pela UDP-xilose.
3. *Síntese das hexosaminas* (aminoaçúcares) a partir da glicose (e transformação em frutose 6-fosfato). Formação da glicosamina 6-fosfato, UDP-

-N-acetilglicosamina. UDP-N-acetilgalactosamina, N-acetilmanosamina, N-acetilneuraminato. Controlo da síntese das hexosaminas pela N-acetilglicosamina.

### **B. Glicoproteínas e derivados**

4. Síntese dos glicídidos complexos. Acção de glicosiltransferases e glicosidasas na formação e hidrólise das ligações O-glicosídicas. Participação dos açúcares-nucleótidos na síntese de ligações glicosídicas.
5. Glicoproteínas. Composição (proteínas conjugadas com oligossacáridos), tipo de resíduos glicídicos mais comuns (D-glicose, D-manose, D-galactose, L-frutose, N-acetilglicosamina, N-acetilgalactosamina e ácido siálico), tipos de ligação covalente glicido-proteína mais comuns (O-glicosídica com serina, treonina, hidroxilisina; N-glicosídica com asparagina), localização (revestimento extracelular, proteínas integrais de membrana, matriz extracelular, secreções celulares), funções (protecção e lubrificação das superfícies celulares, suporte e adesão intercelular nos tecidos, identidade celular, transporte, coagulação, defesa imunológica, actividade hormonal). Manutenção da assimetria de membrana e orientação relativa das glicoproteínas de membrana. Glicoproteínas em circulação, sialases e receptores de asialoglicoproteínas. Localização extracelular dos resíduos glicídicos por lectinas (por exemplo, concanavalina A, aglutininas). Importância das lectinas de microrganismos para a fixação nas superfícies celulares e patogenia. Proteínas do tipo das lectinas na adesão celular (por exemplo, fecundação, desenvolvimento do sistema nervoso, fixação de leucócitos). As selectinas (L, E, P) leucocitárias como exemplo de proteínas do tipo de lectinas, participando no contacto dos leucócitos com os órgãos linfáticos, células endoteliais e plaquetas. Mecanismo de síntese enzimática das glicoproteínas: participação do dolicol-fosfato na síntese de ligações N-glicosídicas. Glicosilação não enzimática das proteínas (fixação de monossacáridos à extremidade NH<sub>2</sub> dos aminoácidos): forma lábil (base de Schiff ou aldimina) e cetoamina (estável); consequências potenciais do estado de hiperglicemia na glicosilação não-enzimática de múltiplos tipos de proteínas (celulares e circulantes).
6. Proteoglicanos (outras designações: glicanos conjugados ou mucopolissacáridos). Composição: 90% ou mais são cadeias de glicídidos (os glicosaminoglicanos) unidos a um núcleo proteico por ligação covalente; constituição dos glicosaminoglicanos: longas cadeias de heteropolissacáridos, em sequência repetida do mesmo tipo de dissacáridos (uma hexosamina mais um uronato). Os grupos sulfato e carboxílico dos glicosaminoglicanos contribuem para o comportamento próprio de poli anião. Tipos de glicosaminoglicano (condroitino-sulfato, dermatano-sulfato, queratano-sulfato, heparano-sulfato, heparina, hialuronato) e funções principais. Resíduos glicídicos mais comuns às glicoproteínas e glicosaminoglicanos (glicosaminas, fucose e ácido siálico). Enzimas de degrada-

ção hidrolíticas dos proteoglicanos (proteases, glicosidasas, desacilases, sulfatases). Formação do PAPS (3'-fosfoadenosina 5'-fosfosulfato).

#### **Exemplos e consequências das disfunções metabólicas referidas**

- Galactosémia, Frutosemia essencial, Intolerância hereditária à frutose, Formação de cataratas Pentosúria essencial

#### **20ª e 21ª Aulas – Metabolismo complementar – lípidos complexos, ácidos gordos insaturados e eicosanóides**

1. **Tipo e características.** Lípidos polares (fosfolípidos, esfingolípidos e eicosanóides) e não-polares (triacilgliceróis, ésteres do colesterol e derivados); localizações e funções.
2. **Síntese e funções dos triacilgliceróis (ou glicerolípidos).** O glicerol 3-fosfato (ou a diidroxiacetona-fosfato) como origem do processo, por esterificações sucessivas até 3 grupos acil-CoA, por aciltransferases: formação do lisofosfatidato, fosfatidato, diacilglicerol e triacilglicerol (fígado, tecido adiposo e intestino). Em alternativa (virtualmente em todos os tecidos), o fosfatidato ou o diacilglicerol dão origem aos fosfoacilgliceróis. Os triacilgliceróis formam as reservas lipídicas, constituindo a maior parte dos lípidos da reserva corporal. A hidrólise dos triacilgliceróis é catalisada por lipases hormono-dependentes, na maioria presentes no tecido adiposo que libertam ácidos gordos e glicerol para a circulação
3. **Síntese e funções dos fosfolípidos.** Composição de fosfoacilgliceróis: 1,2-diacilglicerol e uma base azotada (álcool) unidos entre si por ligações fosfodiéster (parte polar). Principais bases-álcool (colina, serina, etanolamina, inositol, glicerol), originando fosfatidilcolina (lecitina) fosfatidiletanolamina (cefalina), fosfatidilserina, fosfatidilinositol, fosfatidilglicerol. Outros fosfolípidos celulares: cardiolipina, plasmalogénios, PAF (factor activador das plaquetas). Funções principais dos fosfolípidos (estruturas e funções membranares, mediadores de acção hormonal revestimento alveolar, activador enzimáticos). Propriedades surfatantes do dipalmitoilfosfatidilcolina nos alvéolos pulmonares. Os fosfogliceróis são hidrolisados por fosfolipases (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B, C, D), cada qual actuando em ligações diferentes.
4. **Síntese e funções dos esfingolípidos.** Formação da esfingosina (amino-álcool) a partir do palmitoil-CoA e da serina; conversão em ceramida (por ligação a um acil-CoA). Opções metabólicas da ceramina: formação de esfingomielina (por esterificação com fosfatidilcolina) ou glicoesfingolípidos (por ligação covalente em C<sub>1</sub> de unidades glicídicas). Tipos de glicoesfingolípidos (cerebrósidos globósidos, sulfátidos, gangliósidos). Síntese e localização celular.

- 5. Síntese do colesterol e derivados.** Natureza, estrutura, solubilidade e localização (em circulação, na biliar, estrutura membranar), formas (livre e esterificada), derivados (sais biliares e hormonas esteroides). Síntese a partir do acetil-CoA, com utilização do NADPH (principalmente da via das fosfopentoses), ATP e O<sub>2</sub>. Formação (no citosol de HMG-CoA (por sintase) com redução em mevalonato (por redutase; etapa reguladora da biossíntese do colesterol). Etapas de fosforilação do mevalonato, com descarboxilação final, originando isopentenilpirofosfato (C5); subsequente isomerização em dimetilalilpirofosfato (C5) e, por condensação dos dois isómeros, formação de geranylpirofosfato (C10). Condensação do geranylpirofosfato com isopentenilpirofosfato, originando farnesilpirofosfato (C15). Fusão topo a topo de duas moléculas de farnesilpirofosfato, originando (por sintase) o esqualeno (C30), com subsequente ciclização (transformação em esqualeno 2,3-epóxido e lanosterol, por óxido-ciclase, na presença de O<sub>2</sub>). Transformação do lanosterol em colesterol (C27), por rearranjos moleculares sucessivos. Regulação da biossíntese do colesterol (inativação e repressão da síntese da redutase do HMG-CoA pelo colesterol). Esterificação do colesterol (em circulação, pela LCAT; intracelular pela ACAT). Transformação do colesterol (no fígado) em ácidos biliares (C24, principalmente o ácido cólico e ácido quenodesoxicólico) e destes em sais biliares (p.ex., do cólico: glicocolato e taurocolato). Contribuição para a síntese da vitamina D3 (colecalfiferol) a partir do 7-desidrocolesterol. Principais hormonas esteroides derivadas do colesterol (progesterona, estrogénios, androgénios, mineralcorticoides e glicocorticoides).
- 6. Ácidos gordos insaturados e síntese de eicosanoides.** Ácidos gordos poli-insaturados, ácidos gordos essenciais (linoleico e linolénico) e não essenciais, significado de dupla ligação (configuração cis); autoxidação (produção de radicais livres, hidroperóxidos lipídicos, aldeídos, lipofuscina). Repercussão da insaturação (menor ponto de fusão e maior fluidez) nas estruturas celulares. Ácidos gordos poli-insaturados de cadeia longa com maior importância metabólica (palmitoleico, oleico, linoleico, linolénico, araquidónico, eicosapentanoico). Síntese dos ácidos gordos monoinsaturados (por insaturação) e de poli-insaturados (por insaturação e alongamento, na face citosólica do retículo endoplasmático. Síntese dos eicosanoides a partir dos ácidos gordos poli-insaturados com 20 carbonos (araquidonato, ou derivados dos ácidos gordos livres essenciais), designadamente a prostaglandina (PG), tromboxanos (TX) e leucotrienos (LT). Formação de prostanoides (PG e TX) por via da ciclo-oxigenase, e dos leucotrienos por via da lipo-oxigenase.

**22ª e 23ª Aulas – Integração e especificidades metabólicas  
dos principais tecidos – aproveitamento metabólico de nutrientes**

**Distribuição dos nutrientes pelos principais órgãos** – Cooperação funcional com base na diferenciação celular (tecidual) e divisão do trabalho metabólico. Todos os tipos celulares têm, na generalidade, um núcleo de vias metabólicas que garantem a obtenção de energia química. Adicionalmente, cada tipo celular tem funções especiais, baseadas em vias metabólicas adequadas e exigências energéticas próprias. As hormonas e os neurotransmissores integram e coordenam as diversas actividades metabólicas em tecidos diferentes, preservando a economia e eficácia dos processos em cada órgão, e no organismo em geral. Adaptação metabólica global às exigências funcionais de cada Órgão. Flexibilidade metabólica.

**Fígado. Hepatocito** – O fígado como órgão central na distribuição e elaboração metabólica, fornecendo aos tecidos periféricos (extra-hepáticos) os metabolitos e factores metabólicos que estes possam requerer. Captação pelo hepatocito de monossacáridos e aminoácidos (recebidos pela veia porta) e dos lípidos (por veia porta ou, indirectamente, pelo canal torácico com ingresso no sistema nervoso).

Aproveitamento dos monossacáridos – (glicose); opções metabólicas principais após fosforilação (em glicose 6-P): glicogénese, glicólise, via das fosfopentoses ou glicose circulante. Fosforilação da glicose pela glicocinase (e hexocinase) e conversão da frutose, galactose e manose em glicose 6-P ou metabolitos da glicólise. Desfosforilação (pela glicose 6-fosfatase) da glicose 6-P em glicose livre, para manutenção da glicémia. Activação da glicogénese pela insulina, por modulação da glicogénio-sintetase (modulação alostérica e covalente). Importância das reservas de glicogénio hepático na manutenção da glicémia. Oxidação aeróbia da glicose pela glicólise (modulação alostérica e covalente das enzimas chave). Conversão do piruvato em acetil-CoA (pelo complexo da desidrogenase pirúvica; moduladores principais). Aproveitamento do acetil-CoA para fins energéticos (ciclo de Krebs) ou lipogénese (síntese dos ácidos gordos, triacilgliceróis e colesterol). Veiculação dos lípidos sintetizados no fígado pelas lipoproteínas endógenas (VLDL), para os tecidos periféricos. Oxidação da glicose 6-P pela via das fosfopentoses, originando principalmente poder redutor (NADPH) necessário para biossínteses reductoras (lipogénese) e ribose 5-P (precursor dos nucleótidos e ácidos nucleicos). Importância hormonal da insulina, glicagina e glicocorticoides.

Aproveitamento dos ácidos gordos – Principais opções metabólicas dos AG captados pelos hepatocitos: oxidação energética, cetogénese, síntese lipídica (ácidos gordos, triacilgliceróis, fosfolípidos, colesterol e derivados) e lipoproteínas (para a circulação). Oxidação dos ácidos

gordos em acetil-CoA e formação associada de NADH e FADH; pré-activação no citosol por sintetases, transporte pela carnitina (acção das aciltransferase I e II específicas) do citosol para as mitocôndrias ( $\beta$ -oxidação e aproveitamento energético do acetil-CoA). Importância da oxidação dos ácidos gordos como principal material energético a utilizar pelos hepatocitos. Aproveitamento do propionil-CoA (no caso da oxidação dos AG com nº ímpar de carbonos). Formação dos corpos cetónicos (acetoacetato e  $\beta$ -hidroxibutirato) quando há excesso de acetil-CoA não aproveitado pelo ciclo de Krebs. Importância energética dos corpos cetónicos para tecidos extra-hepáticos (especialmente músculo cardíaco (miocárdio) e cérebro, em condições extremas de jejum. Utilização de acetil-CoA para a biossíntese do colesterol (etapa reguladora catalisada pela HMG-CoA redutase), por sua vez precursor de hormonas esteroides e sais biliares. Síntese dos ácidos gordos (regulada pelo acetil-CoA carboxilase; moduladores mais activos), triacilglicerol (a partir dos ácidos gordos e glicerol 3-P) e fosfolípidos. Formação de lipoproteínas (VLDL) para transporte lipídico do fígado para os tecidos extra-hepáticos (via endógena).

Aproveitamento dos aminoácidos – Captação dos aminoácidos e aproveitamento nas seguintes opções: regeneração das proteínas (hepáticas, extra-hepáticas e plasmáticas), conversão em produtos azotados não-proteicos, utilização energética, conversão em piruvato e/ou intermediários do ciclo de Krebs, por aminotransferases, reconversão em glicose (pela gliconeogénese) ou glicogénio, formação dos ácidos gordos e lípidos em geral (a partir de acetil-CoA). Formação da ureia, a partir de grupos aminados removidos por aminotransferases ou desaminases. Além dos aminoácidos recebidos do intestino, o hepatócito é também porta de entrada de aminoácidos de origem muscular e outros tecidos periféricos. Participação do ciclo da glicose-alanina e glicose-lactato na interacção entre fígado e músculo, assegurando níveis adequados de glicémia. Importância hormonal da epinefrina, glicagina e glicocorticoides.

**Tecido adiposo. Adipocitos. Aproveitamento da glicose e lípidos** – Constituição prevalente em triacilglicerol. Comparação energética com as reservas de glicogénio. Actividade metabólica intensa, em resposta rápida a estímulos hormonais, e interacção com fígado, músculo-esquelético e miocárdio. Actividade glicolítica intensa originando acetil-CoA e glicerol 3-P (para a síntese do triacilglicerol e fins energéticos). Captação do triacilglicerol das lipoproteínas (por acção da lipase específica na membrana plasmática), proveniente do fígado (VLDL) ou intestino (quilomicra); transformação dos ácidos gordos em acetil-CoA a reutilizar na síntese do triacilglicerol. Hidrólise (por lipase hormono-dependente) do triacilglicerol em ácidos gordos e glicerol; parte dos ácidos gordos pode ser recaptu-

rado pelos adipocitos para subsequente síntese local do triacilglicerol, mas o restante ou a generalidade é veiculada, fixada à albumina, para o fígado e outros tecidos (em geral músculo esquelético e miocárdio). Importância da insulina (na lipogénese) e da epinefrina e/ou glicagina (na lipólise). Particularidades metabólicas do tecido adiposo “castanho”, com finalidades essencialmente termogénicas.

**Músculo-esquelético e cardíaco. Miocitos. Aproveitamento da glicose, ácidos gordos e corpos cetónicos** – A actividade metabólica varia com a intensidade da contracção muscular. Em repouso, o músculo-esquelético pode utilizar cerca de 50% do oxigénio corporal, aumentando para 90% em exercício intenso. Os nutrientes referidos são utilizados (essencialmente) para gerar ATP. Em repouso, são utilizados preferencialmente os ácidos gordos e os corpos cetónicos (com transformação em acetil-CoA). Durante o exercício muscular é utilizada também glicose (transformação em piruvato-lactato ou piruvato-acetil-CoA, conforme decorre em anaerobiose ou aerobiose). Utilização do glicogénio muscular como fonte alternativa da glicose durante o exercício rápido em anaerobiose, sob modulação pela epinefrina. Utilização da fosfocreatina como fonte de grupos fosforilo que regeneram o ATP do ADP (pela fosfocreatina-cinase). No miocárdio a oxidação da glicose decorre exclusivamente em aerobiose, excepto em condições patológicas. Ciclo do glutamina-glutamato, pelo qual o excesso de  $\text{NH}_3$  resultante da proteólise muscular é eliminado para a circulação sob a forma de glutamina, captada pelo tecido renal, com regeneração do glutamato e eliminação do  $\text{NH}_4^+$  pela urina; no rim (e na mucosa intestinal), o glutamato pode ser veiculado para a circulação sanguínea e/ou ser consumido como material energético. O ciclo do glutamina-glutamato pode decorrer igualmente a partir do tecido cerebral, donde é eliminada a glutamina em troca com entrada de glutamato.

**Tecido nervoso. Células nervosas. Aproveitamento da glicose e corpos cetónicos** – Em condições normais a glicose é o único nutriente utilizado, oxidado em aerobiose (cerca de 20% do consumo de  $\text{O}_2$  em repouso). A dependência estrita do tecido nervoso para a glicose justifica a cooperação do organismo na manutenção rigorosa da glicémia. Em situações extremas de jejum, com hipoglicémia acentuada (potencialmente geradora de lesões irreversíveis e morte), o tecido cerebral pode utilizar vantajosamente o  $\beta$ -hidroxibutirato como material energético (originando acetil-CoA), poupando ainda aminoácidos. Grande parte do ATP obtido por oxidação da glicose (e corpos cetónicos) é utilizada na activação do ATPase  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e subsequente potencial eléctrico de membrana.

### **24ª a 25ª Aulas – Adaptação e desregulação metabólicas**

**Generalidades** – Principais vias metabólicas participantes na adaptação integrada de diversos tecidos corporais ao ciclo de jejum-alimentação: glicólise, glicogénese, gliconeogénese, glicogenólise, lipólise,  $\beta$ -oxidação de ácidos gordos, cetogénese, lipogénese, proteólise, oxidação dos aminoácidos, síntese da ureia, síntese proteica, ciclo do citrato/fosforilação oxidativa. Capacidade de regulação de cada via e coordenação global em períodos de adaptação. Equilíbrio do consumo de nutrientes em função das necessidades corporais. Formação de depósitos calóricos sob a forma de glicogénio e lípidos. Gene *ob* e codificação da leptina: proteína produzida e secretada pelos adipócitos na circulação sanguínea, com função de controlo (redução) do apetite e do peso, e consumo energético (aumento). A obesidade como resultado de uma ilimitada capacidade de armazenamento lipídico. A diminuição da ingestão e do aproveitamento alimentar pode ser uma das causas do emagrecimento. O *Kwashiorkor* como resultado da malnutrição proteica (embora caloricamente equilibrada). O *Marasmo* pode ser uma consequência do jejum e/ou diminuição calórica abaixo das necessidades corporais.

**Jejum e realimentação** – Prioridade no jejum: manutenção da glicémia para utilização de glicose pelos tecidos insulino-independentes e fornecimento de substratos energéticos alternativos aos tecidos insulino-dependentes; manutenção da homeostasia energética do sistema nervoso central. Principais reservas energéticas do organismo com contribuição para a homeostasia durante o jejum: glicogénio hepático (utilização como glicose após glicogenólise hepática); triacilglicerol do tecido adiposo (utilização como ácidos gordos livres, ou após  $\beta$ -oxidação e síntese de corpos cetónicos no fígado); proteínas (principalmente musculares; utilização dos aminoácidos como substrato da gliconeogénese hepática).

Etapas metabólicas no jejum:

- (1) Período de jejum imediato (3h-10h de jejum). Manutenção da normoglicemia pelos efeitos da diminuição da insulina (ativação principal da glicogenólise hepática; diminuição do consumo de glicose pelos tecidos insulino-dependentes).
- (2) Fome precoce (10h-24h de jejum). Substituição progressiva da glicogenólise (depleção das reservas hepáticas de glicogénio) pela gliconeogénese.
- (3) Fome intermédia (1d-24d de jejum). Gliconeogénese, principalmente à custa das proteínas musculares. Substituição progressiva da glicose pelos ácidos gordos e corpos cetónicos (ativação da lipólise periférica e da cetogénese hepática). Corpos cetónicos como inibidores da gliconeogénese (poupança de proteínas musculares) e substrato



energético progressivamente mais importante no sistema nervoso central.

- (4) Fome prolongada (mais de 24d). Maior importância dos corpos cetónicos como metabolito energético para o organismo. Inibição marcada da proteólise e da gliconeogénese hepática. Inibição do ciclo da ureia; excreção de  $\text{NH}_3$  decorre sob a forma de ião amónio produzido no rim a partir da glutamina (activação da glutaminase renal) que funciona como substrato da gliconeogénese renal.

Regulação hormonal no jejum: diminuição da insulina e aumento da glicagina, somatotrofina e cortisol (em conjunto promovendo a activação da gliconeogénese, lipólise e cetogénese); modulação da função tiroideia (diminuição da T3 e aumento da rT3, provocando diminuição do metabolismo basal).

Resposta metabólica à realimentação. Jejum nocturno: refeição promove a libertação de insulina, com activação da glicogénese e inibição da glicogenólise e da gliconeogénese; Melhor adequação de refeição rica em glícidos, para promover a utilização da glicose e evitar hipoglicémia. Jejum prolongado: situação associada a degradação acentuada de proteínas corporais, incluindo vias enzimáticas de degradação de aminoácidos, com utilização dos aminoácidos preferencialmente por desaminação, e sem destoxificação do  $\text{NH}_3$  pelo ciclo da ureia; realimentação rica em proteínas origina hiperamoniemia (tóxica para o sistema nervoso central).

**Lipoproteínas** – Tipos principais e tecidos-alvo (na dependência da tipo de apolipoproteínas); formação exógena: síntese dos quilomicra nos enterócitos; transformação em quilomicra remanescentes após a actuação de lipoproteína-lipase endotelial. Síntese endógena (hepatócitos) de VLDL. Transformação em circulação em IDL e LDL, após remoção lipídica (ácidos gordos) pelos tecidos extra-hepáticos por lipase endotelial adjacente. Captação (por endocitose) das LDL pelas células com receptores específicos, com fornecimento preferencial de colesterol. Destino intracelular do complexo LDL- receptor. Conversão do colesterol em ésteres de colesterol por ACAT. Formação e função das HDL na remoção de resíduos de colesterol das células senescentes e outras fontes exógenas para o fígado; acção da LCAT (nas HDL) na esterificação do colesterol.

**Hipoglicemia** – Regulação hormonal de situação de hipoglicemia: importância primordial do eixo insulina (diminuição) / glicagina (aumento). Importância da activação do sistema nervoso simpático, com aumento da epinefrina circulante. Efeitos metabólicos da epinefrina: no fígado (receptores  $\beta_2$ ) activação da glicogenólise e da gliconeogénese; nos ilhéus de Langerhans diminuição da libertação de insulina (células  $\beta$ , receptores  $\alpha_2$ ) e aumento de glicagina (células  $\alpha$ , receptores  $\beta$ ); no músculo (receptores  $\beta_2$ ) diminuição da captação de glicose e aumento da libertação de alanina e lactato (substratos gliconeogénicos); no tecido adiposo (recepto-

res  $\beta_1$  e  $\beta_2$ ) activação da lipólise, com aumento dos ácidos gordos livres e do glicerol.

Outras hormonas envolvidas no controlo de situação de hipoglicémia: cortisol (aumento) e hormona do crescimento (aumento).

Sintomas de hipoglicémia: sintomas neuroglicopénicos (resultantes de diminuição do fornecimento de glicose ao sistema nervoso central) versus sintomas neurogénicos (resultantes da activação do sistema nervoso simpático e da libertação de catecolaminas).

**Regulação da fome/saciedade** – Centro hipotalâmico de controlo da saciedade sob controlo central *versus* periférico. Factores inibidores da ingestão de alimentos: (centrais) norepinefrina (receptor  $\beta$ -adrenérgico) e factor libertador da corticotrofina (CRF); (periféricos) leptina (produzida pelo tecido adiposo). Factores activadores da ingestão de alimentos: (centrais) norepinefrina (receptor  $\alpha$ -adrenérgico) e neuropéptido Y (NPY); (periféricos) hipoglicémia. Modulação do centro hipotalâmico por estímulos emocionais e cognitivos provenientes dos centros nervosos superiores.

**Exercício físico** – Metabolitos energéticos utilizados pelo músculo em exercício: creatina-fosfato, glicogénio (muscular), ácidos gordos (plasmáticos e de reservas musculares de triacilgliceróis). Metabolismo anaeróbio versus aeróbio (dependente de oxigenação sanguínea ou de reservas musculares de oxi-hemoglobina).

Tipos básicos de exercício físico (e metabolitos energéticos principais): exercício intenso e de curta duração (creatina-fosfato; glicose por via anaeróbia; glicose por via aeróbia dependente de oxi-hemoglobina); exercício de intensidade moderada e longa duração (glicose e ácidos gordos por via aeróbia dependente de oxigenação sanguínea). Importância crescente dos ácidos gordos no exercício de longa duração após 2 horas de exercício devido à progressiva activação da lipólise e da  $\beta$ -oxidação.

Modificações que ocorrem com o treino de endurance: melhor capacidade cardiovascular; aumento da massa muscular; diminuição do tecido adiposo; aumento da resistência óssea; alterações musculares estruturais (maior densidade capilar, número e tamanho das mitocôndrias aumentado, maior concentração de mioglobina); alterações musculares metabólicas (maior sensibilidade à insulina, maior expressão do transportador da glicose GLUT4, aumento da actividade das enzimas lipoproteína lipase, enzimas oxidativas mitocondriais – ciclo de Krebs e  $\beta$ -oxidação – e glicogénio sintase).

Efeito da dieta no exercício físico. Vantagem metabólica de dieta rica em hidratos de carbono após exercício físico por promover o armazenamento muscular de glicogénio (devido ao aumento da expressão do transportador GLUT4 e à activação da glicogénio sintase). Cafeína (inibidor da fosfodiesterase) como activador da lipólise periférica e da  $\beta$ -oxidação muscular, acelerando a capacidade muscular de utilizar ácidos gordos livres como principal metabolito energético e poupando o glicogénio muscular.

## **26ª Aula – Bioquímica do músculo e da contracção muscular**

**Músculos de contracção voluntária (esquelético) e involuntária (cardíaco e liso)** – Tipos de músculo: estriado (esquelético e cardíaco) e liso; organização estrutural do músculo estriado: fibras (célula) multinucleadas, sarcolema, sarcoplasma e miofibrilhas. Constituição das miofibrilhas: organização do sarcómero, composição dos filamentos espessos (miosina) e finos (actina, troponina e tropomiosina) e respectiva interacção (actina-miosina, formando actomiosina) durante a contracção muscular. Caracterização das proteínas filamentosas: actina G e F; miosina (cadeias leves L e região globular G); troponina (TpC, TpI, TpT). Localização e importância da actividade ATPase nas cadeias da miosina e na associação e dissociação da actina e da miosina.

**Mecanismo de contracção e de relaxamento do músculo-esquelético** – Relação com fluxo de cálcio intracelular e variação do complexo ATP-Pi-miosina/complexo ATP-actina-miosina. Regulação da contracção muscular-dependente da actina (músculo esquelético ou cardíaco) ou da miosina (músculo liso). Regulação da concentração do  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular em repouso e na activação muscular: canal de  $\text{Ca}^{2+}$  (RyR1 e RyR2), calsequestrina,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase. Outras proteínas importantes para a estrutura e função muscular: titina, nebulina,  $\alpha$ -actinina, desmosina, distrofina, calcineurina, proteína C de ligação da miosina.

**Particularidades da contractilidade do músculo cardíaco** – Ritmicidade, disposição em sincício intercomunicante, utilização de  $\text{Ca}^{2+}$  intra e extracelulares, sistema de transporte transmembranar (canais de  $\text{Ca}^{2+}$  do sarcolema, permutador  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase).

**Particularidades da contractilidade do músculo liso** – Contractilidade lenta e prolongada, ausência do sistema troponina e sarcómeros desalinhados, regulação da contracção dependente da miosina. Regulação da contracção (também) dependente de  $\text{Ca}^{2+}$  (que se fixa à calmodulina). As cadeias leves da miosina (pL) como local de fosforilação pela (miosina cinase, pré-activada pelo  $\text{Ca}^{2+}$ ) que antecede a fixação da F-actina, activação da miosina ATPase e subsequente contracção. Efeito miorrelaxante  $\beta$ -adrenérgico (dependente do aumento de AMP-cíclico e activação da proteína cinase A, com subsequente fosforilação da cinase da miosina-pL, muito menos sensível ao complexo calmodulina-  $\text{Ca}^{2+}$ ). Efeito inibidor (ou relaxante) da contracção pelo caldesmon (que, ao fixar-se à tropomiosina e actina, bloqueia a interacção com a miosina), por sua vez desactivado pelo aumento da  $\text{Ca}^{2+}$ -calmodulina ou fosforilação.

**Mecanismo microrrelaxante da acetilcolina nos vasos sanguíneos** – Através da produção de monóxido de azoto (NO), também designado factor relaxante derivado do endotélio (EDRF), sintetizado a partir da arginina pela NO sintase endotelial (activada pelo  $\text{Ca}^{2+}$ ). O relaxamento muscular resulta da fosforilação das proteínas musculares pela proteína-cinase

dependente do aumento do GMP-cíclico, após activação da guanilato-ciclase do músculo liso pelo NO. Reacção do NO como o  $O_2$  e  $O_2^-$ .

**Dispêndio metabólico no ciclo contracção-relaxamento muscular** – Obtenção do ATP em aerobiose ou anaerobiose; ATP pré-formado (ciclo ATP/ADP + Pi), da fosfocreatina, por regeneração a partir de duas moléculas de ADP (pela adenilato-cinase), por glicólise (da glicose pré-existente ou resultante do glicogénio muscular) ou fosforilação oxidativa. Glicogenólise por estimulação neuronal (com aumento de  $Ca^{2+}$ ), hormonal (com aumento de AMPc) ou pelo aumento de AMP (resultante do exercício muscular por hidrólise de ADP). Importância da mioglobina como reserva transitória de oxigénio no músculo. Utilização da glicose e de ácidos gordos livres (ou corpos cetónicos) como substratos preferenciais do músculo em actividade aeróbia. Formação da fosfocreatina pela creatina- (fosfo) cinase (ou somente cinase, CK). Isoenzimas de CK (CK-MM, CK BB e CK MB). Hidrólise do ATP e respectivos derivados e interconversões pela adenilato-cinase (com produção de ATP e AMP), AMP-5'-nucleotidase (com produção de adenosina e Pi), AMP-desaminase (com produção de IMP e  $NH_3$ ), ou adenosina-desaminase (com produção de inosina e  $NH_3$ ).

**Relação entre tipo de exercício e fonte energética mais utilizada** – Predomínio da utilização de ATP pré-existente ou resultante da glicólise anaeróbia por oxidação da glicose pré-existente (regulação da fosfofrutocinase-1) ou do glicogénio (regulação da fosforilase do glicogénio) e da fosfocreatina (no exercício rápido e intenso) ou do metabolismo oxidativo aeróbio (no exercício lento e prolongado), principalmente à custa da glicose e ácidos gordos.

**Recuperação muscular pós-contracção** – Fadiga muscular. Tipo de dieta mais adequada à reposição dos depósitos glicídicos e dos níveis de ATP e de fosfocreatina. Período aláctico e láctico de recuperação física pós-exercício.

### 27ª e 28ª Aulas – Bioquímica do Sistema Nervoso

**Organização espacial e estrutural do sistema nervoso (central e periférico)** – Principais características bioquímicas do tecido nervoso (composição e actividades endergónicas). Trocas metabólicas e barreiras estruturais (hemato-encefálica, líquido cefalo-raquidiano/cérebro, sangue/líquido cefalo-raquidiano).

**Mecanismos gerais** – Potencial eléctrico transmembranar, ATPase  $Na^+$ ,  $K^+$ , (mecanismo antiporta) e canais iónicos ( $Na^+$  e  $K^+$ ). Membrana polarizada, despolarizada e hiperpolarizada. Impulso nervoso (ou potencial de acção) e transmissão sináptica.

**Interações neuronais** – Sinapses eléctricas e químicas (associadas directamente a um canal iónico ou a um receptor específico). Tipos de neurotransmissores: excitatórios (acetilcolina, catecolaminas, serotonina, aspartato, glutamato, ATP) e inibitórios ( $\gamma$ -aminobutírico, glicina e taurina). Síntese, depósito e secreção dos neurotransmissores. Finalização da transmissão nervosa (por metabolização, recaptação pela extremidades axonais ou remoção).

**Transmissão colinérgica** – Acetilcolina (síntese por colina acetiltransferase e degradação por acetilcolinesterase). Caracterização do receptor para a acetilcolina em associação com canal iónico ( $\text{Na}^+$ ). Importância do influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  durante a despolarização do terminal neuronal na excitação da acetilcolina.

**Transmissão catecolaminérgica** – Síntese das catecolaminas, neurotransmissores (dopamina, norepinefrina e epinefrina) e degradação (pelas enzimas catecol-O-metiltransferase e monoaminoxidases).

**Transmissão serotoninérgica** – Síntese da serotonina (5-hidroxitriptamina) a partir do triptofano e degradação (desaminação oxidativa) em 5-hidroxiindol-acetato.

**Inibição pelo GABA** – Síntese e degradação do  $\gamma$ -aminobutirato. Relação entre glutamato (neurotransmissores excitatórios) e o GABA nos astrocitos.

**Péptidos neurotransmissores** – Síntese no corpo celular dos neurónios e transporte (rápido e lento) pelos axónios até ao terminal sináptico, induzindo respostas sensoriais ou emocionais. Exemplos de péptidos: encefalinas e endorfinas (inibitórias); substância P (excitatórias).

**Problemas de Bioquímica Aplicada** – *Miastenia Gravis*, Doença de Parkinson, Doença de Alzheimer, Esquizofrenia, Isquémia cerebral.

### **29ª–40ª Aulas – Acção Bioquímica das Principais Hormonas**

**Generalidades** – Sistema endócrino e hormonas. Tipos (quanto à caracterização química) de hormonas: hormonas derivadas da tirosina (catecolaminas e tiroideia), hormonas derivadas do colesterol (esteroides) e hormonas proteicas e glicoproteicas. Classificação das hormonas quanto à interacção com as células-alvo: lipofílicas (hormonas esteroides derivadas do colesterol, e hormonas da tiroideia) e hidrofílicas (proteínas ou derivadas de aminoácidos): composição, solubilização, formas de transporte em circulação, localização do receptor e tipo de mediador da acção hormonal. Mecanismos de síntese e secreção hormonal. Tipos celulares onde decorre a síntese das hormonas proteicas e glicoproteicas e das

hormonas esteroides. Síntese das hormonas proteicas (transcrição genética, pré-RNA, modificação pós-transcrição, RNA, transdução, pré-péptido, modificação pós-transdução, péptido final). Tipos de modificação pós-transdução. Armazenamento (em vesículas ou grânulos); acção dos microfilamentos e microtúbulos na deslocação intracelulares, secreção (e activação) hormonal (após estímulo de natureza hormonal e/ou iónica) por exocitose. Síntese das hormonas esteroides (no córtex supra-renal, placenta, ovário e testículo). Caracterização química e principais tipos de cada classe: o núcleo ciclopentanoperidrofenantreno (estrutura de 4 anéis unidos entre si, com um total de 17 carbonos), localização de cadeias laterais ( $C_{17}$ ) ou outros grupos ( $C_3$ ,  $C_{10}$ ,  $C_{13}$ ); as hormonas esteroides como derivados do colesterol (transportado do plasma ou a partir do acetil-CoA). Processo geral de biossíntese: hidrólise dos ésteres do colesterol nas células onde ocorre a interacção em colesterol, difusão para as mitocôndrias com transformação em pregnenolona (por enzima de clivagem da cadeia lateral dependente do citocromo  $P_{450}$ ). Transporte da pregnenolona das mitocôndrias para o retículo endoplásmico liso, onde decorrem as transformações seguintes. Transporte hormonal pelo sangue. As hormonas hidrofílicas não requerem, em geral, ligação às proteínas transportadoras; as hormonas lipofílicas (ou hidrofóbicas) ligam-se a proteínas transportadoras específicas. Intervenção sucessiva de hidroxilases, desidrogenases, isomerases e liases; outras particularidades enzimáticas de cada classe hormonal, predominantes nas respectivas células de formação, originando glicocorticoides p.ex. cortisol, corticosterona), mineralcorticoides (aldosterona) e androgénios (androstenediona), entre outros derivados. Equilíbrio em circulação entre as hormonas fixadas a proteínas e as “livres” (não fixadas a proteínas). Difusão fácil de formas livres para os tecidos, em relação com o estado fisiológico (p.ex. oxitocina no parto). Mecanismo geral de acção das hormonas lipofílicas: fixação a receptores intracelulares (no citosol-esteroides; no núcleo-hormonas da tiroideia), formação de complexo hormona-receptor que se fixa a regiões específicas do DNA (activando ou inactivando genes); não se exclui que actuem nas restantes fases da síntese, transporte e/ou degradação proteicas. Mecanismo geral das hormonas hidrofílicas: receptores na membrana citoplásmica e 2º mensageiro de acção hormonal. Sistema de cascata hormonal: SNC- hipotálamo – hipófise -órgãos ou tecidos-alvo. Amplificação sucessiva de efeitos, a partir de um estímulo mínimo. Concentração e vida média relativa (das hormonas secretadas) em cada etapa da cascata. Neurónios aminérgicos na síntese e descarga das hormonas de libertação, formadas no hipotálamo. Mecanismo de controlo do sistema endócrino: simples (sinal limitado em amplitude e duração), retrocontrolo negativo (curto e longo, retrocontrolo positivo, inibição(p.ex: factor inibidor da prolactina) e metabólico (p.ex.:  $T_4$  e  $T_3$ ). Controlo cronotrófico da secreção

hormonal; ritmos circadiano (cerca de 24 h), ultradiano (inferior a 24 h) e infradiano (superior a 24 h, por ex., período menstrual). Natureza das principais anomalias endócrinas: por falta ou excesso de produção (ou activação). Determinação hormonal: por bioensaio (resposta fisiológica induzida por hormonas) e imunoensaio (determinação quantitativa com anticorpo específico).

**Hormonas hipotalâmicas e hipofisárias** – Os núcleos hipotálamo-hipofisotrópicos e neurónios respectivos sintetizam factores hormonais hipotalâmicos, para o plexo capilar primário, com subsequente acção na hipófise anterior. Principais hormonas (ou factores de estimulação/inibição) hipotalâmicas e natureza química (péptidos de baixo peso molecular): hormona estimuladora de tirotrófina (TRH), hormona estimuladora das gonadotrofinas (GnRH), hormona estimuladora de somatotrofina (GHRH), hormona inibidora da secreção da somatotrofina ou somatostatina (SMS), hormona estimuladora da corticotrofina (CRH) e hormona inibidora da secreção da prolactina (PIF). Transporte pelo sangue através do sistema porta hipotálamo-hipofisário. Péptidos opióides – Derivados com origem na pro-enkefalina (met e leu-enkefalinas), com origem na pró-opiomelano cortina ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -endorfinas) e com origem na pro-dinorfina (dinorfinas,  $\alpha$ -neo-endorfina e  $\beta$ -neo-endorfina). Principais hormonas da hipófise anterior: (polipéptidos de cadeia única, excepto a família das glicoproteínas, diméricas): somatotrofina ou hormona do crescimento, GH), prolactina (PRL), família das glicoproteínas (tirotrófina, TSH; foliculotrofina, FSH; luteotrofina, LH), família POMC (adrenocorticotrofina ou corticotrofina, ACTH; estimuladora dos melanocitos,  $\alpha$ -MSH;  $\beta$ -endorfinas). Hormonas da hipófise posterior (neuro-hipófise): oxitocina, e vasopressina (ou hormona antidiurética, ADH); são sintetizadas no hipotálamo nos neurónios originados nos núcleos dos pares supra-óptico e paraventricular; as hormonas constituem-se em grânulos com a proteína neurofisina, e sendo transportados ao longo das fibras nervosas até à extremidade dos axónios na hipófise posterior; onde contactam capilares locais; a secreção hormonal decorre por exocitose na circulação, após estimulação.

**Somatotrofina (GH)** – A hormona mais abundante da hipófise anterior. Estrutura específica de espécie. Grande diversidade de efeitos biológicos, em particular: no osso (induz o crescimento), nos tecidos moles (músculo e tecido adiposo) e vísceras (fígado). Efeitos por acção directa (diferenciação clonal) e por acção indirecta através de factores de crescimento IGF-I (com expansão clonal). Efeitos directos (antagonizados pela insulina, sinérgicos com cortisol): redução do transporte e consumo de glicose, aumento de lipólise, do transporte de aminoácidos (para o músculo, fígado e tecido adiposo), da síntese proteica (por aumento de transcrição e transdução), da produção de IGF (sobretudo no fígado) e diferenciação

dos fibroblastos (com formação de condrocitos e adipocitos). Efeitos indirectos (antagonizados pelo cortisol e semelhantes aos da insulina): promoção do crescimento (através da IGF produzida no fígado e outros tecidos) e efeitos endócrinos; acção onde existem receptores específicos: osso, tecidos moles, vísceras e gónadas. Cada molécula de GH fixa-se a 2 receptores na membrana plasmática das células alvo, de que resulta a agregação e activação da Janus-cinase 2 (JAK-2). Os receptores para a IGF-I são semelhantes aos da insulina, diméricos (os de IGF II são monoméricos). A produção da GH é activada pela GHRH e inibida pela somatostatina hipotalâmica (SMS). Existe retrocontrolo pelo IGF-I no hipotálamo e hipófise, a par com o da GH no hipotálamo. A libertação da GHRH e somatostatina depende também do sistema nervoso central (activação pelo stress, exercício e sono). A secreção da GH predomina durante o sono.

**Hormonas tiroideias** – Biossíntese das iodotirosinas (MIT e DIT) e iodotiro-ninas ( $T_3$  e  $T_4$ ) a partir do iodo e tiroglobulina; metabolismo do iodo: captação como iodeto ( $I^-$ ), organificação por peroxidase ( $I_2$ ), iodação dos resíduos da tirosina da tiroglobulina, hidrólise da tiroglobulina, separação das formas hormonais activadas ( $T_3$  e  $T_4$ ) das não hormonais (MIT e DIT) e desionização destas em iodeto e tirosina. Transporte de  $T_3$  e  $T_4$  em circulação (forma livre ou fixadas a proteínas: globulina, TBG; pré-albumina, TGPA). Transformação da  $T_4$  em  $T_3$  em circulação ( $T_3$  reversa:  $rT_3$ ). Receptores celulares (núcleo e mitocôndria). Efeitos: activação metabólica, diferenciação celular e desenvolvimento. Acção periférica da TSH na síntese e secreção das hormonas tiroideias. Hipo- e hiperfunção tiroideia.

**Hormonas do pâncreas endócrino e gastrintestinal** – Secreção endócrina e ilhéus de Langerhans; tipos celulares produtores de hormonas: célula  $\alpha$ (glicagina),  $\beta$ (insulina e amilina);  $\delta$ (somatostatina).

(a) Insulina. Caracterização estrutural, formas sintetizadas e actividade relativa; pré-pro-hormona, pro-hormona, hormona (activa) e péptido C. Mecanismo de síntese e regulação da secreção da insulina. Transporte da insulina em circulação e receptores periféricos. Caracterização de receptores (dímeros  $\alpha_2\beta_2$ ; actividade tirosina-cinase da fracção  $\beta$ ). A insulina como hormona anabólica: acção no metabolismo glicídico, lipídico e proteico. Possíveis mecanismos de acção intracelular da insulina (fosforilação-desfosforilação ou intervenção de péptido subsequente à transdução hormonal). Sistema de transporte para glicose (Glut 1, 2, 4). Factores de crescimento semelhante à insulina (IGF-I e IGF-II); efeito em relação com a tirosina-cinase e oncogenes.

(b) Glicagina: formação e secreção; mecanismos de acção hormonal; receptores periféricos (principalmente no fígado e tecido adiposo) e repercussões metabólicas.



(c) Outras hormonas secretadas pelo pâncreas endócrino: somatostatina, amilina e polipéptido pancreático.

**Hormonas da medula suprarrenal** – A medula SR como espécie de gânglio do sistema simpático. Neurotransmissão pré- e pós-ganglionar dos sistemas simpático e parassimpático. Noção de catecolaminas; participação das células cromafins e respectivos grânulos na síntese, captação, armazenamento e secreção das catecolaminas. Mecanismos de secreção das catecolaminas (cálcio-dependente) e conteúdo dos grânulos (ATP-Ca<sub>2</sub><sup>+</sup>, dopamina β-hidroxilase e cromagranina A). Metabolização e inactivação das catecolaminas pela catecol-O-metiltransferase (COMT) e monoaminoxidase (MAO), originando metanefrinas e vanilmandelato. Receptores adrenérgicos α (1 e 2) e β (1 e 2) para as catecolaminas; efeitos metabólicos das catecolaminas, em particular de epinefrina e norepinefrina.

**Hormonas do córtex suprarrenal** – Principais classes de hormonas (glicocorticoides, mineralcorticoides, androgénios) e tipos celulares de córtex onde predomina a respectiva síntese (zona glomerulosa – mineralcorticoides; zona fasciculada- glicocorticoides, zona reticulada androgénios). Secreção dos esteroides (ritmo circadiano determinado pela ACTH), transporte no plasma dos glicocorticoides: livre (forma activa) ou ligados às proteínas (transcortina ou CBG; albumina), inactivação (hepática) e (eliminação (fezes e urina). Regulação da síntese dos glicocorticoides (pelas hormonas CRH e ACTH/cortisol) e dos mineralcorticoides (pelo sistema renina-angiotensina e [K<sup>+</sup>]).

**Gonadotrofinas hipofisárias e hormonas sexuais** – Depende da interacção complexa de factores (genéticos e hormonais, psicológicos e sociais) desde a concepção até à puberdade; requer um eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal íntegro, responsável em ambos os sexos pela alterações verificadas no desenvolvimento corporal e sexual, que culminam na capacidade reprodutora. As hormonas sexuais determinam o comportamento e as características sexuais, e, na mulher, também a gravidez, o parto e a lactação.

Sexo genético e dimorfismo sexual (do fenotipo masculino e feminino). Determinantes genéticos e cromossomas sexuais (X e Y): traços masculinos (cromossoma Y) e femininos (cromossomas X e autossomas); a região SRY do cromossoma Y na diferenciação das gónadas (bipotenciais) em testículos. Determinantes hormonais do testículo fetal: hormona antiducto Müller (secretada pelas células Sertoli, com acção entre a 7<sup>a</sup>. e 8<sup>a</sup>. semanas de vida intra-uterina), testosterona (durante toda a gravidez) e gonadotrofinas hipofisárias (a partir do 4<sup>o</sup>. mês de gravidez). Função das gónadas masculinas: síntese hormonal (androgénios) e dos gâmetas masculinos (espermatogénese). Hormonas androgénicas sintetizadas nos testículos: desidroepiandrosterona (DHEA), androstenediona, testosterona (<5 % é também sintetizada nos córtex supra-renal). Acção somática, psicológica e metabólica dos androgénios.

Gonadotrofinas hipofisárias e controlo da gametogénese masculina (estimulação testicular pela LH e FSH e retro-inibição pelos estrogénios, progesterona e inibina). Acção das gonadotrofinas hipofisárias: a LH estimula a síntese de testosterona nas células de Leydig; a testosterona mantém a espermatogénese, mas não a inicia; a FSH induz o início da espermatogénese; a produção de LH e FSH é estimulada pela GnRH hipotalâmica. A inibina inibe a produção de FSH, enquanto a testosterona e os estrogénios inibem a produção de ambas as gonadotrofinas. A inibina é um péptido dimérico (sintetizado nas células Sertoli testicular e nos folículos ovários), que inibe a secreção de FSH.

Ciclo ovulatório menstrual. Células germinais, transformação em folículos e relação com ovulação; corpo lúteo e síntese de estrogénios. A ovulação é iniciada por um aumento súbito da concentração de LH a meio do ciclo, a par com a alteração do retrocontrolo hipotálamo-hipofisário pelos estrogénios (de efeito inibidor muda para estimulador). Segue-se o desenvolvimento da maturação folicular, a luteólise dos folículos de Graaf e a menstruação. A produção hormonal do ovário é cíclica, de que derivam duas principais hormonas: estradiol e progesterona. O estradiol deriva dos precursores testosterona e androstenediona (todos sintetizados nas células periféricas (teca) dos folículos de Graaf. Aqueles precursores são transferidos para a camada celular interna (granulosa) dos folículos onde, por indução da FSH e síntese subsequente de AMPc, são transformados (pela enzima *aromatase*, com formação de anel fenol) em estrona e estradiol. A esteroidogénese é estimulada pela LH ao nível da *desmolase* (complexo enzimático mitocondrial que catalisa a remoção da cadeia lateral do colesterol), através do AMPc. A FSH, no início do ciclo menstrual, promove o desenvolvimento adicional dos folículos primários, aumentando o número de células granulosas, enquanto as de teca aumentam por influência da LH. Desta acção continuada da LH e FSH resulta o aumento de estradiol a partir dos 8-10 dias do ciclo. Antes da ovulação desenvolvem-se receptores para a LH também em células da camada granulosa, as quais começam a sintetizar progesterona. No corpo lúteo, ambos os tipos de células sintetizam estrogénios e progesterona. Início do retrocontrolo negativo pós-ovulação na produção das gonadotrofinas hipofisárias. Efeitos somáticos e psicológicos da variação hormonal (estrogénios/progesterona) durante o ciclo menstrual. Fases do ciclo: estrogénica (proliferativa), progestagénica (secretora) e descamativa (menstrual). A participação do glicogénio na secreção das células glandulares do endométrio na fase proliferativa.

Gravidez. O feto e a placenta constituem uma unidade (feto-placentária) que actua como órgão endócrino (segregando gonadotrofinas coriônicas, lactogénio placentário, estrogénios, progesterona), e transfere esteroides do feto para a mãe.

**Hormonas do tubo digestivo** – (a) hormonas secretadas pelo estômago e/ou intestino, secretina, gastrina, péptido inibidor gástrico (GIP, ou péptido insulínico dependente da glicose), motilina, enteroglicagina; (b) hormonas coexistentes no tubo gastrointestinal e sistema nervoso – somatostatina, neurotensina, substância P, péptido intestinal vasoactivo (VIP), colecistocinina (ou pancreozimina), bombesina e péptidos afins (BLI), encefalinas.

#### **41ª Aula – Bioquímica do osso e hormonas reguladoras**

**Cálcio corporal** – Localização. Principais funções do cálcio corporal (no transporte transmembranar, integridade membranar, mediador da acção hormonal, excitabilidade neuromuscular, coagulação sanguínea, secreção celular, descarga de hormonas e neurotransmissores, mineralização óssea), formas de cálcio plasmático: ionizado, ligado a proteínas (CBP-proteína de fixação do cálcio; maioritariamente a albumina), e formando complexos com ácidos orgânicos (em particular com citrato e fosfato). Efeito do pH plasmático na associação de cálcio às proteínas; solubilidade do cálcio ionizado e importância da associação às proteínas. Mecanismos de transporte transmembranar do cálcio (sistema  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ ; sistema  $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$  ATPase) e manutenção das baixas concentrações de  $\text{Ca}^{2+}$  no citosol, em comparação com os níveis extracelulares e as reservas nos compartimentos intracelulares.

**Hormonas reguladoras do metabolismo do cálcio** – Principais hormonas participantes: paratormona (PTH) e calcitriol [ $1,25(\text{OH})_2\text{-D}_3$ ]; participação acessória da calcitonina (inibição aparente da actividade dos osteoclastos).

(a) Características e acção da paratormona: forma inactiva (pré-pro-PTH, pro-PTH) e activa (PTH); destinos da PTH (reserva intraglandular, degradação intraglandular ou secreção). Regulação da síntese, metabolismo e secreção da PTH; fixação a receptores periféricos presentes especialmente nos núcleos de osteoblastos e células de túbulos distais renais. Principais acções metabólicas da PTH: aumentar a calcemia e reduzir a fosfatemia. Locais e mecanismos de acção no osso: libertação rápida do  $\text{Ca}^{2+}$  com aumento da dissolução do osso (osteólise); no rim: aumento da reabsorção de  $\text{Ca}^{2+}$ , aumento da excreção do  $\text{PO}_4^{2-}$ , estimulação da  $1\alpha$ -hidrolase com transformação da  $25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$  em  $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ : no intestino através do calcitriol (sintetizado no rim) é estimulada a absorção de  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$ .

(b) Características e acção do calcitriol: ( $1,25$ -dihidroxicolecalciferol, forma activa hormonal da vitamina D). Precursores: provitaminas –

ergosterol das plantas, e 7-desidrocolesterol nos animais, com transformação, respectivamente em ergocalciferol (vit D<sub>2</sub>) e colecalciferol (vit D<sub>3</sub>). Acção fotolítica na epiderme, convertendo o desidrocolesterol em colecalciferol. Transporte do colecalciferol (do intestino ou da pele) em associação com uma proteína fixadora da vit D<sub>3</sub> (globulina), para o fígado. Conversão pela D<sub>3</sub>-25-hidroxilase do hepatócito em 25-hidroxi-D<sub>3</sub> (formando depósitos hepáticos ou entrando em circulação); transporte (ou associação com proteínas de transporte específico) para o rim (e também osso e placenta) onde, por hidroxilação em C<sub>1</sub> origina o calcitriol [1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>] ou, sendo em C<sub>24</sub>, origina o produto inactivo [24,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>], excretado pelo rim. A síntese do calcitriol é induzida por níveis elevados de PTH, hipocalcemia, e/ou hipofosfatemia: inibição da 1 $\alpha$ -hidroxilase e estimulação da 24-hidroxilase por níveis elevados de calcitriol e/ou baixa concentração de PTH. Principais acções metabólicas do calcitriol: aumento da calcemia e fosfatemia em circulação através do aumento de absorção intestinal do Ca<sup>2+</sup> e PO<sub>4</sub><sup>2-</sup>; a acção do calcitriol na mucosa intestinal envolve a síntese de uma proteína de fixação de Ca<sup>2+</sup> (calbindina D) nos enterócitos; no osso promove a mineralização, indirectamente, através da manutenção dos níveis circulantes do Ca<sup>2+</sup> e PO<sub>4</sub><sup>2-</sup>; nos osteoblastos, o calcitriol aumenta a síntese da fosfatase alcalina e de uma proteína fixadora do cálcio (a osteocalcina). O calcitriol, bem como a PTH, actuam nos túbulos renais distais, estimulando a reabsorção do cálcio. A acção celular do calcitriol é iniciada com a fixação a receptores intracelulares do tipo dos receptores para os esteroides.

(c) Balanço do cálcio: a manutenção do balanço de cálcio depende dos efeitos que a PTH exerce a longo prazo no intestino delgado, através do calcitriol. Esta hormona actua isoladamente nas células da mucosa intestinal. No osso, a desmineralização óssea resulta da acção sinérgica do calcitriol e do PTH, em geral induzidas por hipocalcemia. Ambas as hormonas actuam no rim, a nível de mecanismos de excreção do Ca<sup>2+</sup> e do PO<sub>4</sub><sup>3+</sup>.

**Cálcio no osso** – O osso como reservatório do cálcio (cerca de 99% de 1Kg corporal), que combinado ao fosfato (formando cristais de hidroxiapatite) assegura a estrutura (mecânica) do osso. Apenas 2% do cálcio ósseo é livremente miscível com outros componentes; a maioria, sob a forma de hidroxiapatite, não é facilmente miscível. O osso como estrutura mecânica e reservatório de cálcio corporal. Dinâmica tecidual, assegurada por constante formação e reabsorção estrutural, por acção de osteoclastos, osteoblastos e osteócitos. A matriz extracelular constitui cerca de 90% do peso ósseo total, dos quais cerca de 60% é componente inorgânico (hidroxiapatite) e 30% é proteína (colagénio tipo 1, osteopondina, osteocalcina). Os osteoblastos na síntese da matriz orgânica do osso e regulação da respectiva mineralização. As proteínas osteopondina e osteocalcina na formação e remodelação ósseas. Acção lítica dos osteoclastos a pH ácido.

**Modelação e remodelação ósseas** – A modelação (indução das dimensões e formas) durante o crescimento do esqueleto, e a remodelação (manutenção da forma, dimensões e estrutura) durante a vida adulta, com base num equilíbrio (instável) entre formação e reabsorção ósseas. Mecanismo interactivo da actividade dos osteoblastos e osteoclastos, através de sinais químicos. Factores locais e gerais reguladores da reabsorção óssea. Acção das hormona paratiroideia na activação dos osteoclastos (via AMPc ou redistribuição do cálcio intracelular) e subsequente reabsorção óssea. A calcitonina como inibidor hormonal da reabsorção óssea, ao actuar nos osteoclastos, inibindo-lhe a actividade e proliferação. Acção dos factores hormonais e locais no controlo da formação óssea (a nível da proliferação e da diferenciação dos osteoblastos).

#### **42ª -45ª Aulas – Bioquímica do fígado**

##### ***A. Biossíntese e Degradação do Heme e Metabolismo dos Pigmentos Biliares***

**Hemoproteínas** – Revisão sobre tipos de moléculas hemínicas mais comuns e funções respectivas: proteínas respiratórias (hemoglobina e mioglobina), translocases de electrões (citocromos), enzimas redox (catalase, peroxidase) ou outras (triptofano pirrolase).

**Biossíntese das porfirinas e do heme** – Síntese dos precursores (ácido  $\delta$ -aminolevulínico (ALA), porfobilinogénio (PBG)); a sintase do ácido  $\delta$ -aminolevulínico como enzima reguladora; síntese dos tetrapirrois, por condensação de 4 unidades de porfobilinogénio: formação dos uroporfirinogénio (UPG) I e III (pela sintetase e co-sintetase), conversão em coproporfirinogénio (CPG)I e III (por descarboxilação), oxidação em protoporfirinogénio (PPG)III, oxidação em protoporfirina (PP) por oxidase, quelatação com metal (ferro), originando o heme por heme sintase (ou ferroquelatase). Localização intracelular da biossíntese (citosol e mitocôndria) e prevalência tecidual (linhagem eritropoiética da medula óssea e hepatocitos). Regulação alostérica (pelo produto final, heme) e constitutiva (indução e repressão genética pelo heme). Inibição da desidratase do ALA pelo chumbo.

**Catabolismo do heme** – Localização celular (microsomas das células do sistema retículo-endotelial, SRE). Transformação do tetrapirrol cíclico (heme) em linear, pela heme-oxigenase (após remoção da fracção proteica da hemoproteína), com libertação de uma molécula de monóxido de carbono (CO) e do átomo do ferro (na forma trivalente, oxidada). Daqui resulta a transformação do heme em biliverdina e desta (por uma redutase) em bilirrubina (não conjugada).

**Metabolização da bilirrubina** – Transporte de bilirrubina não conjugada (fixada à albumina) das células do SRE extra-hepático e captação (por

transporte facilitado) pelos hepatocitos. Centros de fixação (um com grande, outro com baixa afinidade) existentes na molécula de albumina para a bilirrubina. Transporte intracelular (ligação às proteínas Y e Z, ou ligandina) e solubilização da bilirrubina por conjugação (no retículo endoplásmico liso dos hepatocitos) com diglicuronato (pela UDP glicuroniltransferase), originando bilirrubina diglicuronato e bilirrubina monoglicuronato. Apetência da bilirrubina não-conjugada pelo lípidos membranares, originando alterações acentuadas da função celular, com destaque para o sistema nervoso.

**Secreção e eliminação da bilirrubina** – Transporte activo da bilirrubina conjugada, do hepatocito para os canalículos biliares, que a veicula até ao intestino (íleon e grosso); remoção local da fracção glicuronato (por glicuronidasas, da flora bacteriana intestinal), com redução em etapas sucessivas em compostos tetrapirrólicos incolores (urobilinogénio ou esterobilinogénio). Reabsorção parcial do intestino para o fígado, com re-excreção para o intestino (ciclo enterohepático) de uma fracção de urobilinogénio, a qual pode ser também eliminada (particularmente em situações anormais – hiperformação ou doença hepática) pela urina. O urobilinogénio (ou esterobilinogénio, quando nas fezes) é oxidado em contacto com o ar originando urobilina (ou estercobilina).

**Hiperbilirrubinemia** – Principais causas: aumento da degradação do heme, diminuição da conjugação hepática, limitação da excreção biliar.

#### **B. Mecanismos de Destoxificação**

**Xenobióticos** – Noção, tipos e importância médica. Metabolização geral (essencialmente hepática), fases de transformação e reacções principais: hidroxilação, metilação, ou conjugação (com glicuronato, sulfato, acetato ou glutatião). Efeitos da metabolização dos xenobióticos e acção biológica: activação, diminuição ou inactivação. Repercussão celular por metabolitos reactivos, na sequência da ligação covalente a macromoléculas biológicas: lesões celulares, alterações das características antigénicas, mutações (carcinogénese). Acção protectora celular da epóxido-hidrolase.

**Reacções de hidroxilação** – Monoxigenases genericamente designadas citocromo P<sub>450</sub>. Composição bioquímica (hemoproteína). Mecanismo de acção no retículo-endoplásmico (microsomas). Participação de NADPH e NADPH-citocromo P<sub>450</sub> redutase na transferência de 1º electrão (grupos prostéticos: FAD e FMN) para o Cit P<sub>450</sub>, para fixação do O<sub>2</sub>. Transferência do 2º electrão (daquele sistema ou, em alternativa, de NADPH e citocromo b<sub>5</sub>, pela respectiva redutase-FAD dependente) para que ocorra a clivagem de oxigénio em 2 átomos, um incorporado no substrato de hidroxilase, sendo o outro eliminado na água. Mecanismo de acção mitocondrial: electrões transferidos de NADPH para uma proteína (adrenoxina) por acção de uma redutase (NADPH-adrenoxina-redutase, FAD

dependente) e complexos ferro-enxôfre, com aceitação final pelo Cit P<sub>450</sub>. Funções do Cit P<sub>450</sub>: metabolização de substâncias lipofílicas endógenas (p.ex., síntese de esteroides, oxigenação de eicosanoides) e exógenas (xenobióticos). Cit P<sub>488</sub> e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAH); metabolização dos PAH pela hidroxilase específica (dos hidrocarbonetos aromáticos, ou AHH), na origem da acção carcinogénica de inalantes no fumo do tabaco (por activação de PAH inactivos).

**Reacções de conjugação** – (a) Glicuronidação: intervenção do UDP-glicuronato e glicuroniltransferase (retículo endoplásmico e citosol), (b) Sulfatação: intervenção do “sulfato-activo” (fosfoadenosina fosfossulfato, ou PAPS).

(c) Glutatião: acção da glutatião S-transferase na formação dos conjugados com glutatião; outras enzimas que utilizam o glutatião (peroxidase e redutase) e também constituem mecanismos de defesa celular contra substâncias oxidantes ou tóxicas. Ciclo do  $\gamma$ -glutamil e intervenção da  $\gamma$ -glutamyltransferase. Eliminação urinária dos conjugados com glutatião, sob a forma de mercapturato (acetil-cisteína).

(d) Acetilação: com grupo acetilo do acetil-CoA.

(e) Metilação: utilização do grupo metilo, da S-adenosilmetionina.

**Catabolismo do etanol** – Oxidação em acetaldeído e deste em acetato (principalmente nas mitocôndrias). Consequências metabólicas potenciais: aumento de relação NADH/NAD: diminuição da gliconeogénese hepática, com acumulação de lactato (originando acidose metabólica) e hipoglicémia em jejum; diminuição de  $\beta$ -oxidação (com redução de cetogénese e aumento da deposição hepatocitária do triacilglicerol (fígado gordo); inibição do ciclo do citrato (com redução da síntese da GTP, menor conversão de acetato em acetil-CoA); acumulação de acetaldeído (conjugando-se a proteínas plasmáticas e teciduais) e do acetato na circulação sanguínea.

### C. *Proteínas plasmáticas e resposta hepática a estímulos agudos e crónicos*

**Síntese e secreção de proteínas pelo hepatocito** – As proteínas plasmáticas são na maioria geradas nos hepatocitos. Mecanismo e localização da síntese (retículo-endoplásmico), modificações pós-tradução (no aparelho de Golgi e vesículas de secreção). Principais proteínas plasmáticas (albumina, globulina e fibrinogénio), características principais e funções (transporte, imunidade humoral, manutenção da pressão oncótica, enzimas, inibidoras enzimáticas, tampão). Paraproteinemias e hiperproteinemias. Proteínas enzimáticas mais utilizadas na avaliação da função hepática (aminotransferase do aspartato e alanina,  $\gamma$ -glutamyltransferase, fosfatase alcalina)

**Indutores e proteínas da resposta da fase aguda** – Principais tipos de agressão do organismo (traumatismo, doença aguda, inflamação). As

citocinas como principais factores envolvidos na síntese de proteínas hepáticas de fase agudas. Tipos de proteínas formadas perante um estímulo extra-hepático; proteínas de fase aguda, positivas (p.ex. fibrinogénio) e negativas (p.ex. albumina). Estimulação hepatocitária por interleucinas 1 e 6 e factor da necrose tumoral.

#### **D. Citocinas**

Natureza química e local de formação (proteínas produzidas e secretadas por diversos tipos celulares em resposta a estímulos, influenciando órgãos alvo).

- a) Classes de citocinas – Factores de crescimento (GF, growth factors) linfocinas (IL, interleucinas) factores estimuladores em colónia (CSF, colony stimulating factors), factores transformadores de crescimento (TGF, transforming growth factors), factor de necrose tumoral (TNF, tumor necrosis factor), interferões (IFN, interferons).
- b) Mecanismo de acção – Interação citocina-receptor da célula alvo, internalização, reciclagem ou inactivação do receptor. Sinais de transdução e mecanismos de intervenção: tirosina-cinases, proteínas G, AMP cíclico, inositolfosfato, diacilglicerol e cálcio, eicosanoides.
- c) Principais efeitos biológicos – Proliferação e diferenciação celulares, regulador da hematopoiese, regulação da resposta imunológica, controlo da inflamação e infecção.

### **46<sup>a</sup> -54<sup>a</sup> Aulas Bioquímica do sangue e endotélio**

#### ***Eritrocito – Morfologia, metabolismo e membrana***

**Generalidades** – Necessidades energéticas/funções prioritárias: conservação do ferro da hemoglobina no estado bivalente; equilíbrio  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$  intraglobular, *versus* gradiente extraglobular; conservação dos grupos sulfidrílicos de enzimas, membrana e hemoglobina no estado reduzido; conservação da forma discoide bicôncava. Consequências de alterações incidentes naquelas funções: remoção eritrocitária da circulação pelo baço e sistema fagocitário (monocitos-macrófagos), oxidação da hemoglobina em metahemoglobina, esfericidade/rigidez globular. Metabolismo da glicose (substrato virtualmente único) pela glicólise anaeróbia e via das fosfopentoses nos eritrocitos maduros. Consequências de defeitos enzimáticos: anemias hemolíticas.

**Estrutura e forma eritrocitária** – Determinantes da forma globular: relação área superfície/volume globular, composição da membrana em fosfolípidos e colesterol, e características do citoesqueleto. Concentração média da hemoglobina globular (CMHG). Discocitos e outras formas eritrocitárias típicas: equinocito, estomatocito, acantocito, esquizocito, drepanoci-



to, célula em alvo (ou codocito). Anisocitose (dimensões diferentes na mesma amostra), poiquilocitose (formas diferentes na mesma amostra), esferocito. Importância da circulação transesplênica na remoção de eritrócitos inviáveis, parasitados ou senescentes. Osmolaridade e fragilidade osmótica. Agregação e rolhões globulares.

### **Membrana eritrocitária**

(a) Composição e estrutura – Principais constituintes: bifolheto lipídico, proteínas integrais e citoesqueleto: (a) *Bifolheto lipídico* – Composição 95% de fosfolípidos (P), e colesterol (C); distribuição relativa (proporção molar P/C = 1,3). Distribuição assimétrica dos fosfolípidos; fracção predominante no folheto externo: fosfatidilcolina (28%), e esfingomiélna (26%); predominantes no folheto interno: fosfatidilcolina-etanolamina (27%), fosfatidilserina (13%) e fosfatidilinositol (2-5%). Consequências da modificação daquela distribuição e mecanismos correctores (movimentos passivos transmembranares, acção de translocase ou flipase, acção estabilizante do citoesqueleto). Fluidez do bifolheto lipídico (variação entre estado líquido normal e estado gel, com base no conteúdo do colesterol, insaturação e comprimento das cadeias de ácidos gordos dos fosfolípidos). Síntese lipídica (durante a eritropoiese). Trocas de fosfolípidos e colesterol entre as membranas de eritrócitos maduros e lipoproteínas em circulação; participação de LCAT (lecitina colesterol aciltransferase) e incorporação activa de ácidos gordos em lisofosfolípidos de membrana, gerando fosfatidilcolina. (b) *Proteínas de membrana* (citoesqueleto e integrais). Disposição relativa no bifolheto membranar (o citoesqueleto reveste a superfície interna em cerca de 60% enquanto as proteínas integrais atravessam o bifolheto). Disposição do citoesqueleto numa malha de “hexágonos” adjacentes, em contacto com as proteínas integrais. Interações verticais: espectrina-anquirina-banda 3, espectrina-proteína 4.1-glicoforina, espectrina-fosfatidil-serina (consequências de defeitos nas interações verticais: perdas lipídicas, originando esferocitose). Interações horizontais espectrina-proteína 4.1-anquirina e dímero-dímero de espectrina (consequência de defeitos nas interações horizontais: perda da integridade do citoesqueleto e originando eliptocitos ou fragmentação globular. Modulação das proteínas membranares: modificações irreversíveis (p.ex. metilação, glicosilação, oxidação) e dinâmicas (fosforilação). Fragmentação e perda de membrana por lesão oxidativa, formação e aderência de corpos de Heinz, fragmentação mecânica e lesão por complexos imunológicos.

(b) Propriedades físicas – Dobragem, deformação (distensão, deformação plástica), expansão (do folheto externo ou do folheto interno): reflectem as propriedades conjuntas do bifolheto lipídico e citoesqueleto. Deformação eritrocitária – factores determinantes (geometria globular, viscosidade do conteúdo, propriedades viscoelásticas da membrana). O citoesque-

leto como principal determinante da integridade membranar (integridade estrutural e estabilidade do bifolheto lipídico). Determinantes da forma globular: relação área superfície/volume globular, composição da membrana em fosfolípidos e colesterol, e características do citoesqueleto. Concentração média da hemoglobina globular (CMHG).

(c) Permeabilidade – Virtualmente impermeável a catiões mono e divalentes (justificando elevação intraglobular de  $K^+$  e diminuição de  $Ca^{2+}$  e  $Na^+$ , relativamente aos valores extraglobulares) e permeável a aniões (através da proteína transportadora aniónica), moléculas de água (canais proteicos) e glicose (transportador). Sistemas de transporte com acção no volume globular (cotransporte  $K^+-Cl^-$  e efeito Gardos). Bombas catiónicas (dependente de ATP): bomba de  $Na^+$  ouabaina sensível ( $Na^+$ ,  $K^+$  ATPase) e bomba de  $Ca^{2+}$  ( $Ca^{2+}$  ATPase).

(d) Superfície globular – Carga eléctrica (negativa, derivada dos resíduos de ácido neuramínico – 90% presente na glicoforina A), antigénios (grupos sanguíneos) e receptores. Âncora glicosilfosfatidilinositol: caracterização bioquímica, localização e funções (ligações do sector hidrofóbico às proteínas hidrofílicas da superfície externa); proteínas da superfície externa (com mobilidade lateral e rotação) e interacção com meio envolvente (p.ex. aglutinação globular).

(e) Grupos sanguíneos – Determinantes antigénicos (cerca de 100, referentes a 21 sistemas independentes de grupos sanguíneos humanos). Controlados por 1 locus genético com diversos alelos. Caracterização bioquímica de sistemas ABO, Rh, e MN. Precursor (substância H) e antigénios do sistema ABO (oligossacáridos complexos). A substância H como precursora da A e B e identificador do tipo 0. Sistema Rh. O factor Rh (antigénio D) é uma proteína integral em interacção com fosfolípidos da membrana eritrocitária. Sistema MN – determinado por glicoforinas A e B.

#### **Via glicolítica**

(a) Características metabólicas – A oxidação aeróbia é possível unicamente nos reticulocitos e fases de maturação antecedentes. Mecanismo de captação da glicose através da membrana eritrocitária (por transportador inespecífico para a glicose e outros açúcares), independente da insulina. Virtual perda da actividade glicolítica a valores de  $pH > 7,0$ , aumento de actividade glicolítica a  $pH < 7,0$ , embora limitada pela disponibilidade em  $NAD^+$ . Flexibilidade glicolítica a nível de 1,3-BPG, com formação de ATP ou 2,3-BPG, e 3-PG. Regulação da concentração do 2,3-BPG (através da actividade da mutase e fosfatase) pelo  $pH$ : a valores alcalinos é estimulada a sintase, enquanto o aumento de  $[H^+]$  inibe a mutase e activa a fosfatase, diminuindo a concentração) e pela concentração relativa de desoxi Hb/oxi Hb (a desoxi Hb fixa 2,3-BPG, estimulando a síntese deste metabolito). Utilidade do NADH (reduzindo a metahemoglobina em hemoglobina, ou convertendo o piruvato em lactato), com formação final

de piruvato ou lactato. Contributo destes produtos para a gliconeogénese.

(b) Via das fosfopentoses – Funções prioritárias: redução da  $\text{NADP}^+$ . Utilização da NADPH nas reacções catalisadas pelo glutatião-redutase (e glutatião peroxidase).

(c) Redução da metahemoglobina – Sistema NADH-dependente: Meta-hemoglobina-redutase (ou NADH diaforase); o NADH reduz o citocromo b5, o qual converte o  $\text{Fe}^{3+}$  da metahemoglobina em  $\text{Fe}^{2+}$ . Sistema NADPH-dependente (requer aceitador artificial de electrões, p.ex. azul de metileno). Redução pelo GSH e ácido ascórbico: participação irrelevante.

(d) Metabolismo do glutatião – Síntese e utilidade da GSH (eliminação directa e indirecta do peróxido de hidrogénio, redução de grupos sulfidrílicos das proteínas intraglobulares oxidadas). Activação da glutatião peroxidase (redução de  $\text{H}_2\text{O}$  resultante do superóxido dismutase em  $\text{H}_2\text{O}$ ) e da glutatião redutase (redução do GSSG em GSH, dependente de NADPH). Eliminação do glutatião oxidado por ATPases específicas.

(e) Outros substratos e outras enzimas eritrocitárias – Outros substratos: adenosina, inosina, frutose, manose, galactose, gliceraldeído e dihidroxiacetona. Aproveitamento da adenosina (conversão sucessiva em inosina, ribose 1-P e hipoxantina, com interferência na síntese de ATP); galactose (conversão em glicose 6-P), manose e frutose (conversão em frutose 6-P); gliceraldeído e dihidroxiacetona (fosforilação em trioses-fosfato). Outras enzimas mais relevantes: catalase (decomposição de concentrações elevadas de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em  $\text{H}_2\text{O}$  e oxigénio). Superóxido dismutase (protegendo a hemoglobina e outros componentes globulares do anião superóxido), acetilcolinesterase, (relacionada com a fixação da fosfatidilinositol e outras funções não clarificadas), adenosina 3,5' monofosfato desaminase (regulação da concentração de nucleótidos adenílicos), proteínas-cinase membranares (transferência do grupo fosforilo do ATP para proteínas do citoesqueleto), enzimas proteolíticas (calpaína), ATPases ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) e ( $\text{Ca}^{2+}$ ).

(f) Síntese dos nucleótidos – Idêntica à de outros tipos celulares. Prevalece a via de recuperação para os nucleótidos púricos (pela fosforibosil-transferase da adenina e guanina-hipoxantina). Síntese do NAD e NADP pelos mecanismos habituais.

### ***Metabolismo do ferro e eritropoiese***

**Eritrão e hematopoiese** – Linhagem eritroide, progenitores, precursores BFU-E e CFU-E, pro-eritroblastos, eritroblastos, reticulocitos e eritrocitos. Pirâmides eritroide-eritrocitária. Centros hematopoiéticos e mecanismos de regulação. Sequência da maturação e proliferação na série eritroide, variável com a proporção de receptores celulares e da síntese proteica (hemoglobina). Citocinas hematopoiéticas (eritropoietina, citocinas de acção precoce, interleucinas, factores de estimulação em colónia,

outros). Mecanismo de acção das citocinas hematopoiéticas e efeitos. Caracterização, produção e efeitos da eritropoietina

**Caracterização e propriedades químicas do ferro** – O ferro no estado  $\text{Fe}^2$  (ferroso) e  $\text{Fe}^{3+}$  (férico). Afinidade para átomos electronegativos (p.ex., oxigénio). Estado redox: em meio ácido ( $\text{Fe}^{2+}$ ) e meio neutro ou alcalino ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Formação de agregados e precipitados do complexo com  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{OH}^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  ou aniões diversos. Fixação do ferro a macromoléculas (quelatação), influenciando propriedades e funções; acção protectora de proteínas fixadas de ferro (armazenamento e transporte): grande afinidade para o metal e insaturação relativa. Mecanismos subjacentes na transferência do ferro entre macromoléculas distintas (com base no estado redox e na quelatação, ambos favoráveis ao  $\text{Fe}^{3+}$ ).

**Compartimentos corporais do ferro** – Principais compartimentos de ferro no organismo (% decrescente): hemoglobina, depósito, mioglobina, lábil, outras formas e transporte. Ligação directa a resíduos proteicos (não-hemínica) ou indirecta unindo-se à protoporfirina (hemínica): diferenças entre heme (com  $\text{Fe}^{2+}$ ) e hematina (com  $\text{Fe}^{3+}$ ). Funções das proteínas com ferro hemínico: transporte (hemoglobina) ou reserva (mioglobina) de oxigénio, e catálise enzimática como grupos prostéticos (p.ex., na catalase). Funções das proteínas com ferro não-hemínico: transporte (transferrina) ou reservatório tecidual (ferritina, hemossiderina) de ferro, catálise enzimática (presença em centro activo) e outras reacções redox não enzimáticas (grupos Fe-S ou ferredoxinas) Caracterização e propriedades da (apo)transferrina ( $\beta_1$ -glicoproteína, sintetizada nos hepatócitos e também nas células de SRE), fixação preferencial de  $\text{Fe}^{3+}$ , em 2 centros de cada molécula de transferrina, na presença de um anião (em geral  $\text{HCO}_3^-$ ) por cada átomo de ferro trivalente que se fixa. Mecanismo de captação: fixação a receptores celulares para a transferrina, endocitose do complexo e dissociação de ferro nos lisossomas, com recuperação da apotransferrina e receptor. Caracterização e propriedades da ferritina – estrutura camada proteica periférica (24 monómeros do tipo H e tipo L), e núcleo central de  $\text{FeOOH}$  ( $\text{Fe}^{3+}$  + hidróxido + fosfato); capacidade de saturação (máximo de 4500 átomos de  $\text{Fe}^{3+}$ /molécula; em geral 1/2 a 2/3 saturada); a deposição do ferro em excesso na periferia das moléculas de ferritina origina a hemossiderina (cristais de  $\text{FeOOH}$ , insolúveis em água e com pouco ou nenhuma apoferritina na sua estrutura). A forma lábil do ferro representa uma fracção no espaço intersticial e intracelular, onde se fixa transitoriamente a proteínas e outros constituintes locais, precedendo a incorporação no heme (em depósitos de ferro) ou o refluxo para o plasma. Ferro e lactoferrina. Semelhança entre a lactoferrina e a transferrina na ligação do ferro. Propriedades bacteriostáticas da lactoferrina (leite, secreções mucosas, granulócitos neutrófilos).

**Balço de ferro corporal, perdas e absorção intestinal de ferro** – Necessidades diárias na dieta. Variação com estado fisiológico. Perdas fisiológicas por descamação epitelial e faneras, hemorragias menstruais. Aumento da necessidade nas fases de crescimento corporal e gravidez (4-5 vezes o normal). Digestão alimentar, com separação de ferro dos ligandos; a redução ao estado ferroso no estômago (a pH ácido) e na presença de redutores (em geral ascorbato) facilita aquela dissociação. Absorção no intestino delgado (designadamente no duodeno) como grupo heme ou ião livre; na presença de secreções pancreáticas com bicarbonato, o ferro passa ao estado férrico; a quantidade absorvida para a circulação é regulada pelas necessidades corporais, através da variação da síntese de apoferritina (por modulação da actividade da aconitase da proteína de resposta ao ferro (IRP-1) citoplásmica que se fixa ao segmento IRE (elemento de resposta ao ferro) do RNAm da apoferritina nas células da mucosa intestinal: a síntese aumenta quando o organismo não requer mais ferro, retraindo-o como reserva no epitélio intestinal, e vice-versa. Mobilização do ferro em depósito na mucosa intestinal ou transferido do lume intestinal para a transferrina plasmática. Acção das ferroxidasas I (ceruloplasmina) e II do soro.

**Transporte de ferro e eritropoiese** – Ciclo endógeno de ferro; reutilização constante e quase integral do ferro do plasma (unido à transferrina) para a medula óssea (eritroblastos, para a síntese de hemoglobina), sangue circulante (na hemoglobina dos eritrocitos maduros), e captação pelas células de SRE (monocitos-macrófagos, por senescência eritrocitária). Uma quantidade mínima (1mg) é perdida ou transferida diariamente, sendo substituída por quantidades equivalentes da dieta. Endocitose do complexo transferrina-ferro, após fixação aos receptores membranares das células alvo; características estruturais dos receptores da transferrina. Mobilização do complexo da membrana para o citoplasma, com fusão aos lisossomas, libertação local de ferro e reciclagem do receptor-apotransferrina para a membrana (onde se fixa ao receptor) e recuperação da apoferritina no plasma para transporte de átomos de ferro adicionais. Destino de ferro nos eritroblastos: mitocôndrias para a síntese do heme, ou para os lisossomas (siderossomas) formando ferritina. Controlo recíproco da síntese do receptor de transferrina, apoferritina e heme (síntese do ácido  $\delta$ -aminolevulínico) pela concentração de ferro intracelular tradução genética (do respectivo RNA). Carências de ferro (na anemia ferropénica); depósito de ferro em excesso (na hemocromatose).

**Captação e reserva de ferro** – Degradação da hemoglobina nas células de SRE; Captação e depósito do ferro da hemoglobina como ferritina. A captação e libertação do ferro da ferritina decorre muito rapidamente. Na captação, o ferro passa de bivalente a trivalente pela actividade de ferroxidase da apoferritina. A mobilização do ferro em depósito envolve a sua

conversão do estado férrico em ferroso (na presença de FMN), até atravessar a membrana celular, após o que é reoxidado em férrico por ferroxidase sérica (I – ceruloplasmina; II, a mais importante), antes de se fixar à transferrina. As células de SRE também regulam a concentração de transferrina (sintetizam apotransferrina e captam/degradam a transferrina circulante).

#### ***Leucocitos – estrutura, metabolismo e funções***

**Caracterização e origem** – Os dois grandes grupos de leucocitos: fagocitos (granulocitos e monocitos-macrófagos) e imunocitos (linfócitos e plasmócitos). Produção medular e cinética de granulocitos e monocitos-macrófagos. Cinética dos neutrófilos (na medula, sangue e tecidos). Mecanismo de fagocitose/pinocitose de partículas estranhas ou elementos celulares não-viáveis (etapas – acumulação no local, ligação, captação, destruição, eliminação). Produção, maturação e cinética (diferenciação, proliferação e destino) dos linfócitos. Órgãos linfáticos primários (medula óssea e timo), secundários (baço, gânglios, tecido linfático subepitelial do tubo digestivo), presença em circulação (sangue e linfa). Funções prioritárias (memória, especificidade) na defesa do organismo. Linfócitos T e B – função e localização. Imunoglobulinas (anticorpos) – tipos e características estruturais.

**Composição e metabolismo** – Granulocitos – conteúdo dos grânulos primários e secundários e actividade específica (designadamente microbicida e antibacteriana). Principais vias metabólicas (glicólise aeróbia, via das fosfopentoses, metabolismo oxidativo, metabolismo lipídico).

**Funções dos neutrófilos** – Quimiotaxia, motilidade e fagocitose. Oponinas e factores quimiotáxicos. Activação, rolamento e adesão dos leucocitos activados às paredes vasculares. Factores de adesão (selectinas) e agregação (integrinas). Estímulo-resposta leucocitária: interacção ligando-receptor, proteína G, metabolismo fosfolipídico (fosfatidilinositois, com formação de  $IP_3$  e 1,2-diacilglicerol). Mobilização e influxo de cálcio, acção do  $Ca^{2+}$  como efector (p.ex. activação da proteína-cinase C e desgranulação). Formação de eicosanoides, a partir de araquidonato, com destaque para os leucotrienos e tromboxano B<sub>2</sub>. Fagocitose e mecanismos bactericidas: mecanismos oxidativos e não-oxidativos. Componentes do sistema oxidativo: radicais livres de oxigénio e sistema NADPH-oxidase.

**Funções dos eosinófilos, basófilos e mastócitos** – Relação com a composição granular. Mediadores eosinófilos (lipídicos, proteicos, citocinas), funções (defesa antiparasitária). Composição dos grânulos dos basófilos e mastócitos (proteoglicanos); contribuição para respostas de hipersensibilidade imediata e tardia. Participação dos mastócitos nas funções de defesa e interacção com granulocitos eosinófilos.

### ***Hemostase e plaquetas***

**Hemostase** – Conceito, componentes (vasos sanguíneos, corpúsculos sanguíneos, proteínas plasmáticas) e fases principais (vasoconstrição, rolhão plaquetário, coágulo, dissolução do coágulo).

**Plaquetas** – Origem medular (megacariopoiese) e cinética. Características estruturais. Constituição plaquetária – zona periférica (glicocálice, membrana, sistema canalicular aberto), zona-sol gel (microtúbulos, microfilamentos, trombostenina, sistema tubular denso), zona dos organitos (corpos densos, grânulos menos densos, e outros). Caracterização bioquímica do glicocálice (tipos e significado funcional das diversas glicoproteínas) e da membrana plasmática. Caracterização bioquímica dos corpos densos e grânulos  $\alpha$ . Significado dos sistemas membranares (canaliculos, túbulos). Estímulos e receptores membranares. Sequência da resposta plaquetária aos estímulos exógenos: adesão, agregação, coesão e efeitos. Formação do rolhão primário (plaquetas e fibrina) e vasoconstrição. Sequência bioquímica da transdução do sinal (estímulo) na activação plaquetária: activação da proteína G e da fosfolipase C, hidrólise do fosfatidilinositol bisfosfato (PIP<sub>2</sub>) em inositol 1,4,3-trifosfato e 1,2-diacilglicerol, e subsequente efeito de 2º mensageiro intracelular (mobilização do Ca<sup>2+</sup> e activação da proteína cinase C) no desencadeamento da activação plaquetária (agregação e desgranulação). Amplificação da resposta plaquetária pelos eicosanoides formados dos fosfolípidos de membrana (activação da fosfolipase A<sub>2</sub>, formação de araquidonato, transformação em PGG<sub>2</sub> e PGH<sub>2</sub>, e formação de tromboxano A<sub>2</sub>). Formação da prostaciclina nas células endoteliais por mecanismo semelhante. Mecanismo de modulação da função plaquetária através da concentração de AMPc (activação da proteína cinase, fosforilação de proteína-receptor, subsequente captação de Ca<sup>2+</sup> intracelular), de que resulta uma plaqueta hipoaderente e hipoadregável.

**Proteínas plasmáticas da coagulação** – Sistemas de proteínas interactivas na hemostase: coagulação, fibrinólise, cininas, complemento e inibidores respectivos. Proteínas da coagulação e sistemas de coagulação (extrínseco e intrínseco) conducente à formação do factor Xa, formação de trombina e formação de fibrina. Componentes gerais dos sistemas da coagulação: serina proteases (por activação de zimogénios – factores II, VII, IX, X, XI, XII), cofactores (factor V, VIII e factor tecidual), superfície estranha ou membrana, íons cálcio. As serina- proteases dependentes da vitamina K (II, VII, IX), têm resíduos de carboxiglutamato para fixarem Ca<sup>2+</sup>. Via comum da coagulação: formação de trombina e de fibrina. A conversão do fibrinogénio em fibrina pela trombina, com remoção dos fibrinopéptidos A e B. Monómeros de fibrina e polímeros; estabilização em rede insolúvel pelo factor XIIIa (ou transglutaminase). Acção múltipla da trombina no processo de coagulação e fibrinólise: agregação plaquetária,

formação de fibrina, activador do factor XIII, redução da própria síntese (ao unir-se à antitrombina III), activador da proteína C. Acção anticoagulante da proteína C: activação pelo complexo trombina-trombomodulina e proteína S, com degradação dos factores V e VIII e activação da fibrinólise. Actividade da antitrombina III como inibidor da trombina, na presença de heparina.

**Proteínas dos sistemas fibrinolítico, cininas, complemento e inibidor** – Sistema fibrinolítico: pro-enzima plasminogénio e conversão na enzima fibrinolítica activa, a plasmina. Efeitos resultantes: lise de fibrina e do plasminogénio em fragmentos peptídicos, degradação de proteínas da coagulação (V, VIII, IX e X) e outras proteínas. Dois sistemas activadores do sistema fibrinolítico: através de tPA e/ou do factor XIIa (que actua através da calicreína). O tPA. Inibição do sistema fibrinolítico (acção da plasmina pela  $\alpha_2$ -antiplasmina e pela  $\alpha_2$ -macroglobulina. O activador do plasminogénio tecidual (tPA) derivado do endotélio é inibido por outros 2 factores PAI-I e PAI-2 (inibidores do activador do plasminogénio). Sistema de complemento: activação da via clássica (activação da fracção C<sub>1</sub> por complexos antigénio-anticorpo) ou da via alternativa (via da propedina, através do C<sub>3</sub>), por Ig, lipopolissacáridos bacterianos, e outras), com formação do C<sub>5</sub> (fase de activação) a que se segue a fase de ataque (com formação de C<sub>8</sub>-C<sub>9</sub>), com lesão celular e opsonização (fagocitose e destruição de agente microbianos opsonizados). Sistema das cininas (por activação do cininogénio pela calicreína) e efeitos associados: fibrinólise, activação do complemento com lise celular, coagulação, vasodilatação, entre outros. Sistemas de inibidores (incluído no texto).

### **Endotélio**

**Circulação e Hemorreologia** – Os vasos sanguíneos (e o coração) como sistema de transporte fechado; o fluxo sanguíneo depende de forças hidrodinâmicas e tem características próprias dos fluídos; noção de fluído. Viscosidade sanguínea e factores hemorreológicos determinantes. Principais mecanismos antitrombogénicos da circulação: manutenção do fluxo sanguíneo, inibição da coagulação, inibição da activação plaquetária, e preservação da integridade morfológica e funcional do endotélio.

**Parede vascular** – Estrutura (interna, média, adventícia) e principais constituintes (revisão). Músculo liso – características estruturais (não estriado; sincício; túbulos T rudimentares; bomba de Ca<sup>2+</sup> pouco activa; presença de receptores diversos no plasmolema) e funcionais (contração iniciada por estímulos nervosos, hormonais, substâncias químicas e farmacológicas diversas), dependência do Ca<sup>2+</sup> no citosol; ciclo contráctil (iniciado após a fosforilação das cadeias leves p da miosina, conseqüente formação de actomiosina e activação de ATPase da miosina) e mecanismos regula-



dores da interacção actina-miosina (indução do relaxamento do músculo liso por fosforilação da miosina-cinase por proteína-cinase dependente do AMPc, ou por inibição da actividade ATPase da acromiosina pelo caldesmon).

**Interacção sangue-parede vascular** – Interacção física e química entre o fluxo sanguíneo e os tecidos perivasculares. Força de cisalhamento do fluxo sanguíneo e sangue-parede vascular. Sensores e moduladores na parede vascular (endoteliais e subendoteliais). O endotélio como órgão endócrino; interface física e funcional entre o sangue e a parede vascular. Características estruturais e bioquímicas do endotélio, com implicações fisiológicas e patológicas. Importância das glicoproteínas de aderência (plaquetárias e da parede vascular) para a formação de agregados plaquetários e trombos localizados. Propriedades do endotélio normal: permeabilidade selectiva, resistência (à pressão e atrito), acção hemostática (antitrombótica). Mecanismos antitrombogénicos do endotélio: modulação da vasomotricidade e do tónus vascular; síntese e secreção de substâncias antiplaquetárias, síntese e secreção e/ou activação de substâncias anticoagulantes. Principais moduladores da vasomotricidade local e sistémica: renina, enzima conversora da angiotensina, peptidases, endotelina (vasoconstritores); adenosina, prostaciclina ( $PGI_2$ ), factor relaxante (EDRF) e factor hiperpolarizante (EDHF), derivados do endotélio (vasodilatadores). Principais substâncias de origem endotelial com acção antiplaquetária:  $PGI_2$ , EDRF, 13-HODE (ácido 13-hidroxi-octadecadienoico), ATP e adenosina. Principais substâncias com acção anticoagulante local: antitrombina III (e outros inibidores da trombina), proteína C, proteína S, trombomodulina e inibidores da via do factor tecidual (TFPI). Mecanismos de síntese e activação do  $PGI_2$  e EDRF/NO. Factores pro-coagulantes com acção a nível da parede: Factor von Willebrand, fibronectina, laminina, trombospondina, fibrinogénio/fibrina, colagénios, factor tecidual, PAI-1, factor activador das plaquetas (PAF) e diversos factores da cascata da coagulação. Factores anticoagulantes ou fibrinolíticos com acção a nível da parede: proteoglicanos, antitrombina III, trombomodulina, proteína S, tPA.

### **55ª e 56ª Aulas – Função Respiratória do Sangue**

**Função Pulmonar e Gases do Sangue** – Sistema respiratório (pulmão, tórax e músculos; sangue e sistema circulatório; sistema nervoso). Pressão parcial de gases e gradientes de pressão nos diversos compartimentos corporais. Tensão superficial e surfactante alveolar. Componentes da respiração (ventilação, difusão, perfusão e controlo nervoso). Equilíbrio ventilação-perfusão.

**Gases do sangue.** Gradiente de  $O_2$  alveolar-arterial. Conteúdo e capacidade de oxigênio do sangue. Normoxemia e hipoxemia: normocapnia, hipocapnia e hiperapnia. Falência respiratória.

**Constituintes sanguíneos** – O sangue como tecido. Plasma e corpúsculos celulares em suspensão.

**Eritrocitos** – Local de formação e precursores imaturos (reticulócitos). Caracterização morfológica e elástica: membrana e conteúdo; relação área superficial/volume: variação com a idade globular (da forma discóide para esferóide). Deformabilidade globular na macrocirculação (por ação de forças hemodinâmicas) e na microcirculação (por adaptação a calibres vasculares mais restritos).

**Sistema de transporte de oxigênio** – Transporte de oxigênio fixado à hemoglobina, (dos pulmões para os tecidos periféricos) com retorno do  $CO_2$  (sob diversas formas). Revisão da importância metabólica do oxigênio (nas reações aeróbias). Principais componentes do sistema de transporte de oxigênio: trocas gasosas pulmonares, sistema cardiovascular, concentração da hemoglobina e afinidade da hemoglobina para o oxigênio. Noção de pressão parcial de oxigênio (e de outros gases no sangue). Gradiente de  $PaO_2$  a nível dos tecidos e  $PvO_2$  resultante. Alternativa ao transporte do sangue na circulação com “sangue artificial”: perfluorocarbonatos, hemoglobina animal ou de recombinação genética.

**Curva de associação e dissociação da oxi-hemoglobina** – Mecanismo e local de fixação de  $O_2$  nas moléculas de hemoglobina; bolsas do heme nas 4 subunidades constituintes de cada tetrâmero; fixação de cada molécula de oxigênio na 6ª posição de coordenação do átomo do ferro (bivalente) orientada para a histidina distal (com ligação do heme à histidina proximal, da 5ª ligação de coordenação). Equilíbrio oxi-hemoglobina e desoxihemoglobina; curva de dissociação da oxi-hemoglobina (por efeito cooperativo positivo entre as 4 subunidades do tetrâmero). Comparação à molécula de mioglobina (constituída apenas por uma cadeia hemoproteica). Estados de conformação da hemoglobina (R, da oxi-hemoglobina, e T da desoxihemoglobina), na dependência de pontes salinas entre as diversas subunidades (designadamente entre  $\alpha_2\beta_1$  e  $\alpha_1\beta_2$ ). O efeito Bohr (ácido e alcalino), como exemplo de mecanismo alostérico particular (a mesma molécula fixa alternadamente  $O_2$  e  $H^+$ ). Determinação e significado da  $P_{50}$  (pressão de oxigênio que satura 50% da hemoglobina com oxigênio). Principais moduladores fisiológicos e bioquímicos da curva de dissociação da oxi-hemoglobina: temperatura,  $H^+$ ,  $CO_2$  e 2,3-bisfosfoglicerato. Síntese do 2,3-BPG (via de Rapoport-Luebering), e fixação a resíduos catiónicos das cadeias  $\beta$ , provocando o aumento da  $P_{50}$  por 2 mecanismos: rotação e afastamento relativo das cadeias  $\beta$ , com a dissociação das moléculas de  $O_2$  da  $O_2Hb$ , e por diminuição local do pH

(pelas características químicas do 2,3-BPG). Fixação do  $\text{CO}_2$  a resíduos das 4 subunidades, com formação de carbamino-hemoglobina, e dissociação do  $\text{O}_2$ . Outras formas de transporte do  $\text{CO}_2$  da periferia para os pulmões: em solução no plasma e sob a forma de  $\text{HCO}_3^-$ . Trocas gasosas a nível dos tecidos e pulmões; mecanismos e importância da anidrase carbónica eritrocitária.

**Oxigenação tecidual** – Controlo metabólico da microcirculação. Sistema de oxigenação em cone truncado. Definição de hipoxia, anoxia e disoxia. Definição e causas (pulmonares e extrapulmonares) da hipoxemia. Causas e significado da isquémia. Mecanismos de adaptação à hipoxia por regulação local (recrutamento de novos capilares) ou variação global ou parcial dos principais componentes do sistema de transporte de oxigénio.

### **57ª Aula – Bioquímica do rim, água, compartimentos corporais, líquidos orgânicos e equilíbrio hidro – electrolítico**

#### ***1 – Rim***

##### **Função e metabolismo renal**

Principais funções do rim: (excreção de produtos inúteis, manutenção do volume e da composição do líquido extracelular, síntese de hormonas); circulação renal (25% do débito cardíaco) e glomerular; função dos glomerulos (filtração) e dos nefrónios renais. Barreira hemato-tubular (endotélio, membrana basal, podócitos). Filtração e reabsorção: filtração glomerular, transporte e reabsorção de água e electrólitos ao longo do nefrónio: gradiente da osmolaridade cortico-medular e intratubular. Metabolismo específico e funções endócrinas: hormonas sintetizadas no rim, como órgão endócrino: calcitriol e eritropoietina. Outras funções metabólicas renais relevantes do rim (controlo do equilíbrio ácido-base e gliconeogénese). Locais de acção tubular das hormonas vasopressina e aldosterona.

#### ***2 – Água e compartimentos corporais***

**Água.** Constituição, estrutura e estados físicos. Soluções e dispersões aquosas. Ionização da água (ião hidrónio e ião hidroxilo). Presença no meio celular (como substância inorgânica, a par de gases dissolvidos, sais e iões) e espaços (intra e extracelulares). Distribuição corporal: água total e balanço hídrico (variação com o peso, idade, conteúdo lipídico, ingestão, eliminação e metabolismo).

**Compartimentos líquidos** – Compartimentos intracelulares e extracelulares (plasma, interstício/linfa, tecidos densos e líquidos transcelulares). Volémia total (5 L ou  $\pm 80$  mL/Kg peso corporal), volume plasmático (2,5-3,0 L). Composição dos compartimentos corporais, composição

electrolítica em equivalentes químicos (mEq/L), e valores da osmolalidade ou osmolaridade dos compartimentos intra e extracelulares, neutralidade eléctrica (equilíbrio entre aniões e catiões) e diferenças com neutralidade ácido-base.

### 3 – *Trocas líquidas entre os compartimentos corporais*

- (a) Trocas plasma-líquido intersticial. Características da rede capilar e trocas por difusão (transcelular ou por poros); diferenças de gradiente entre extremidade arterial e venosa dos capilares. Dependência das pressões: intracapilares (hidrostática), intersticial, oncótica do plasma, oncótica do interstício. Equilíbrio Donnan; importância da albumina para o valor de pressão oncótica do plasma; filtração e reabsorção capilar, drenagem linfática e formação de edemas (por aumento da pressão intracapilar, diminuição da pressão oncótica plasmática, obstrução da drenagem linfática, aumento anormal da permeabilidade capilar).
- (b) Trocas líquidas entre interstício e células. Mecanismos de transporte passivo (simples ou mediado) e mecanismos de transporte activo (ATPase dependente).

### 4 – *Equilíbrio hidro – electrolítico*

Neutralidade, distribuição dos líquidos corporais e acção metabólica. Difusão, pressão osmótica e pressão oncótica. A concentração de  $\text{Na}^+$  corporal como principal determinante do volume do líquido extracelular, e a concentração de  $\text{K}^+$  corporal como determinante do volume líquido intracelular. Osmolalidade e osmolaridade. Adaptação do volume do líquido intracelular em condições hipotónicas e hipertónicas extracelulares. Causas e consequência da desidratação (por défice de água ou sódio) e do excesso hídrico. Homeostasia do sódio e do potássio: hiponatremia, hipernatremia, hipocaliemia, hipercaliemia e respectivos mecanismos de compensação

## 58ª e 59ª Aulas – pH e Equilíbrio ácido – base

**Revisão de conceitos** – Noção de ácido e base. Constante de ionização ou dissociação (K) e pK. Ácidos e bases fortes e fracas. Concentração hidrogeniónica. Lei de acção de massas. Expressão e significado do valor de pH. Equação de Henderson-Hasselbach. Sistemas tampão. Curvas de titulação.

**pH e tampões fisiológicos** – Valores de pH intra e extracelulares. Principais tampões fisiológicos (bicarbonato, fosfato, proteínas). Sistemas tampão bicarbonato/dióxido de carbono; noção do conteúdo total de  $\text{CO}_2$  ( $\text{HCO}_3^-$ )

+  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{CO}_3$ ); equilíbrio das reacções de transformação. Regulação de  $\text{CO}_2$  pela ventilação alveolar, e do  $\text{HCO}_3^-$  pelo mecanismo renal. Sistemas tampão fosfato ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ ). Sistemas tampão de proteínas (da hemoglobina no eritrocito). Importância relativa no controlo da  $[\text{H}^+]$  extra e intracelular. Princípio iso-hídrico.

**Regulação do equilíbrio ácido-base (Seminário)** – Acidose e alcalose; acidemia e alcalemia. Adaptação fisiológica à sobrecarga ácida ou alcalina (acidose ou alcalose metabólicas). Fontes endógenas de ácidos e bases. Adaptação fisiológica à acidose e à alcalose respiratória. Variação de pH intra e extracelular. Regulação da excreção renal de  $\text{H}^+$ : tampão bicarbonato, tampão fosfato, ião amónio; acidificação proximal e distal; reabsorção de bicarbonato (90% proximal) ou secreção de bicarbonato (na alcalose metabólica); produção e excreção de ião amónio, e reciclagem  $\text{NH}_4^+ - \text{NH}_3$  na medula renal. pH urinário. Efeito do pH arterial na ventilação.

## **60ª Aula – Radicais livres, e envelhecimento**

### **Stress oxidativo e consequências bioquímicas**

O oxigénio como agente biológico essencial ou prejudicial ao organismo: o oxigénio no metabolismo aeróbio ou utilizado como substrato de oxidases e mono- ou dioxigenases. A perda de potencial redutor celular como consequência natural das oxidações biológicas. O stress oxidativo como consequência da perda da capacidade redutora celular. Revisão dos constituintes dos átomos, níveis electrónicos, spins e emparelhamento/desemparelhamento de electrões em cada orbital. Radical livre como sinónimo de átomo ou molécula com um ou mais electrões desemparelhados (com carga positiva, negativa ou neutra). Natureza da reactividade de radicais livres. A molécula de oxigénio ( $\text{O}_2$ ) como “di-radical”. Radicais livres de oxigénio: anião superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) e radical hidroxilo ( $\text{OH}^\cdot$ ). O peróxido de hidrogénio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) como forma activa do oxigénio (muito oxidante) sem propriedades de radical livre. Importância do ferro na potenciação dos efeitos dos radicais livres. Diferença entre oxidante e citotóxico ( $\text{O}_2^-$  e  $\text{OH}^\cdot$ ). Oxigénio singleto ( $^1\text{O}_2$ ) ou oxigénio activado: forma reactiva do oxigénio por deslocação de electrão periférico para um orbital mais exterior. Principais sistemas antioxidantes celulares: superóxido dismutase, catalase e peroxidases. Principais sistemas celulares geradores de anião superóxido. O stress oxidativo com a consequência da geração excessiva de radicais livres com acção oxidante nas componentes celulares; lipoperoxidação (lípidos de membrana e lipoproteínas): radical livre lipídico (L), radical peróxido lipídico (LOO $^\cdot$ ) e peróxido lipídico (LOOH); oxidação de aminoácidos e proteínas; alteração ou clivagem das bases do DNA, autoxidação de glícidos, clivagem de proteoglicanos.

**Alterações bioquímicas do envelhecimento**

O envelhecimento é um processo intrínseco ao desenvolvimento humano caracterizado por progressiva dificuldade e incapacidade de responder às solicitações do meio.

As alterações bioquímicas do envelhecimento traduzem-se nos meios intra e extracelular e nos mecanismos membranares que medeiam a comunicação celular.

As propriedades bioquímicas celulares resultantes de alterações na composição e estrutura das biomoléculas repercutem-se na funcionalidade dos tecidos e dos órgãos. A oxidação das proteínas nos resíduos amina (resultantes de sistemas não enzimáticos dependentes ou não de iões metálicos) ou nos grupos tiol pela acção dos produtos derivados da oxidação dos ácidos gordos insaturados conduz a alterações conformacionais com perda de funcionalidade, por exemplo, do tecido conjuntivo e das propriedades contrácteis dos vasos sanguíneos. Os modelos experimentais utilizados desde a década de 90 efectuadas em humanos (as autópsias e as biopsias), em modelo animal e em cultura de células pretendem contribuir para o esclarecimento dos mecanismos subjacentes à vulnerabilidade funcional própria do envelhecimento. Em consequência da generalizada disfuncionalidade dos sistemas orgânicos, alguns marcadores bioquímicos (péptidos de elastina, ácido fólico, vitaminas B<sub>6</sub> e B<sub>12</sub>, pentosidina, elastase, fibronectina), têm sido associados ao envelhecimento. Os estudos prospectivos horizontais desenvolvidos com aplicação de restrição calórica a humanos permitem melhorar o declínio de certas funções verificadas no envelhecimento e confirmar as associações observadas entre aquelas e os parâmetros bioquímicos.

## A aprendizagem de bioquímica por métodos experimentais

### Introdução

É inquestionável a importância potencial da Bioquímica na racionalização e desenvolvimento da Medicina (revisão em 1).

Essa influência tende a resultar não só dos conhecimentos que transmite mas, sobretudo, pelas possibilidades que a metodologia própria da Bioquímica confere no âmbito das modificações do comportamento e aquisição de novas atitudes, que são o objectivo final de todo e qualquer processo de aprendizagem.

No caso específico da educação médica, a Bioquímica ocupa um lugar privilegiado em qualquer dos três principais domínios do processo intelectual. Ademais, o processo indutivo/dedutivo seguido nos estudos bioquímicos – próprio das ciências experimentais – é idêntico ao seguido na prática clínica: ambos se fundamentam no axioma de Claude Bernard (2), que faz depender o conhecimento da comprovação dos factos observados:

«Em todo o conhecimento experimental há três fases: uma observação que se faz, uma comparação que se estabelece, e uma conclusão a que se chega».

Actualmente, porém, há que diferenciar a metodologia experimental própria da Bioquímica dos processos pedagógicos que orientam a sua transmissão escolar; a discrepância existente contribuirá para a escassa relevância atribuída à Bioquímica na formação médica actual. Outra razão importante prende-se com a estratégia global da educação médica que, segundo Eichna (3), estaria a basear-se excessivamente em factos e na acumulação de informações, secundarizando-lhe alguns princípios essenciais (Quadro I).

Ainda que a generalidade dos obstáculos e contrariedades citadas sejam comuns a muitos outros países, alguns deles tornam-se particularmente sentidos entre nós. No que se refere aos alunos, não será demais salientar a deficiente preparação que revelam na área das ciências da natureza, e sobretudo em Química (5, 6). É sensível também a carência de docentes especializados

---

(In: Actas do IV Congresso Nacional de Educação Médica, Lisboa, 9-11 de Janeiro 1987)

**Quadro I – Princípios em que deverá basear-se a educação médica  
(conforme Eichna, LW 1980)**

- 
1. O primeiro objectivo e prioridade da educação médica é o doente.
  2. A Medicina é uma ciência com humanidade.
  3. A aprendizagem é um processo de pensamento e de resolução de problemas que requer tempo.
  4. A educação médica inclui, num conjunto unificado, o ensino pré-universitário, o das faculdades de medicina e o treino clínico pós-graduado.
  5. Aprender Medicina requer um equilíbrio próprio entre o treino prático e o ensino formal de aulas teóricas e seminários.
  6. A educação requer processos de avaliação que afirmem correctamente os progressos e competências.
  7. A educação nas Faculdades de Medicina deve regar-se por padrões de exigência superior.
  8. A profissão médica requer, a todos os níveis (em que se incluem os estudantes de Medicina) uma conduta médica irrepreensível.
- 

**Quadro II – Dificuldades referidas no ensino/aprendizagem  
de Bioquímica em Portugal**

- 
- (a) Por parte dos alunos**
- Preparação (deficiente) nas ciências básicas
  - Quantidade excessiva de matéria a aprender/apoio tutelado ou oportunidade de aprendizagem reduzidas
  - Pouca apreensão dos aspectos dinâmicos e tridimensionais da matéria
  - Livros dispendiosos e publicados em idioma estrangeiro
  - Metodologia da avaliação pouco eficaz ou adequada
- (b) Por parte do docente**
- Carência em docentes preparados para solucionar problemas
  - Carência em docentes especializados (em Bioquímica)
  - Pouca experiência em como ensinar e pensar
- (c) Conjunturais**
- Custos excessivos das práticas laboratoriais
  - Exercícios longos e dispendiosos (em biologia molecular)
  - Carência em técnicos treinados para preparação de exercícios laboratoriais
  - Número relativamente elevado de alunos por laboratório e docente
  - Deficiente coordenação do ensino entre as disciplinas
  - Deficiente interacção da teoria com a prática
  - Integração deficiente das ciências básicas, Bioquímica e ensino clínico
  - Dúvidas quanto a relevância (da Bioquímica) na prática médica.
- 

em Bioquímica. Porém, será entre as razões conjunturais, – com destaque para as que se inferem da deficiente articulação pedagógica interdisciplinar – que existem as lacunas mais evidentes e os maiores obstáculos à qualidade que se pretende para o ensino/aprendizagem de Bioquímica no país.

A análise destas insuficiências e sua correcção assumem particular acuidade e importância no âmbito das ciências médicas.

Neste contexto o presente trabalho tem como objectivo apreciar resumidamente a metodologia mais tradicional no ensino de Bioquímica em Medicina e propor algumas soluções que possibilitem a sua aprendizagem eficaz.



O ensino/aprendizagem por metodologia experimental é reivindicado como uma opção indispensável a concretizar em futuro próximo, pelo valor que se afigura ter no progresso da ciência médica.

Em Fevereiro de 1986 decorreu no Porto uma reunião patrocinada pela International Union of Biochemistry (IUB), que teve por tema a «Educação Bioquímica nas Universidades Portuguesas». Participaram nessa importante reunião, moderada por membros destacados da Comissão de Educação da IUB, a generalidade dos coordenadores e outros docentes responsáveis pelo ensino da Bioquímica em Portugal. Além do estado actual e perspectivas próximas, foram definidas as principais dificuldades que se colocam ao ensino/aprendizagem de Bioquímica nas universidades portuguesas (Quadro II).

### A Bioquímica na Estratégia da Formação Médica

É um lugar-comum dizer-se que «ensinar é facilitar a aprendizagem». O ensino rege-se por objectivos que determinam programas e metodologias, uns e outros condicionados pelo grau de preparação e características dos discentes (Fig. 1).

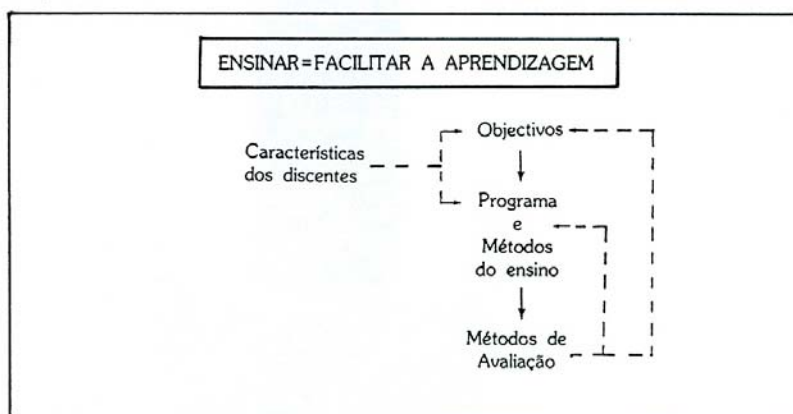


Fig. 1 – Proposta de organograma do processo de ensino/aprendizagem.

A aprendizagem deverá ser entendida como um processo duradouro que, baseando-se no pensamento, tem por finalidade primordial o desenvolvimento de competências e capacidades específicas na resolução de novos problemas e dificuldades (7). O exercício e preparação dessas competências não poderá, no caso da formação médica, afastar-se do método científico, que pressupõe factos ordenados mas também a dúvida e a hipótese em que «cada doente representa um problema a ser resolvido» (3).

Isto não significa que se considere a aprendizagem como um período de “cópia do original”, sendo este representado pelos professores e informações conhecidas. A aprendizagem será, melhor, um período sob catálise, em que se provocam e estimulam estilos próprios de actuação (embora confinados ao método científico), e não apenas a acumulação de informações sobre factos e conceitos (8).

Finalmente, a educação médica, ao incorporar uma componente afectiva/emocional com repercussões no comportamento dos docentes e discentes (9), reunirá condições para que uma Ciência, como a Medicina, seja exercida com humanidade, com vista à resolução dos problemas psicológicos e físicos do doente (3, 7, 9, 10).

A Medicina contemporânea é fundamentalmente dominada e impulsionada por um contínuo afluxo de conhecimento médico disponível. É admissível que o volume de complexidade desse conhecimento dificulte a capacidade de aprendizagem individual.

Com o avanço da ciência fundamental surgem novos equipamentos e tecnologias que, aplicadas à Medicina, são fontes geradoras de novos factos e conceitos, tendentes a uma maior eficácia na prestação de cuidados clínicos e preventivos da doença. Porém, com o advento do progresso científico, é também a Medicina confrontada com a necessidade de proceder a rápida reforma ou adaptação dos sistemas educativos (12). Desta complexa interrelação – progresso médico/adaptação educacional – resulta uma questão da maior relevância pedagógica que angustia professores e alunos, e é causa de frequentes polémicas: – «Como é possível aumentar o conteúdo científico do currículo médico sem que daí resulte a diluição de noções e práticas essenciais, ou a diminuição das qualidades que se exigem dos clínicos?»

Um factor de perturbação adicional resultaria de dificuldades na coordenação entre o tipo de matérias ensinadas nas ciências básicas e os conhecimentos que se consideram indispensáveis no ciclo clínico de formação médica (9).

Tal como na ciência em geral e na Medicina em particular, também em Bioquímica se regista um aumento crescente de informação e de desenvolvimento tecnológico. Será irrealismo pretender-se que o cérebro humano possa abarcar mais que uma ínfima parcela de conhecimentos. E, todavia, parece ser essa a intenção de muitos dos programas curriculares que orientam o actual sistema de formação médica. O excesso de informação acabaria por ser, na opinião de Dornhorst (10) a causa da carência de conhecimentos básicos evidenciados pelos clínicos.

No caso da Bioquímica humana, p. ex., são já conhecidas na perfeição algumas das suas proteínas e muitas outras substâncias com acção hormonal. Todavia, aquelas proteínas serão menos de 1% de todas as proteínas do corpo humano e torna-se difícil prever quantas mais moléculas ou sistemas bioquímicos, hoje desconhecidos, se identificarão nos próximos anos.

Assim, face à imensidade do que é desconhecido, e que se afigura muito e muito superior à já enorme quantidade de informação actualmente disponível, não será utópico prever, como Tosteson (8) que os sistemas de educação médica do próximo século estejam baseados na informação e em novos processos de estudo, pouco ou nada comuns aos actuais.

Na realidade não restam dúvidas de que a complexidade da Medicina de amanhã será substancialmente superior à do presente (8, 11), ainda que essa complexidade se traduza numa crescente e previsível simplificação e integração de conceitos (13).

O aperfeiçoamento do pensamento científico e da capacidade crítica – que confere aptidões para avaliar as possibilidades das novas tecnologias e terapêuticas, assim como para promover a investigação e cuidados clínicos – terá necessariamente de constituir o objectivo fulcral da educação médica.

Entretanto, as informações que têm hipertrofiado o domínio cognitivo do sistema curricular tenderão a ocupar um lugar diferente, por via da informatização dos dados em computadores de fácil acesso. A vantagem parece evidente, por diversas razões: (a) à memorização fugaz da informação biomédica, contrapõe-se a sua conservação em discos de computador, de durabilidade muito superior; (b) em contraste à retenção do excesso de informação, passa a ser favorecida a aprendizagem de conhecimentos fundamentais, em equilíbrio com o desenvolvimento dos domínios afectivos e psico-motor.

A criatividade, p. ex., é tão importante para os futuros investigadores como para os que prosseguem carreiras clínicas. Como acentuava Barondess (12) a «criatividade é pouco entendida, requer imaginação, pensamento independente e desejo de inovação. Fomentá-la num estudante exige estilo (pedagógico) que explicita o valor da criatividade e demonstre a elevada conta em que é tida pela Faculdade».

Szent-Gyorgyi defendia «que mais importante que aprender coisas deve ser viver as coisas» ou «em lugar de se ensinar as leis mais simples da natureza deverá fazer-se com que os nossos alunos as descubram por si, em experiências simples» (13).

Numa perspectiva relativamente diferente, Claude Bernard (2) acentuava que «o verdadeiro método científico confina o espírito sem o sufocar, deixando-o tanto quanto possível entregue a si próprio, respeitando-lhe a criatividade, originalidade e espontaneidade, que são as suas mais preciosas qualidades». Sócrates, muitos séculos antes, havia já considerado que «não há melhor meio para instruir um homem do que provocar nele a reflexão», afinal o que um provérbio chinês também resume sabiamente em simples frase: «Ouço e esqueço, vejo e lembro, faço e compreendo».

Assim, mais importante que a estratificação de conhecimentos – por vezes perpetuados como dogmas – que, por o serem, obstruem o progresso da ciência – será o desenvolvimento de motivações, sentido crítico, capacidade prática e rigor científico. Nesta perspectiva, o conhecimento teórico

será apenas um das componentes que, associados à experiência prática, possibilita a aferição e selecção da melhor das hipóteses (Fig. 2).

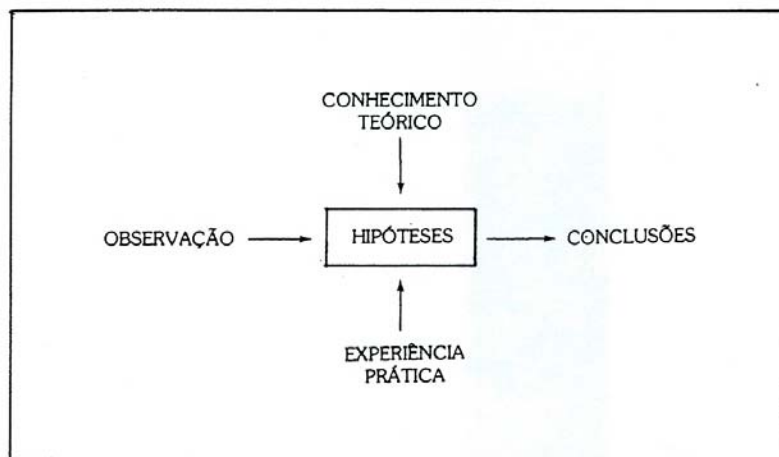


Fig. 2 – Influência relativa da informação teórica e experiência prática na metodologia do conhecimento experimental.

A aprendizagem de Bioquímica poderá representar um excelente método de preparação para uma melhor formação e prática da Medicina. Kornberg (14) defendia que a Bioquímica, ao situar-se numa posição de charneira entre as ciências morfológicas e fisiológicas, e ao interrelacionar a Química com a Genética, constituiria o principal suporte científico da Medicina.

Pelo menos a nível do ciclo clínico (15) e períodos subsequentes de formação pós-graduada (16), não parece já haver dúvidas sobre a utilidade pedagógica e formativa da reaprendizagem teórica e prática de algumas ciências básicas, em que se inclui a Bioquímica.

### Objectivos e Eficácia do Ensino de Bioquímica

A rapidez que caracteriza a acumulação de conhecimentos médicos, e as adaptações que origina no processo de aprendizagem, justificam as medidas que vêm sendo propostas para melhorar a eficácia do ensino.

Além dos primeiros passos que estão a ser dados no campo da informatização da ciência médica, poder-se-á afirmar que os métodos mais popularizados se baseiam na inclusão, ou reforço, de tempo dedicado à resolução de problemas (17, 18), com subsequente redução da componente informativa. Porém, não havendo ainda dados rigorosos que permitam apreciar a eficácia daquela metodologia, não surpreende que sejam adiantadas propostas conservadoras sugerindo a melhoria de métodos de ensino mais convencionais; por exemplo, na opinião de Politser, a eficácia do ensino médico beneficiaria da simplificação dos textos de ensino pela inclusão de critérios de probabilidade.

Entretanto numa importante reunião patrocinada pela Comissão de Educação da União Internacional de Bioquímica – «*Strategies of Biochemical Education*» – que teve lugar em Perth (Austrália), em Agosto de 1982, ficou assente que a qualidade e eficácia da educação bioquímica eram generalizadamente insatisfatórias. Em parte, essas deficiências derivariam da escassa preparação pedagógica em Bioquímica, sem que os educadores profissionais fossem capazes, por sua vez, de resolver os problemas pedagógicos da Bioquímica.

Foi também opinião final de que a maioria dos problemas relativos ao ensino de Bioquímica seria partilhada por outras disciplinas; as diferenças existentes resultariam de particularidades das instituições, sistemas educativos, condições económicas e/ou outras circunstâncias (20).

Uma das consequências mais evidentes de tal estado de coisas seria a dificuldade, ou relutância, em concretizar objectivos educacionais precisos, com a inevitável inoperacionalidade do sistema de ensino. A definição dos objectivos de Bioquímica apresenta-se, portanto, como um passo fundamental no aumento do rendimento do sistema de ensino/aprendizagem. Não há razões para que os objectivos globais da educação bioquímica difiram de praticamente qualquer outra área científica, e que se resumem na aquisição da informação, experiência e competências específicas (21).

Em Medicina, o ensino de Bioquímica apresenta problemas equivalentes aos das restantes disciplinas do curso, pelo que as medidas visando a eficácia da sua aprendizagem serão, também semelhantes. Todavia, subsistem algumas diferenças de objectivos e metodologias que, de certa forma, explicam as peculiaridades do sistema de ensino/aprendizagem a promover naquela disciplina.

O principal obstáculo com que se debate o ensino de Bioquímica em Medicina – e que está na origem do frequente desagrado manifestado por médicos e estudantes do ciclo clínico – será o da relevância e utilidade futura da matéria no estudo clínico, investigação e atitudes terapêuticas (22). A pertinência com que se põe o problema de «relevância» justifica a atenção pedagógica suplementar que tem sido investida na melhoria da educação bioquímica em Medicina (21), em que se incluem livros de texto especialmente preparados com essa finalidade (23), seminários para análise do tema (4, 20) e amplos inquéritos a comunidade universitária (24). Todavia, as soluções encontradas continuam a não satisfazer integralmente.

Embora os responsáveis directos pelo ensino não sejam os melhores juízes sobre a importância relativa daquilo que ensinam, existe algum consenso sobre as principais dificuldades sentidas no ensino/aprendizagem de Bioquímica em Medicina. Aparentemente, as principais causas de «menor relevância» atribuída à Bioquímica seriam a imprecisão, ou indefinição, dos objectivos educacionais e, em segundo lugar, o recurso exaustivo a métodos convencionais de ensino que se revelam inadequados.

Os estudantes que optam pelo Curso de Medicina têm por objectivo prioritário a aquisição de capacidades essenciais a prática clínica. Por sua vez o objectivo principal dos docentes de Bioquímica consistirá em facilitar a aquisição de conhecimentos fundamentais da disciplina, a par de capacidades apropriadas ao estudo e compreensão de outras disciplinas e da formação médica em geral.

Tendo em conta a opinião dos destinatários recentes (estudantes do ciclo clínico ou médicos) e a experiência dos docentes de Bioquímica, afigura-se indispensável definir alguns princípios educacionais comuns (visando a melhoria do sistema pedagógico intrínseco e, por isso, o aumento da relevância da educação bioquímica na formação médica). Em primeiro lugar, a educação bioquímica deverá corresponder aos objectos globais da Faculdade, isto é, preparar futuros clínicos, assegurar-lhes formação continuada, e como bem acentua Kornberg (14), promover o avanço do conhecimento médico. Por outras palavras, o conhecimento bioquímico deverá ser um meio para se atingir um fim (que é a formação médica) e não a finalidade de si próprio (22). É um facto reconhecido que os estudantes reagem muito mais favoravelmente ao ensino da Bioquímica que dê ênfase a aspectos próprios do curso escolhido, do que a um conjunto indiferenciado de matérias de que não se vislumbra aplicação aparente (20, 23). Isto não impede, porém que os estudantes de medicina e médicos continuem a atribuir pouco ou nenhum interesse à parte significativa da matéria de bioquímica, como foi referido recentemente (22). Segundo, a informação Bioquímica deverá ser apenas o instrumento de trabalho – e não a essência – de um processo pedagógico específico, que visa desenvolver o espírito científico e competências específicas. A concretização deste objectivo beneficiará, na opinião de Campbell (25), da coexistência de uma «atmosfera de investigação». Finalmente – e por via do argumento anterior – o ensino deverá ser promovido por docentes que investiguem, de preferência a docentes sem experiência ou vivência experimental.

A concretização dos princípios expostos debate-se inevitavelmente com a questão, polémica, da metodologia mais apropriada.

### **Vantagens e Limitações dos Actuais Métodos Educacionais**

O processo convencional de ensino de Bioquímica em uso na generalidade das universidades inclui aulas teóricas, práticas e, por vezes, seminários. Todavia, nem este sistema satisfaz (21, 22) nem existe uniformidade no peso relativo de cada uma daquelas acções pedagógicas, horários ou matéria ensinada (23, 24).

As aulas teóricas continuam a ser o processo do ensino mais frequentemente utilizado em Bioquímica. Poderiam ser a fonte de informação seleccionada e interrelacionada sob aspectos fulcrais da matéria. Na generalidade,

contudo, são transformadas num processo de transmissão passiva e indiferenciada de informação geral que, habitualmente, segue o desenvolvimento e sequência dos capítulos do compêndio aconselhado. Daqui resulta uma crescente desconfiança sobre a utilidade deste método pedagógico no ensino de Bioquímica (20), em contraste com o verificado em outras disciplinas do curso médico (26).

As limitações na eficácia pedagógica das aulas teóricas parecem assentar em três factores principais, eventualmente passíveis de correcção: atenção e motivações dos estudantes, tipo e extensão da informação transmitida, perícia educacional do docente. Em conjunto, estas variáveis influenciam claramente a retenção e memorização dos conhecimentos.

Habitualmente, são reservados no horário escolar períodos de uma hora para cada aula teórica. Por vezes, desses 60 minutos são descontados 10 a 15 minutos para compensar as entradas e saídas, ou atrasos eventuais. O período restante é utilizado exaustiva e ininterruptamente para transmitir informação, com a lamentação habitual de que o tempo não chega para acabar a matéria programada ou a passagem dos diapositivos.

Pressupõe-se que os alunos ouvem e aprendem tudo (ou a maior parte) do que é transmitido em cada uma dessas aulas teóricas, ignorando estudos que demonstram que os limites máximos da atenção as aulas (teóricas) oscila entre 15 a 30 minutos (27) Não é novidade também a proposta adiantada por Schuwartz (28) de estabelecer intervalos a meio da aula, para renovar a atenção da audiência. Assim, o processo de ensino nas aulas teóricas começa por falhar precisamente por ignorância dos mecanismos psicológicos de aprendizagem.

No que se refere ao tema de cada aula são habituais outros desacertos, tais como pormenorização excessiva dos assuntos, uso de matéria irrelevante e/ou demasiada, insuficiente ou deficiente utilização dos audiovisuais (22, 25). São também ignorados alguns princípios básicos da transmissão de informação, que aconselham a circunscrever cada aula a uma ideia central e a prever um limite de tempo para a completa leitura e compreensão de cada diapositivo ou imagem projectada (29).

Finalmente, há um forte consenso internacional sobre a necessidade de melhorar a capacidade do ensino dos docentes das Faculdades de Medicina, por um lado justificada pela crescente complexidade da ciência e sub-especialização médica inerente, por outro devido a desmotivação para o estudo evidenciada pelos alunos de medicina (30); o mesmo parece suceder no ensino de Bioquímica, dando origem a repetidos alertas e considerações sobre o assunto (31-34). Assim, a perícia em ensinar, baseada na experiência e intuição, poderá não ser suficiente para garantir um bom ensino. Algumas das desmotivações dos alunos e ineficácia do ensino teórico serão certamente atribuíveis à deficiente preparação pedagógica dos docentes; a competência para ensinar não existe institucionalizada nem é um atributo genético com que se nasça, aprende-se.

Obviamente, as limitações referidas acabam por se projectar não apenas no ensino por aulas teóricas mas em todo o processo educativo. As finalidades das aulas teóricas ultrapassam assim o simples processo de transmissão de informação (mais ou menos exaustiva ou pertinente) – a reter e recordar posteriormente pelos alunos – para se caracterizarem num quadro de interacções dinâmicas que auxiliam a aprendizagem, modificam comportamentos e estimulam motivações (32, 34).

Efectivamente, as principais dificuldades sentidas pelos estudantes de Bioquímica (médica ou outra) derivam da incapacidade de compreender o conjunto de matéria sem que antes tenham entendido os conceitos físico-químicos básicos, características estruturais e interrelação metabólica dos principais compostos orgânicos (25). O docente desempenhará, neste contexto, a função de orientador, facilitando a aprendizagem do «como» e «porquê» cada uma das partes se integram no todo da matéria. As aulas teóricas poderão bem ser o campo de acção desta actividade pedagógica (33). Ou, como recomendavam Verner e Dickinson, «as aulas teóricas devem ser utilizadas quando não se pode transferir informação por outros meios».

As dificuldades e reservas que se põem à eficiência do ensino teórico são parcialmente extensivas à restante estratégia educacional utilizada. De facto, não haverá dúvidas de que os «bioquímicos são amadores no campo da educação» (36).

Talvez a mais importante consequência dessa limitada eficiência pedagógica seja a reduzida retenção de conhecimentos sobre a matéria aprendida que os estudantes de Bioquímica continuam a evidenciar (37-39), independentemente do rigor ou limitações próprias dos processos utilizados na avaliação e complexidade intrínseca da matéria. Neste aspecto realce-se a diferença entre a relativa durabilidade dos conhecimentos em diversas ciências básicas (anatomia, fisiologia, microbiologia, farmacologia e psicologia) e a omissão dos conteúdos de bioquímica, verificada dois anos após a sua aprendizagem por diversos grupos de estudante de Medicina (38).

Entre todas as causas possíveis de tão evidente discrepância parece sobressair a da «relevância» da matéria para a formação médica, menos exuberante a da Bioquímica do que a das restantes ciências básicas.

Essa relativa irrelevância, sentida pelos estudantes (22), seria reforçada pelo excesso de informação esforçadamente transmitida (40) mas, pelo que se verifica, não ouvida, não entendida ou, quase de todo, esquecida. Os temas da Bioquímica mais rapidamente esquecidos são os menos utilizados no decurso da formação médica (37). Mas, acima de tudo, parece necessário introduzir modificações no processo do ensino da disciplina no contexto da educação médica.

A inclusão de aulas prática no sistema educacional de Bioquímica é actualmente reservada a situações particulares, quando o desenvolvimento das capacidades e competências laboratoriais constitui um dos objectivos do



curso. Essa destreza prática é um dos requisitos exigidos aos bioquímicos de carreira não-médica. Em contrapartida, a prática laboratorial não será essencial, nem útil, para a formação médica, pelo menos no período de pré-graduação (20, 21, 23, 25). O argumento de que o futuro médico precisa de saber os testes laboratoriais a que vai recorrer para o diagnóstico, e conhecer os equipamentos que debitam os resultados, tem cada vez menor justificação: aos rápidos e enormes progressos tecnológicos, há que acrescentar a diferenciação profissional crescente que não se satisfaz com amadorismos.

Há opiniões que consideram difícil que estudantes sem experiência de laboratório de Química Orgânica possam executar com sucesso as experiências bioquímicas mais representativas (41).

Assim, as aulas práticas cujo programa consiste na execução de análises simples «por receita» (uma aula, uma análise) para um eventual apoio e melhor compreensão do ensino teórico de Bioquímica em Medicina, revelam-se actividades frustrantes, inúteis e, por vezes mesmo, pedagogicamente contraproducentes (20, 22, 42).

O recurso ao ensino em pequenos grupos, sobre temas pré-determinados e conhecidos dos estudantes (seminários), é outro dos métodos convencionais do ensino de Bioquímica, inclusive em Medicina. Porém, em contraste com a crescente desconfiança sobre a utilidade das aulas práticas e reservas que se põem ao ensino teórico intensivo, o ensino em seminários está a ganhar popularidade e aceitação, pela eficácia pedagógica que evidencia (20, 21). Entre outras vantagens, possibilita um contacto estreito e grande integração docente-discente, com reflexos de inegável valor nos domínios cognitivo e afectivo da disciplina. Essencialmente, o estudante, é motivado para aprender por si e a participar activamente, sabendo que os seus erros e deficiências poderão ser corrigidos no momento.

### **Outras Estratégias**

Por natureza, a Bioquímica é uma ciência laboratorial (42). Contudo, o valor pedagógico do ensino laboratorial de Bioquímica, quando integrada em cursos de pré-graduação e, sobretudo, em Medicina, é objecto de opiniões divergentes (20). Face a este paradoxo, parece justificável questionar a eficácia do ensino de Bioquímica quando decorre em moldes quase exclusivamente teóricos.

Outra questão fulcral a ter em conta, qualquer que seja o sistema de ensino escolhido, reporta-se à extensão e profundidade da matéria.

O que está em causa, afinal, é a definição exacta dos objectivos educacionais, de forma a possibilitar a escolha da melhor estratégia de ensino/aprendizagem.

Relativamente à informação que constitui a matéria de ensino destacam-se duas posições extremas, já referidas no presente trabalho: por um lado, a

informação pode ser o objectivo dominante do curso, por outro, a informação é essencialmente um meio de trabalho.

Há razões para admitir esta última como a opção mais adequada à aprendizagem de Bioquímica (20, 21), o que levanta um outro problema, que é definir a informação nuclear, ou útil, para os objectivos educacionais pretendidos. Não há soluções ideais ou uniformes e, tal como sucede com a metodologia de ensino, também a escolha da matéria evidencia grandes diferenças de Universidade para Universidade (23, 24). Todavia, tendo em conta que os conhecimentos de Bioquímica que perduram mais são os que as relacionam com os aspectos médicos mais solicitados (37, 38) afigura-se conveniente dar preferência ao tipo de informação «útil» como material de trabalho pedagógico. Esta posição não exclui um ponto de vista mais radical em que não há pré-limitação da matéria; esta será seleccionada pelos estudantes à medida que a necessitem para desenvolvimento das suas capacidades (20).

As situações mencionadas convergem num ponto comum, que é a indispensabilidade da informação exacta no processo de ensino/aprendizagem. Todavia, poderá essa informação ser aprendida e induzir novas atitudes e competências apenas através do ensino teórico?

A experiência disponível na literatura manifesta alguma relutância em apoiar esta possibilidade, embora a eficácia do ensino laboratorial também não satisfaça, nos moldes em que tem sido praticado (20, 23).

A secularização dos métodos convencionais de ensino, com virtual eliminação das aulas laboratoriais e, nalguns casos, pela redução da escolaridade em aulas magistrais, tem dado lugar a outros processos pedagógicos, alguns de valor (ainda) discutível.

Assim, a par dos seminários, de utilidade reconhecida, está a ser fomentada em algumas instituições uma variante, que consiste no ensino em pequenos grupos, por vezes multidisciplinares (21). O sistema em vigor na Faculdade de Medicina de Manchester é caracterizado pela delimitação do curso em unidades de ensino, cada uma das quais com poucas aulas teóricas e laboratoriais e predomínio das sessões de resolução de problemas, avaliação, seminários multidisciplinares e, sobretudo, ensino tutelado; metade de escolaridade é reservada ao estudo individual.

Entre outros processos inovadores que assentam especificamente na transmissão e tratamento da informação em bases teóricas, destacam-se as aulas teóricas participadas (que incluem períodos definidos, ou não, para debate), a auto-aprendizagem (com ou sem tutela), as sessões de simulação experimental ou de resolução de problemas (com recurso a experiências Bioquímicas da literatura), as sessões de discussão da literatura científica e o uso exaustivo da informática e audiovisuais (20, 21). Alguns destes exercícios são considerados pedagogicamente mais úteis do que as aulas teóricas e, sobretudo, mais do que as aulas laboratoriais, embora por razões mais subjectivas do que confirmadas. É o que sucede, por exemplo, com as aulas teó-

ricas participadas e a auto-aprendizagem, de que não existe qualquer dado objectivo sobre os resultados finais de aprendizagem, em comparação com grupos controlo. Há apenas, a convicção de que a vivência do ensino será mais participada e, portanto, mais fortemente integrada no processo de educação médica (20, 21, 43).

O mesmo poderá dizer-se do contributo dos audiovisuais e informática. Há regras bem definidas sobre a aplicação dos audiovisuais no ensino (29) e que, contudo, continuam a ser ignoradas frequentemente. O método parece ter vantagens para um envolvimento mais activo do estudante na aprendizagem. A actual insuficiência de filmes e programas de vídeo relativo a formação bioquímica não possibilita o seu uso generalizado nem conclusões irrefutáveis. Entretanto, considera-se essencial que aprendizagem por filmes ou sequências de diapositivos decorra sob orientação directa do docente e conhecimento prévio do assunto (21).

O ensino através de computador revela idênticas limitações de programas. Tem a vantagem de ser mais dinâmico, permitindo simulações de experiências, corrigindo respostas e possibilitando repetições limitadas, no horário e local desejados pelo estudante (20, 21).

Entretanto, o ensino fundamentado na resolução dos problemas bioquímicos reúne maior consenso e aceitação (20, 42). Admite-se que a educação bioquímica segue um método científico idêntico ao da formação médica; em ambas as situações é requerida a capacidade de resolver problemas concretos. A forma ideal de ensinar o estudante a pensar de maneira precisa, analítica, lógica e dedutiva seria através da Bioquímica, através da resolução de problemas concretos sob tutela orientadora e constante. O conteúdo do curso é considerado essencial apenas para o desenvolvimento da capacidade em solucionar problemas e não o objectivo fundamental do ensino. Adicionalmente, propõe-se que a aquisição daquelas capacidades possa beneficiar com a inclusão problemas clínicos, isto é, em que determinada situação clínica serve de base para apresentar um princípio bioquímico (43, 44). Pela nossa experiência, esta opção merece algumas reservas, por incorrer facilmente no risco de se estar a divulgar mal a Medicina e a ensinar mal a Bioquímica.

Outra forma original de ensino «simulado» é o dos exercícios laboratoriais sem laboratório (o que os anglo-saxónicos designam por «dry labs») (20). Neste método, os alunos (em grupos reduzidos e sob orientação de um docente com experiência de investigação) têm de delinear protocolos experimentais para resolução de determinados problemas bioquímicos. As respostas dão origem a perguntas específicas ou resultados hipotéticos apresentados sucessivamente pelo docente, com o objectivo de uma solução final.

A utilização da literatura científica é outro recurso popularizado na educação bioquímica, já referido a propósito dos seminários. Neste caso os estudantes têm acesso aos artigos científicos na íntegra (que lhe são fornecidos ou eles próprios seleccionam) para preparação da sua apresentação (21, 44,

45). Outro processo consiste em facultar ao estudante apenas uma parte do artigo original (p. ex., apenas os resultados a métodos ou todo, excepto o sumário), sendo-lhe solicitado para escrever o que falta, propor a continuação do trabalho, responder a perguntas específicas, entre outras variantes da iniciativa do docente (21, 46-48). Há algumas limitações, contudo, ao uso indiscriminado da literatura científica. Assim, os artigos terão de ser cuidadosamente aferidos no contexto da matéria nuclear do curso, a metodologia deve ser do conhecimento prévio do estudante e por fim, a discussão deve ser concluída no período previsto para a aula. Todavia, a principal objecção consistirá na impossibilidade de promover aquele sistema de aprendizagem senão numa fase tardia da educação bioquímica, quando estiver garantida a indispensável preparação teórica dos participantes.

Algumas destas metodologias poderão confirmar-se auxiliares preciosos na educação bioquímica em Medicina. Todavia, é nossa opinião (4), e de outros autores (42, 49, 51), de que aquele ensinamento não pode ser dissociado do método científico, que pressupõe a vertente experimental e, portanto, configura a filosofia do conhecimento bioquímico. Este princípio aplicar-se-ia aos períodos de pré-graduação e pós-graduação médicas.

O sucesso do sistema depende de três factores essenciais: desejo manifesto de aprender, competência teórico-prática do docente e, fundamentalmente, caracterização experimental da actividade laboratorial. As principais razões de divergência entre os apoiantes da inclusão do ensino laboratorial na educação bioquímica incidem exactamente na última daquelas condições.

De acordo com Vella (42), há duas maneiras de conceber os exercícios laboratoriais, um em que o objectivo primordial visa a aquisição de destreza prática, enquanto na outra se pretende essencialmente ensinar a pensar em termos científicos. Na concretização desta segunda perspectiva (em que o estudante é estimulado a descobrir as coisas por si próprio) assume especial relevo o equilíbrio entre as vertentes conceptual e metodológica que originam o conhecimento.

Para esse equilíbrio, Vella propõe que as experiências laboratoriais incluam a preparação prévia do estudante, o seu envolvimento activo na compreensão e execução do trabalho e a interacção pós-laboratorial, com vista à obtenção de conclusões e discussão de possibilidades.

A receptividade que vem sendo registada às iniciativas pedagógicas que incluem o desenvolvimento dos projectos laboratoriais como parte importante do ensino/aprendizagem de Bioquímica afigura-se animadora (49-52).

Estamos certos que, através de métodos experimentais adaptados aos condicionalismos do ensino em Portugal, a Bioquímica contribuirá com muito mais eficácia e terá muito maior relevância na formação médica pré e pós-graduada.

### Resumo

A educação bioquímica é indispensável à formação médica contemporânea. Todavia, os processos de ensino/aprendizagem em uso são ineficazes e, por vezes mesmo contraproducentes, para os fins em vista. O ensino baseado em aulas teóricas vem sendo substituído progressivamente por formas pedagógicas mais dinâmicas, com destaque para aulas em pequenos grupos, tipo seminário, e aulas laboratoriais. A polémica também abrange a metodologia das aulas laboratoriais, justificando os diversos tipos propostos.

Considerando que a matéria de Bioquímica deve ser mais um instrumento de trabalho do que o objectivo essencial do sistema de ensino, considerando ainda a natureza experimental da ciência, entende-se que a sua aprendizagem em Medicina não pode ser dissociada da experimentação, que possibilita a aquisição de capacidades e competências com base no método científico.

### Referências

1. Martins e Silva J – Relevância da Bioquímica no curriculum medico. Ensaio sobre a educação médica e a sua dependência da investigação e ciências experimentais. *J Soc Ciên Med Lisboa* 148: 81-94, 1984.
2. Bernard C – «Précis de Medicine Experimentale», Presse Universitaires de France, Paris, 1947.
3. Eichna LW – Medical-School Education, 1975-1979. A Student's perspective. *N Engl J Med.* 303: 727-734, 1980.
4. Hofmann E, Rowbauts W, Vella F, Wood EJ, Carvalho Guerra F, Hipólito Reis C, Moradas Ferreira P – Biochemical Education in Portuguese Universities – Report on a Workshop Held at the University of Oporto, 8-10 February 1986, sponsored by JUB. *Biochem Educ* 14: 165-168, 1986.
5. Martins e Silva J, Santos C, Marques S, Moreira C – Preparação real dos alunos candidatos ao curso de Medicina na área da Química. *J Soc Ciên Med Lisboa*, 148: 28-32, 1984.
6. Saldanha C, Pinto Y, Nunes M., Martins e Silva J – Apreciação de uma avaliação diagnóstica precedente ao ensino de Bioquímica em 1986/1987. IV Congresso Nacional de Educação Médica, Lisboa, 9-11 Janeiro 1987 (publicado neste volume).
7. Tosteson DC – Learning in Medicine. *N Engl J Med* 301: 690-694, 1979.
8. Tosteson DC – Alan Gregg Memorial Lecture: Science, Medicine and Education. *J Med Educ* 56: 8-15, 1981.
9. Pinto Correia J – Revisão do curriculum escolar no ciclo clínico. *Acta Med Port* 6: 125-127, 1985.
10. Dornhorst AC – Information overload: why medical education needs a shake-up. *Lancet* ii: 513-514, 1891.

11. Russel IJ, Hendricson WD, Herbert RJ – Effects of lecture information density on medical student achievement. *J Med Educ* 59: 881-889, 1984.
12. Barondess JA – The future physican: realistic expectation and curricular need. *J Med Educ* 56: 381-389, 1981.
13. Szent-Gyorgyi A – Teaching and the expanding knowledge. *Science* 146: 1278-1279, 1964.
14. Kornberb A – Does a doctor need to know biochemistry? *TIBS* 3: 73-74, 1978.
15. Patel VL, Dauphinee WD – Return to basic sciences after clinical experience in undergraduate medical training. *Med Educ* 18: 244-248, 1984.
16. Lehotay DC, Dugas M, Levey GS – A program for training physician-in-vestigators. *J Med Educ* 57: 602-608, 1982.
17. Kassirer J – Teaching clinical medicine by iterative hypothesis testing: let's preach what we practice. *N Engl J Med* 309: 921-923, 1982.
18. Babbot D, Halter WD – Clinical problem-solving skills of internists trained in the problem oriented system; *J Med Educ* 58: 947-953, 1983.
19. Politser PE – Medical education for a changing future: recent concepts for revising texts. *Med Educ* 21: 320-333, 1987.
20. Mehler AH – Strategies of biochemical education. *Biochem Educ* 11: 95-118, 1983.
21. Wood EJ – Innovation in biochemical education. *Biochem. Educ.* 12: 123-126, 1984.
22. Chandrasekharan N – Biochemistry in the medical curriculum. *Biochem Educ* 16: 16-19, 1988.
23. Vella F – Unity and diversity on biochemical education. *Biochem Educ* 12: 120-123, 1984.
24. Bryce CFA – The biochemistry curriculum: an international survey. *Biochem Educ* 15: 122-129, 1987.
25. Cambell PN – Biochemical education around the world. *Biochem Educ* 8: 7-10, 1980.
26. Nnodim JO – Learning human anatomy: does learning occur during a lecture? *Med. Educ.* 22: 88-93, 1988.
27. Stuart J, Rutherford R.J.D. – Medical student concentration during lectures. *Lancet* ii: 514-516, 1978.
28. Schwartz PL – Teaching methods down under. *Biochem Educ* 8: 16-20, 1980.
29. Hargreaves MK – The use of visual aids in public lectures. *Biochem Educ* 11: 24-39, 1983.
30. Editorial: Teaching medical teachers to teach. *Med Educ* 21: 457, 1987.
31. Vella F – Editorial: To improve teaching. *Biochem Educ* 13: 49, 1985.
32. Vella F – Editorial: Some principles of teaching: *Biochem Educ* 15: 165, 1987.
33. Farnsworth WE – Editorial: The whys and wherefores of lectures. *Biochem Educ* 15: 105, 1987.
34. Vella F – Editorial: What should biochemical teachers know? *Biochem Educ* 16: 57, 1988.
35. Verner C, Dickinson F – The lecture: an analysis and review of research. *Adult Educ* 17: 85-100, 1967.

36. Mehler AH – Editorial: Post-graduate education. *Biochem Educ* 15: 57, 1987.
37. Rico E, Galindo J, Marset P – Remembering biochemistry: a study of the patterns of loss of biochemical knowledge in medical student. *Biochem Educ* 9: 100-102, 1980.
38. Saffran M, Kennedy WB, Kelly PR Jr – Use of National Board Examinations to estimate retention of biochemistry. *Biochem Educ* 9: 97-99, 1981.
39. Galindo JD, Rico E, Marset P – Remembering biochemistry 11: Personal and social factors related to academic performance in biochemistry. *Biochem Educ* 11: 30-34, 1983.
40. Vella F – Editorial: results of information overload. *Biochem Educ* 10: 81, 1982.
41. Boyer RF – A proposal for biochemistry laboratory. *Biochem Educ* 14: 12-14, 1986.
42. Vella F – The two aspects of laboratory exercises. *Biochem Educ* 15: 25-27, 1987.
43. Morley EGD, Blumberg P – Learning medical school biochemistry through self direct case oriented study. *Biochem Educ* 15: 184-188, 1987.
44. Kanfer JN – Biochemical and training of medical students in problem solving. *Biochem Educ* 11: 137-139, 1983.
45. Lata GF – Seminar experience in an undergraduate biochemistry curriculum. *Biochem Educ* 13: 108-110, 1985.
46. Jones THD – The use of biochemical literature at the undergraduate level. *Biochem Educ* 10: 27-28, 1982.
47. Scott GK – An exercise in literature surveying for biochemistry student. *Biochem Educ* 11: 29-30, 1983.
48. Cohn P – Small-group discussion of articles and research papers among third-year biochemistry student. *Biochem Educ* 15: 79-82, 1987.
49. Suelter CH – Introduction to research: an undergraduate biochemistry laboratory. *Biochem Educ* 10: 18-21, 1982.
50. Thompson MP – A research project format for biochemistry practical classes for medical student – its philosophy and design. *Biochem Educ* 13: 114-116, 1985.
51. Fraser CG, Browning M.C.K., Walsh D.B., Paterson C.R. – A structured BMSc Course in clinical biochemistry intercalated in a medical curriculum. *Biochem Educ* 14: 125-127, 1986.
52. Boyer RF – Independent research projects in an undergraduate biochemistry laboratory. *Biochem Educ* 15: 18-20, 1987.





**Curso de iniciação à investigação científica  
– uma experiência pedagógica no âmbito da bioquímica**

*C. Saldanha, J. Martins e Silva*

**Sumário**

O presente trabalho descreve a experiência pedagógica associada à realização de um Curso de Iniciação à Investigação Científica, realizado em 1994 pelo Instituto de Bioquímica da Faculdade de Medicina de Lisboa (FML). Os objectivos educacionais, o conteúdo científico e as metodologias utilizadas no ensino-aprendizagem foram baseados em acções educacionais similares às organizadas, anteriormente, para alunos voluntários que haviam obtido aproveitamento na disciplina de Bioquímica.

**Introdução**

No ano lectivo de 1993-1994 foi reiniciada a componente prática do ensino na disciplina de Bioquímica da Faculdade de Medicina de Lisboa (FML). Como consequência, deixou de ser pertinente prosseguir com a realização anual de uma iniciativa que começou em 1982, intercalada nas férias de Verão, designada por “Curso Livre Experimental de Bioquímica para Estudantes de Medicina”. Entre 1982 e 1991, inclusive, foram realizados oito Cursos, caracterizados por inscrição facultativa dos discentes, entre os que concluíram a disciplina de Bioquímica no mesmo ano com aproveitamento superior a 14 valores. Dos inscritos eram seleccionados os participantes (*número clausus*: máximo de 12 estudantes). Com estes Cursos pretendia-se criar espaços educacionais de aplicação prática de parte dos conhecimentos teóricos aprendidos pelos alunos em Bioquímica.

Embora de temática diferente, todos os Cursos incluíram quatro fases, nomeadamente: a primeira abrangia a aprendizagem das metodologias neces-

sárias; a segunda incluía a realização dos trabalhos práticos do problema em questão; na terceira procedia-se à interpretação e discussão dos resultados obtidos; a quarta e última fase previa a elaboração do relatório final. Pretendeu-se estimular nos discentes a aquisição de hábitos e atitudes adequadas ao trabalho laboratorial e desenvolvimento do espírito crítico e interpretativo.

Estes cursos, geradores de pensamento científico e sentido crítico nos discentes participantes, contribuíram ainda para a aquisição de experiência pedagógica pelos docentes, com vista à aplicação posterior no ensino prático da disciplina de Bioquímica. O despertar de motivações conseguido em alguns discentes esteve na origem de colaborações duradouras integrados nas equipas de investigação e, ainda, como membros do corpo docente da disciplina de Bioquímica.

A organização e realização deste Curso de Iniciação à Investigação Científica (CIIC), tendo por base a experiência obtida nos “Cursos Livres” mencionados, representa um alargamento das perspectivas dos discentes participantes para aspectos globais a nível de planeamento e execução de investigação científica.

### **Material e métodos**

**Caracterização da população** – O CLIC decorreu de 3 a 14 de Outubro de 1994 no Instituto de Bioquímica (IB) da Faculdade de Medicina de Lisboa.

Foram admitidos à frequência do Curso 24 discentes de ambos os sexos inscritos no 1<sup>o</sup> (n=5) e 2<sup>o</sup> (n=19) anos do Curso de Medicina da FML. Aos discentes voluntários era exigida como condição prévia a frequência com aprovação de Bioquímica (alunos do 1<sup>o</sup> ano) ou de um Curso Experimental do tipo acima descrito (alunos do 2<sup>o</sup> ano).

A escolaridade do CIIC repartiu-se por 16 horas teóricas e 48 teórico-práticas, num total de 3,24 créditos<sup>1</sup>. O ensino-aprendizagem centrada no aluno e tutelado foi baseado na resolução de problemas, no planeamento e no desenvolvimento de projectos de investigação científica pré-definidos.

A experiência laboratorial prévia adquirida pela população de discentes focalizava-se no domínio dos estudos “in vitro”, constituindo esta realidade factor influente na concepção e na estruturação do 1<sup>o</sup> CIIC. Este caracterizou-se pela multidisciplinaridade de conteúdos, pela explanação de domínios de investigação, e pela aplicação do método de aprendizagem activa.

**Objectivos educacionais** – Pretendeu-se com o CIIC (i) contribuir para o conhecimento da existência das diferentes áreas da Investigação Científica da Ciência Médica, (ii) alertar para a necessidade de escolher e otimizar estratégias mais adequadas à resolução do problema, (iii) desenvolver as capacidades

---

<sup>1</sup> Decreto-lei, nº 173/80 de 29 de Maio

de pesquisa, identificar a natureza do problema, utilizar a informação e analisar os resultados, (iv) provocar o trabalho e a discussão em grupo.

**Objectivos específicos** – O discente, no fim do CIIC deveria estar apto a:

(i) pesquisar informação bibliográfica, (ii) interpretar dados experimentais no âmbito dos seus conhecimentos, (iii) apreciar criticamente um processo experimental, em grupo de trabalho, e (iv) sintetizar resultados e teorias.

**Conteúdo programático** – O conteúdo programático distribuiu-se por acções teóricas e teórico-práticas. A parte teórica incluiu exposições temáticas, a cargo de docentes da FML e de investigadores convidados, seguidas pelo esclarecimento de dúvidas, debate e discussão em plenário. Pretendeu-se com a componente teórica perspectivar os diferentes “nichos” da Investigação Científica nomeadamente: Investigação Fundamental/Investigação Aplicada, Experimentação Animal, Experimentação em Cultura de Células, Estratégia em Investigação, a par dos conceitos fundamentais necessários ao método experimental, tais como Controlo de Qualidade e Análise Estatística.

A componente teórico-prática decorreu com a resolução “parcial” e orientada de um projecto científico atribuído aos discentes, a realizar em grupo. A resolução era considerada “parcial” porque omitia a execução prática para obtenção de resultados; em seu lugar, os dados experimentais foram fornecidos a cada grupo de discentes, com base em trabalhos anteriormente realizados no IB. A escolaridade das sessões teórico-práticas foi preenchida pelo método experimental, nas seguintes fases: pesquisa bibliográfica, organização da literatura, escolha do modelo experimental e das metodologias, análise dos resultados fornecidos, comparação e discussão dos mesmos.

**Metodologia de aprendizagem e avaliação** – O CIIC foi estruturado de modo a facilitar ao discente a possibilidade de aprendizagem (por resolução de problemas em equipas de trabalho conjunto, orientadas por docentes). Na sessão de abertura e apresentação do curso foi distribuída a cada participante uma pasta com os sumários das aulas teóricas, *curriculum vitae* dos docentes, e o tema de um projecto de investigação com as respectivas palavras-chave. Por exemplo: tema – Hipertensão Arterial – caracterização dos perfis (proteico e lipídico) da membrana eritrocitária, e possíveis associações com parâmetros metabólicos e hemorreológicos; palavras-chave – membrana eritrocitária, citoesqueleto, fosfolípidos, agregação eritrocitária, viscosidade plasmática, deformabilidade eritrocitária, hemoglobina, ATPase Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, ATPase Ca<sup>2+</sup>, 2,3 bisfosfoglicerato, lactato, desidrogenase da glicose 6-fosfato. Os outros temas seleccionados foram a Diabetes Mellitus, a Insuficiência Renal e o Transplante Renal, que apresentavam de comum as mesmas palavras-chave. Os discentes iniciaram o trabalho pela pesquisa bibliográfica nas bibliotecas do IB, FML, Instituto Luso-Fármaco e, posteriormente, receberam material de consulta na forma de separatas de artigos científicos.

Cada grupo de discentes organizou a bibliografia, desenhou o projecto de investigação e discutiu-o com o docente, o que permitiu estabelecer critérios de inclusão e exclusão para a população a estudar, bem como para o material e métodos a aplicar aos parâmetros escolhidos. Conforme foi referido, não houve resolução prática das metodologias estabelecidas, sendo os resultados dos parâmetros seleccionados (de acordo com o tema do projecto) fornecidos pelos docentes.

Os discentes, após tratamento estatístico dos resultados, compararam-nos aos descritos na bibliografia, em debates entre si e com o respectivo docente. Por fim, cada grupo elaborou um relatório que foi objectivo de exposição oral e discussão por todos os participantes (discentes e docentes) do referido curso.

A apresentação oral dos projectos por cada grupo suscitou interesse nos restantes, devido a todos os temas apresentarem em comum as mesmas palavras-chave.

No que respeita à avaliação não houve classificação por nota final. A assiduidade, a participação activa, o entusiasmo e as capacidades demonstradas de integração e trabalho em equipa, de resolução de problemas e de exposição escrita e oral constituíram critérios preferenciais para a avaliação contínua de cada discentes, pelos docentes. Todos os alunos inscritos concluíram com aproveitamento o CIIC, por terem atingido os objectivos específicos pré-definidos.

### **Conclusões**

O Curso de Iniciação à Investigação Científica constituiu uma experiência pedagógica conseguida empenhadamente pelos participantes. Todos os docentes e discentes foram capazes de responder ao estímulo contido nos objectivos e na filosofia de ensino/aprendizagem intrínseca ao Curso.

O regime de voluntariado em que participaram discentes e docentes gerou entusiasmo, participação activa e constante por todos, e bom aproveitamento por parte dos discentes.

Os temas dos projectos de investigação analisados pelos discentes do CIIC tinham em comum o mesmo conjunto de parâmetros, o que induziu e estimulou o interesse de todos os participantes na discussão dos trabalhos.

**Docentes participantes** – Fernando Vale (Instituto de Farmacologia); Alexandre Mendonça (Serviço de Neurologia); Pereira da Silva, (Cadeira de Biologia Celular); A. Madeira Lopes (Instituto Gulbenkian de Ciência); J. Carvalho de Sousa (Serviço de Med. 1 e Semiótica Laboratorial); Laureano Santos (Serviço de Cardiologia); J.P. Guimarães E. Branco, T. Quintão, J.P. Janeiro e L. Sargento (todos do Instituto de Bioquímica).

**Agradecimentos** – Agradecem-se as seguintes colaborações: Biblioteca Central da Faculdade de Medicina na pessoa da Dr<sup>a</sup>. Emilia Clamote; Biblioteca do Instituto Luso Fármaco, na pessoa da Senhora D. Maria do Rosário Leitão, e à Sr<sup>a</sup>. D<sup>a</sup> Emília Alves, do Instituto de Bioquímica, que dactilografou o texto.

**Uma experiência de ensino-aprendizagem baseado  
em problemas com alunos de medicina  
sem aproveitamento anterior em bioquímica fisiológica\***

*S. Hilário, J. Lima, J. Martins e Silva*

**Resumo**

**Fundamento e objectivos:** Na aprendizagem baseada no problema (PBL) os discentes estudam e debatem cada situação em pequenos grupos, de trabalho, sob orientação de um tutor. Este método de ensino-aprendizagem foi utilizado na disciplina de Bioquímica Fisiológica da Faculdade de Medicina de Lisboa (FML), no ano lectivo de 1998/99, em alunos que possuíam frequência anterior mas não haviam obtido aproveitamento respectivo. Na globalidade, pretendia-se desenvolver a capacidade de resolução de problemas, de crítica e de auto-aprendizagem, estimulando a pesquisa bibliográfica e o trabalho em grupo, tendo como finalidade última estimular uma aprendizagem mais motivada, conducente à aquisição de conhecimentos.

**Material e Métodos:** No ano lectivo de 1998/99 estavam inscritos em Bioquímica Fisiológica 91 discentes que possuíam frequência mas ainda não haviam conseguido aproveitamento escolar na disciplina. Daquele total, 48 alunos decidiram frequentar as aulas teórico-práticas com PBL (subgrupo de Experiência Pedagógica, EP)), tendo os restantes 43 optado por não participarem em qualquer tipo de aulas teórico-práticas (subgrupo de Não Participantes, NP), apresentando-se com preparação própria a exame final. Os alunos do subgrupo EP estavam abrangidos pelo sistema de avaliação continuada disponibilizada a todos os estudantes inscritos pela primeira vez na disciplina; como tal realizaram todas as provas de avaliação previstas para estes alunos. A metodologia de aprendizagem preparada para o subgrupo EP processou-se em conjuntos de 4 ou 5 alunos que trabalhavam com um tutor

---

\* Comunicação apresentada em *Annual Conference of the Association for Medical Education in Europe*, Beer Sheva, Israel, 27-30/Agosto/2000

em aulas de duas horas semanais. O programa foi organizado, durante vinte semanas, em sequências modulares de pares de aulas relacionadas entre si, sendo cada problema introduzido numa primeira aula com discussão inerente, para ser solucionado na segunda das aulas, após estudo individual. O conteúdo programático incluiu a generalidade da matéria de Bioquímica Fisiológica apresentada sob a forma de uma história clínica de uma criança (diabético insulino-dependente) no contexto da sua família. Os resultados obtidos para ambos os subgrupos foram sujeitos a análise estatística, sendo aplicado o teste *T-Student* ( $\alpha=0.05$ ) para comparar variáveis independentes e o teste Qui-Quadrado para variáveis dependentes.

**Resultados:** Dos 48 discentes do Grupo EP, 4 frequentaram menos de 13 aulas teórico-práticas (reprovaram todos), 23 frequentaram entre 13 a 16 aulas, e 21 assistiram a número igual ou superior a 17 aulas. A classificação média (numa escala de 0 a 20 valores) destes dois últimos subgrupos foi, respectivamente, de 12,67 e 14,64 ( $p = 0,002$ ); excluindo os 4 discentes que frequentaram menos de 13 aulas, a taxa de aproveitamento dos restantes do subgrupo EP (54%) foi superior à do subgrupo NP (12%). Atendendo ao ano de curso que os discentes do subgrupo EP, é de destacar que todos os alunos inscritos no respectivo 4º ano obtiveram aprovação na disciplina. Comparando as notas obtidas por alunos repetentes nos últimos 3 anos lectivos (i) não existiriam diferenças significativas entre os alunos inscritos nos anos lectivos de 1996/97 (11,76 valores) e 1997/98 (11,35); (ii) a classificação média do subgrupo EP (13,53 valores) foi superior quer à de 1996/97 ( $p=0,004$ ) quer à de 1997/98 ( $p=0,009$ ) e (iii) a média do subgrupo NP (12,6 valores) não evidenciou diferenças estatisticamente significativas nem com o subgrupo EP nem com os repetentes dos outros anos.

**Conclusões:** O subgrupo EP obteve melhores resultados pedagógicos relativamente ao subgrupo NP e aos repetentes de anos lectivos anteriores. O processo PBL constituiu uma experiência pedagógica positiva, que fomentou a aquisição de conhecimentos a serem melhor memorizados, evocados e aplicados na prática clínica.

### Introdução

A aprendizagem baseada em problemas, genericamente designada pelo acrónimo PBL (“*Problem Based Learning*”), foi introduzida e desenvolvida originariamente na Escola das Ciências da Saúde da Universidade de McMaster, no Canadá, durante os anos 60<sup>(1,2)</sup>. Desde então o modelo PBL recebeu crescente interesse e utilização por elevado número de escolas médicas, a nível mundial, sendo adoptado como única ou principal estratégia educacional<sup>(3)</sup> ou, ainda incorporado parcialmente no currículo tradicional<sup>(4,5)</sup>.

Aquele método inovador – entre outros que foram desenvolvidos em McMaster<sup>(2)</sup> e que, a partir da 2ª metade do século XX, granjearam aquela

instituição notável reputação internacional e liderança pedagógica em prol de uma nova educação médica – parte do pressuposto de que o ensino clássico e magistral, baseado em aulas teóricas sobre assuntos a memorizar e sem aplicação imediata, é demasiado passivo; como tal, não suscita entusiasmo desejável pelos assuntos nem desenvolve capacidades de raciocínio aplicado às futuras circunstâncias da vida clínica <sup>(1,2)</sup>. Em alternativa, foi desenvolvida uma metodologia mais activa, que requer a participação constante do aluno na aprendizagem dos assuntos gerais e específicos através de problemas e casos exemplares, a serem debatidos em pequenos grupos de alunos na presença de um tutor, o qual deverá actuar mais como moderador e orientador e não como docente tradicional. Para substituição do sistema clássico, em que o docente ensina factos aos alunos, na aprendizagem por PBL estes trabalham nas aulas aprendendo através de problemas apresentados pelos tutores <sup>(6)</sup>, através dos quais seleccionam caminhos, sequências e matérias de estudo (o quê, quando como e onde) de modo a atingirem os objectivos pré-definidos e a resolução do problema em estudo <sup>(1,7)</sup>.

Na aprendizagem baseada em problemas, os casos preparados ou seleccionados previamente pelos docentes são agrupados em módulos temáticos; cada problema deve ser analisado segundo os princípios ou mecanismos englobados no programa e funcionar como estímulo educacional, quer sob a forma de incógnita quer com pistas para o estudo <sup>(8)</sup>. Os estudantes devem analisar e debater os aspectos teóricos e práticos do caso e formular hipóteses e explicações detalhadas para os problemas formulados. O sucesso pedagógico será eventualmente proporcional ao período de tempo em que o tutor não intervém, deixando que os alunos atinjam por si a solução dos problemas <sup>(3)</sup>. É essencial que os alunos tenham conhecimentos, anteriormente apreendidos, como base de informação a ser reactivada para a primeira abordagem do novo problema, o que também torna mais fácil a incorporação de informações adicionais <sup>(3,9)</sup>. A aprendizagem melhora quando é organizada com problemas e contexto realistas, por si uma motivação adicional para a análise crítica da situação, para o debate construtivo, formulação de hipóteses e procura de soluções colectivas; porém, o trabalho de grupo não dispensa as estratégias individuais de reflexão e resolução, em estudo autónomo, a exigir grande aplicação, profundidade e continuidade num vasto conjunto de assuntos relacionados <sup>(10)</sup>. Deste modo, faz parte do processo educacional que o discente retire elementos cognitivos e opiniões do grupo a que pertence e, ao mesmo tempo contribua para o grupo com as informações e conhecimentos por si adquiridos e reflexões geradas. De facto, o trabalho de grupo é reconhecidamente deficiente quando na ausência de novos pensamentos, reflexões e deliberações <sup>(11)</sup>.

A informação poderá ser adquirida pelos alunos segundo um processo hipotético – dedutivo, em que a pesquisa e análise interpretativa dos assuntos conduzem à geração de múltiplas hipóteses e também à capacidade de esco-

lha de uma solução racional para cada problema <sup>(9,10)</sup>. Apesar desta explicação ter recebido bom acolhimento inicial, constata-se que o raciocínio hipotético – dedutivo não costuma ser utilizado pelos médicos experientes, que automaticamente utilizam o “reconhecimento de padrões”, baseado na sua experiência profissional, para solucionar situações diversas <sup>(7,12,13)</sup>.

Por outro lado, os problemas específicos requerem estratégias mais especializadas. Deste modo a variabilidade dos problemas que se colocam na vida real, em particular na clínica, requer flexibilidade nos recursos e processos utilizados na formação médica, em que se incluem actuações diferentes dos tutores <sup>(14,15)</sup>. Aquela diversidade explica que o processo e conteúdos do PBL possam diferir não só entre escolas médicas próximas e ou diferentes disciplinas da mesma instituição <sup>(3,16,17)</sup>. As variantes formativas e as metodologias complementares (p. ex., dependentes de condicionalismos logísticos, em recursos humanos, natureza dos problemas escolhidos, objectivos pedagógicos e nível de desenvolvimento académico dos alunos) podem, entre outras, incidir na forma de apresentação das deliberações de cada grupo de trabalho (escrita ou oral), pesquisa de literatura, tipo e quantidade de bibliografia fornecida aos alunos. Por conseguinte, havendo problemas específicos que requerem estratégias de resolução próprias, conclui-se que não existe um método universal para os solucionar <sup>(18)</sup>. Eventualmente, a solução está mais na organização e compreensão do conhecimento do que nas estratégias para a resolução de problemas <sup>(19)</sup>. Por conseguinte, além do método hipotético – dedutivo, têm sido recomendadas pesquisas orientadas em redes de conhecimento <sup>(20)</sup>, que se afiguram mais de acordo com o referido raciocínio clínico por padrões reconhecidos, com base na experiência profissional <sup>(7,12,13)</sup>. Em resumo, o tipo de abordagem cognitiva poderá ser adaptado à complexidade da preparação do aluno ou à complexidade do problema, recorrendo ao processo hipotético dedutivo em situações mais complexas, reservando-se o raciocínio rápido fundamentado quando há experiência no assunto ou, ainda, a uma estratégia intermédia de pesquisa orientada

Foi demonstrado por meta-análise que a aprendizagem das ciências básicas em PBL é mais eficaz quando decorre em contexto clínico <sup>(2,21)</sup>. A inovação na aprendizagem das ciências básicas da Medicina através do PBL possibilita uma educação mais individualizada e independente, mais centrada nos discentes; além de estimular a integração das disciplinas e preparar, desde a fase pré-graduada, hábitos de formação de longa duração a par com a futura actividade profissional <sup>(1)</sup>. A utilização do PBL nas disciplinas de Bioquímica do *curriculum* de Medicina resultou da necessidade em encurtar a escolaridade da formação teórica (claramente pouco estimulante e eficaz) e, também, por se entender indispensável aumentar a pertinência teórica e prática do programa, privilegiando contextos clínicos representativos <sup>(22,23)</sup>. Não se pretende que os alunos aprendam extemporaneamente a fazer diagnósticos clínicos das situações fornecidas para estudo nem conheçam os mecanismos



patológicos subjacentes; pretende-se somente que apreendam a textura bioquímica dos problemas quando lhes é requerida a interpretação possível dos sinais e complicações mais paradigmático<sup>(24,25)</sup>.

De acordo com o exposto foi decidido promover o presente trabalho no ano lectivo de 1998/99, na disciplina de Bioquímica Fisiológica da Faculdade de Medicina de Lisboa (FML). É apresentada uma experiência pedagógica com um novo método de ensino – aprendizagem, aplicado a alunos que possuíam frequência anterior mas não haviam obtido aproveitamento escolar naquela disciplina. Alguns dos objectivos educacionais, conteúdo crítico e metodologias utilizadas basearam-se em acções educacionais similares, organizadas anteriormente noutras escolas internacionais, ainda que sua aplicação a alunos repetentes e da forma utilizada sejam, tanto quanto se sabe, originais.

### Material e métodos

Nos três últimos anos lectivos (1996/97, 1997/98 e 1998/99) o número de alunos que frequentou a disciplina de Bioquímica Fisiológica da FML foi superior a 240. Cerca de 70% desses discentes estavam inscritos em Medicina, sendo os restantes 30% do curso de Medicina Dentária, não se registando diferenças estatisticamente significativas desta distribuição entre os três anos (Fig. 1).

Relativamente ao ano lectivo 1998/99, em que incide o presente trabalho, dos 278 discentes inscritos na disciplina de Bioquímica Fisiológica, 191 estavam em Medicina e 87 em Medicina Dentária (Fig.1). Nesse ano, 91 dos discentes inscritos em Bioquímica Fisiológica, e independentemente do curso frequentado, possuíam já frequência legal à disciplina em anos anteriores embora não tivessem obtido aproveitamento.

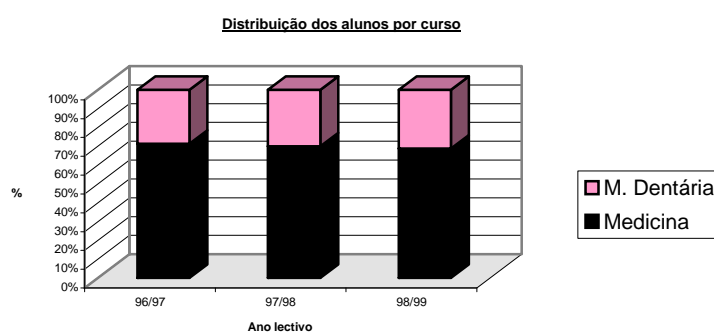


Figura 1 – Distribuição percentual dos alunos de Medicina e Medicina Dentária inscritos nos anos lectivos 1996 a 1999 na disciplina de Bioquímica Fisiológica.

A população feminina tem vindo a predominar em qualquer um dos cursos, constituindo aproximadamente 60% dos discentes em cada um dos anos lectivos abordados (Fig. 2), sem diferenças relativas de valor estatístico.

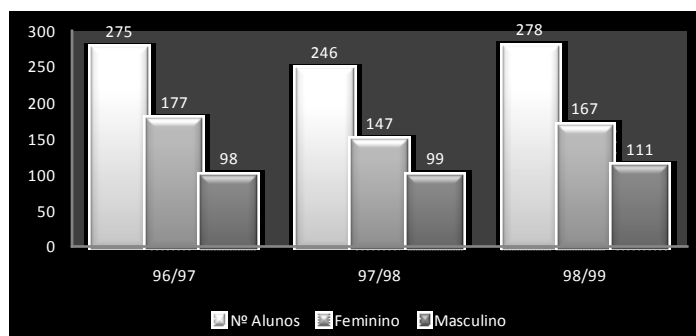


Figura 2 – Total de alunos e distribuição por sexo, nos anos lectivos de 1996 a 1999.

Têm sido internacionalmente reconhecidas algumas dificuldades na aprendizagem da matéria de Bioquímica por alunos de cursos médicos<sup>(24,25)</sup>. Em parte, essas dificuldades poderão resultar de uma insuficiente preparação prévia em Química, como foi constatado pelo nosso grupo em estudos diagnósticos anteriores<sup>(26-30)</sup>. A situação agrava-se, por razões diversas, para os alunos repetentes, em particular para aqueles que, por via de insucesso em anos sucessivos e com base no regime escolar vigente, estão autorizados a acumular disciplinas básicas em atraso com as do ciclo clínico<sup>(31)</sup>. Uma dos problemas mais referido pelos alunos naquelas circunstâncias é o da incompatibilidade de horários do programa mais avançado com o de anos anteriores em que se incluem as disciplinas atrasadas.

Atendendo aqueles argumentos, e por estarem inscritos em 1998/99 bastantes alunos repetentes na disciplina de Bioquímica Fisiológica, foi decidido organizar uma experiência pedagógica, criando um tipo diferente de aula teórico-prática a realizar em horários acessíveis e flexíveis, especialmente para alunos que tivessem frequência mas não aproveitamento há menos de dois anos.

Dos 91 alunos repetentes inscritos nesse ano lectivo, 48 decidiram frequentar as aulas teórico-práticas baseadas na resolução de problemas, as quais decorreram de 27 de Outubro de 1998 a 11 de Maio de 1999. Os restantes 43 optaram, *a priori*, pela realização do exame final.

Para uma melhor abordagem metodológica foram definidos dois grupos de discentes naquelas condições escolares:

- (a) Subgrupo participante na experiência pedagógica (subgrupo EP), constituído pelos 48 alunos que decidiram frequentar aulas teórico-práticas baseadas na resolução de problemas;
- (b) Subgrupo não participante (subgrupo NP), constituído por 43 alunos que optaram pelo ensino tradicional ou por não frequentar qualquer tipo de ensino-aprendizagem disponibilizado pela disciplina.

O subgrupo EP era constituído por 48 alunos (Fig. 3) de ambos os sexos (29 do feminino, 19 do masculino), com idades entre os 21 e 53 anos (média etária de 27,75 anos). Os alunos foram distribuídos por duas turmas com horários de frequência das 15-17h e das 17-19h, com escolaridade de duas horas semanais, durante vinte semanas.

### **Distribuição por sexos ( subgrupo EP)**

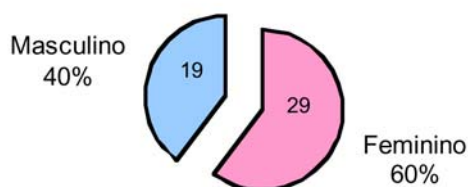


Figura 3 – Distribuição, atendendo ao sexo, dos alunos que frequentaram aulas de Experiência Pedagógica (EP).

Aproximadamente 75% (36) dos discentes pertenciam ao curso de Medicina e os restantes (12) frequentavam Medicina Dentária. As duas turmas de aulas teórico-práticas baseadas em problemas eram constituídas por alunos de ambos os cursos (Fig. 4).

### **Distribuição por Cursos (subgrupo EP)**

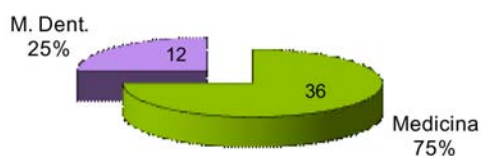


Figura 4 – Distribuição dos alunos do subgrupo EP, segundo o curso que frequentavam.

Dezasseis dos alunos do subgrupo EP estavam inscritos pela primeira vez em Bioquímica Fisiológica no ano de 1995/96, ou anteriormente, enquanto 11 o haviam feito em 1996/97 e os restantes 22 no ano de 1997/98. A Tabela 1 representa a distribuição dos alunos do subgrupo NP segundo o ano lectivo em que realizaram a primeira inscrição em Bioquímica Fisiológica (não foi possível confirmar o ano de inscrição de um dos alunos).

**Tabela 1: – Distribuição dos discentes atendendo ao ano lectivo da primeira inscrição em Bioquímica Fisiológica.**  
(EP: subgrupo que frequentou as aulas de Experiência Pedagógica;  
NP: subgrupo de alunos não participante)

Ano de inscrição	Repetentes EP	Repetentes NP
1995/96	16	20
1996/97	11	5
1997/98	20	12
Desconhecida	1	6

Atendendo ao exposto, é compreensível que a maioria dos alunos estivesse inscrita em anos diferentes, embora frequentassem a disciplina de Bioquímica Fisiológica em atraso, incluída no programa do 2º ano de ambos os cursos. A maior parte dos alunos frequentava o 3º ano (24) enquanto no 2º e 4º ano estavam inscritos, respectivamente, 16 e 5 alunos. Não foi possível esclarecer o ano de curso frequentado por 3 dos discentes (Fig. 5).

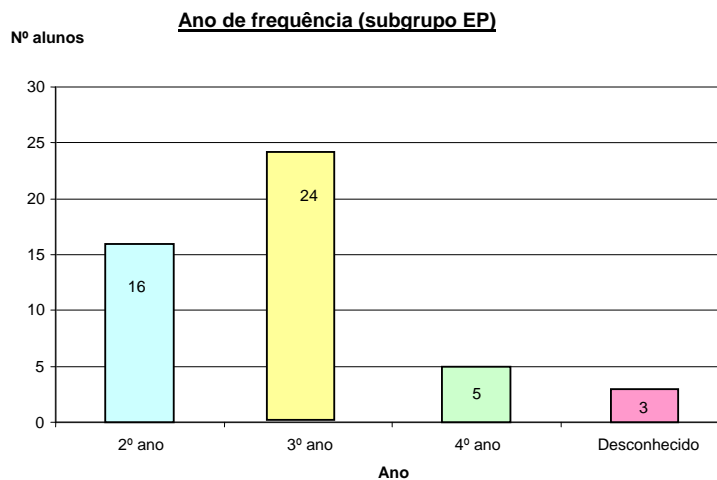


Figura 5 – Distribuição dos alunos que frequentaram aulas teórico-práticas, segundo o ano de frequência.

No lote de 43 alunos que não assistiu a qualquer tipo de aulas (subgrupo NP), e ao invés do anterior, era maior a percentagem de alunos (58%) do que alunas (42%) (Fig. 6).

***Distribuição por sexos (Subgrupo NP)***

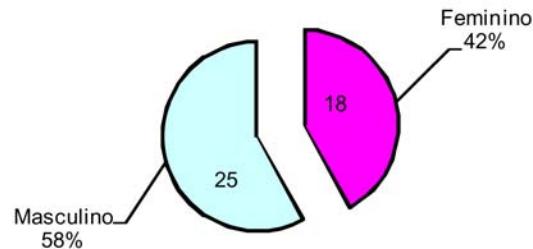


Figura 6 – Distribuições, atendendo ao sexo, dos alunos que não frequentaram aulas teórico-práticas.

Independentemente do sexo, 70% dos 43 discentes do subgrupo NP frequentavam Medicina (Fig. 7), constatando-se proporção semelhante no subgrupo EP.

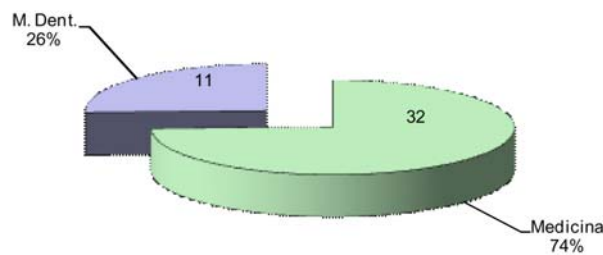


Figura 7 – Distribuição dos alunos que não participaram no PBL (NP), segundo o curso frequentado.

A educação é, de um modo geral, um processo em que a informação, embora relembada, nem sempre fica bem compreendida. A compreensão requer, usualmente, processamento da informação colhida, assim como a sua aplicação prática. Não haverá dúvidas de que os cursos melhor sucedidos são os que incluem a integração teórica e prática dos assuntos <sup>(8)</sup>.

O método de ensino – aprendizagem aplicado ao grupo EP partilha esta linha de pensamento, tendo como objectivos principais a (a) integração dos

conhecimentos; (b) desenvolvimento da técnica de comunicação, (c) trabalho em equipa; (d) pensamento crítico; (e) tomada de decisões e raciocínio diagnóstico; (f) estimulação do pensamento de reflexão, pesquisa bibliográfica e auto-aprendizagem, bem como a (g) aplicação de conhecimentos na resolução de problemas (Quadro I).

**Quadro I – Objectivos do método de ensino-aprendizagem praticado**

<u>Objectivos</u>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Integrar conhecimentos.</li><li>• Desenvolver:<ul style="list-style-type: none"><li>– Técnica de comunicação;</li><li>– Trabalho em equipa;</li><li>– Pensamento crítico;</li><li>– Tomada de decisões;</li><li>– Raciocínio diagnóstico;</li><li>– Auto-aprendizagem.</li></ul></li><li>• Estimular pensamento de reflexão e pesquisa bibliográfica.</li><li>• Aplicar os conhecimentos na resolução de problemas.</li></ul>

O ensino – aprendizagem centrado na resolução de problemas funcionou com grupos de 4 ou 5 alunos trabalhando com um tutor. Esses grupos constituíam uma unidade de funcionamento desenhada para desenvolver a resolução de problemas e para se adaptar às capacidades de cada um, enquanto estimulando a aprendizagem de Bioquímica Fisiológica. Desta forma seria possível acomodar as necessidades individuais, estilos e conhecimentos prévios de cada discente.

Este processo foi perspectivado segundo um esquema a “dois tempos”, de modo a que o problema fosse introduzido numa primeira aula, com discussão, baseada em conhecimentos prévios para, numa segunda aula, após investigação e estudo individual prévios, ser possível atingir uma solução em grupo (Quadro II).

A bibliografia necessária para todo o processo foi a aconselhada no programa da disciplina para todos os alunos nela inscritos anualmente.

Como anteriormente foi referido, o ensino funcionou com módulos programáticos de duas aulas relacionadas entre si. O conteúdo das aulas procurou abranger a maioria da matéria programada para a disciplina de Bioquímica Fisiológica, sendo apresentada na forma de pequenas histórias clínicas relativas a um hipotético rapaz de 11 anos (designado aleatoriamente por

**Quadro II – Metodologia geral do processo de ensino-aprendizagem praticado.**

<b>1ª AULA</b>
Explicar, ou clarificar, termos e conceitos utilizados na descrição do problema; Definir o (s) problema (s); Analisar o problema; <i>(Usar conhecimentos prévios, tentando dar explicações para o problema)</i> Estruturar as explicações propostas anteriormente; <i>(Dar estrutura ao que foi proposto pelos alunos, colocar hipóteses e produzir um modelo ou uma descrição coerente)</i> Colocar questões sobre dúvidas e formulação de objectivos de aprendizagem; Entregar aos discentes a lista das palavras-chave e dos objectivos de aprendizagem; Correcção da avaliação da semana anterior ( <i>teste ou “trabalho para casa”</i> ).
 <i>(Período inter-aulas: Estudo individualizado com recolha de novas informações. Pesquisa bibliográfica)</i>
<b>2ª AULA</b>
“Colher nova informação”; <i>(Trabalho de casa, individual)</i> Expor os conhecimentos e respostas na aula; <i>(Comunicação inter-alunos, para do que cada um aprendeu e dúvidas que subsistiram; formular respostas para as dúvidas colocadas anteriormente – Trabalho de grupo)</i> Integrar os conhecimentos e confirmar se a informação obtida preenche os objectivos propostos; <i>(Revisão da matéria segundo os objectivos traçados (discussão final do problema com a participação dos vários grupos e resumo do problema analisado e solucionado)</i>  Resposta individual a um pequeno teste, acerca do problema debatido (por vezes o teste não é resolvido na aula e constitui “trabalho para casa”).

“Rui”, que para o caso supostamente afectado por diabetes insulino-dependente), e à da sua imaginada família. O conteúdo dos casos clínicos apresentados nas 20 semanas de escolaridade é esquematizado no Quadro III.

Em geral, o tutor apresentava um caso clínico que consistia numa base de ilustração do princípio bioquímico e que, inicialmente, devia ser interpretado pelos discentes segundo conhecimentos adquiridos em anos anteriores. Para exemplificação inclui-se o conteúdo do problema para a 1ª aula da 6ª semana. (Quadro IV).

De seguida, cada grupo procurava identificar a natureza do problema e os vários factores ou aspectos a ele associados, formulando questões e hipóteses relativas ao caso clínico, a serem posteriormente justificadas. O tutor

**Quadro III – Conteúdos e objectivos de aprendizagem dos casos clínicos apresentados durante as vinte semanas de escolaridade.**

<u>Sequência das aulas e distribuição do programa da disciplina</u>	<u>Conteúdos e palavras-chave dos casos clínicos</u>	<u>Objectivos de aprendizagem</u>
<u>1ª e 2ª Semanas:</u>  <b>Metabolismo geral</b>	<b>Diabetes Mellitus Insulino Dependente (DMID)</b>  (Doença do Rui) #1: Polifagia, poliúria, perda ponderal, polidipsia,	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fermentação e Glicólise;</li> <li>• Glicogenólise;</li> <li>• Gliconeogénese;</li> <li>• Lipólise;</li> <li>• <math>\beta</math>-Oxidação;</li> <li>• Catabolismo proteico.</li> </ul>
<u>3ª e 4ª Semanas:</u>  <b>Metabolismo geral</b>	<b>DMID não controlada</b>  (Doença do Rui) #1: Glicémia+glicosúria/HbA <sub>1c</sub> #2: Organismo controlado	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glicogénese;</li> <li>• Via das fosfopentoses;</li> <li>• Glicosilação não enzimática das proteínas;</li> <li>• Metabolismo de dissacáridos como a maltose, lactose e sacarose;</li> <li>• Metabolismo da frutose e galactose;</li> <li>• Biossíntese de lípidos.</li> </ul>
<u>5ª e 6ª Semanas:</u>  <b>Equilíbrio ácido-base</b>	<b>Cetoacidose num diabético (DMID)</b>  (Doença do Rui) #1: Situação metabólica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cetogénese.</li> <li>• Equação de Henderson-Hasselbach;</li> <li>• Principais tampões fisiológicos;</li> <li>• Acidémia e acidose; alcalémia e alcalose;</li> <li>• Adaptação bioquímica e fisiológica aos principais tipos de acidose e alcalose.</li> </ul>
<u>7ª e 8ª Semanas:</u>  <b>Regulação hormonal da glicémia</b>	<b>Coma hiperosmolar em diabético não insulino dependente (DMNID)</b>  (Tia do Rui) #1: Hiperglicémia #2: Controlo hormonal da glicémia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Intervenção hormonal e particularidades metabólicas de tecidos diferentes;</li> <li>• Sinais autócrinos, parácrinos e endócrinos;</li> <li>• Receptores hormonais;</li> <li>• Principais efeitos metabólicos das hormonas intervenientes na homeostase da glicémia.</li> </ul>
<u>9ª e 10ª Semanas:</u>  <b>Metabolismo das purinas e pirimidinas;</b>  <b>Metabolismo do etanol</b>	<b>Gota</b>  (Avô do Rui) #1: Doença #2: Álcool #3: Ácido Úrico	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Biossíntese e síntese “de novo” dos nucleótidos púricos;</li> <li>• Regulação da síntese e principais derivados;</li> <li>• Catabolismo dos nucleótidos e nucleósidos púricos;</li> </ul>



		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Biossíntese, regulação e catabolismo de nucleótidos pirimídicos;</li> <li>• Metabolismo do etanol.</li> </ul>
<p><i>11ª e 12ª Semanas:</i></p> <p><b>Eixo Hipotalâmico-Hipofisário;</b></p> <p><b>Hormonas tiroideias;</b></p>	<p><b>Tumor da hipófise</b> (Mãe do colega do Rui)</p> <p>#1: <b>Hipoglicémia</b> #2: <b>Amenorreia</b> #3: <b>Valores de LH e FSH</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mecanismos de acção e efeitos metabólicos das hormonas do sistema nervoso central (factores libertadores e inibidores hipotalâmicos);</li> <li>• Hipófise (anterior e posterior);</li> <li>• Hormonas tiroideias.</li> </ul>
<p><i>13ª e 14ª Semanas:</i></p> <p><b>Metabolismo da bilirrubina;</b></p> <p><b>Nutrição, oligoelementos e vitaminas</b></p>	<p><b>Icterícia</b> (Avó do Rui)</p> <p>#1: <b>Icterícia colestática</b> #2: <b>Birrubina directa</b> #3: <b>Prurido</b> #4: <b>Acolia</b> #5: <b>Colúria</b> #6: <b>Equimoses</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Metabolismo da bilirrubina;</li> <li>• Proteínas de fase aguda;</li> <li>• Macronutrientes e micronutrientes;</li> <li>• Absorção, secreção e enzimas de digestão;</li> <li>• Características e acções de alguns oligoelementos;</li> <li>• Características e acções de algumas vitaminas.</li> </ul>
<p><i>15ª e 16ª Semanas:</i></p> <p><b>Catecolaminas e hormonas do córtex suprarrenal</b></p>	<p>Feocromocitoma (Professora do Rui)</p> <p>#1: <b>HTA grave; ansiedade</b> #2: <b>Palpitações; cefaleias; sudorese</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Catecolaminas;</li> <li>• Mineralocorticoides;</li> <li>• Glicocorticoides.</li> </ul>
<p><i>17ª e 18ª Semanas:</i></p> <p><b>Metabolismo do ferro;</b></p> <p><b>Eritrócito</b></p>	<p>Irregularidades Menstruais e Anemia (Irmã do Rui)</p> <p>#1: <b>Astenia; menorragias; palidez</b> #2: <b>Resultados laboratoriais</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Metabolismo do ferro;</li> <li>• Eritropoiese;</li> <li>• Forma, deformabilidade, sobrevivência e funções do eritrócito em circulação.</li> <li>• Membrana eritrocitária.</li> <li>• Grupos sanguíneos.</li> </ul>
<p><i>19ª e 20ª Semanas:</i></p> <p><b>Bioquímica do neutrófilo;</b></p> <p><b>Stress oxidativo</b></p>	<p>Ferida que não cicatriza (Tia do Rui)</p> <p>#1: <b>Doença (DMNID)</b> #2: <b>Defesas imunitárias</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Caracterização, origem, composição e metabolismo dos fagócitos e monócitos;</li> <li>• Função e mecanismo de acção dos neutrófilos, eosinófilos e basófilos;</li> <li>• Produção, maturação, caracterização e funções dos linfócitos;</li> <li>• Metabolismo do glutationo; outros mecanismos anti-oxidantes.</li> </ul>

ajudava os alunos a organizarem as questões ou dúvidas mais pertinentes, que tentariam solucionar após estudarem a matéria referente ao problema. No final da primeira aula de cada módulo os objectivos de aprendizagem eram confrontados com os tópicos e directrizes fornecidas pelo tutor.

**Quadro IV – Exemplo do “guião” para o problema previsto para a 6ª semana  
(1ª aula do respectivo módulo)  
– Cetoacidose e equilíbrio ácido base –**

**CASO CLÍNICO (#1: Situação metabólica)**

O Rui e a irmã foram ao norte passar um fim-de-semana em casa dos tios maternos e quando lá chegam já a mãe tinha telefonado a avisar do esquecimento da insulina em Lisboa.

No dia seguinte, o Rui inicia um quadro de náuseas e vômitos, pelo que os tios recorrem ao Serviço de Urgência. O Rui encontrava-se sonolento, com pouca reacção a estímulos externos e tinha um hálito “a maçãs”.

O exame objectivo revelou extremidades frias, sinais de desidratação, respiração de Kussmaul, taquicardia (115 p.p.m.) e uma T.A. de 95/60 mmHg.

Os exames laboratoriais realizados na urgência revelaram:

Sódio: 130 mEq/L	(135 – 146 mEq/L)
Potássio: 5,8 mEq/L	(3,5 – 5,1 mEq/L)
Bicarbonato: 18 mEq/L	(21 – 30 mEq/L)
Ureia: 30 mg/ dL	(10 – 20 mg/dL)
Creatinina: 1,8 mg/ dL	(< 1,5 mg/ dL)
Glicémia: 450 mg/ dL	(75 – 115 mg/dL)
Gasimetria – pH : 7,05; PCO <sub>2</sub> : 15 mmHg	(pH:7,35 – 7,45;PCO <sub>2</sub> :35 – 45 mHg)

No Quadro V é apresentado o “guião” da 2ª aula do mesmo módulo. Na segunda aula de cada módulo os discentes reflectiam no que tinham aprendido, sendo-lhes requerido que comunicassem e explicassem uns aos outros as suas interpretações sobre o problema em análise e as conclusões a que tinham chegado; deste modo, as questões e hipóteses iniciais poderiam ser redefinidas e, em caso de requererem informações suplementares acerca do problema, pediam esclarecimento ao tutor. A aula terminava após a resolução questões ou eventuais dúvidas e com uma conclusão sobre o problema que fora objecto de estudo durante as duas aulas do respectivo módulo. Os tutores mantiveram a maior atenção na gestão do tempo das intervenções e em assegurar que as conclusões fossem enfatizadas e consolidadas no final de cada módulo. Em ambas as aulas o tutor intervinha para facilitar a aquisição de conteúdos, ajudando os discentes na compreensão da matéria, posicionando-se como interlocutor privilegiado a quem estes poderiam recorrer quando entendessem neces-

sário. Verificou-se que as aulas mais produtivas eram aquelas em que os discentes resolviam o problema com a mínima informação do tutor.

**Quadro V – Guião de uma “segunda aula” leccionada ao grupo EP que incluía teste de avaliação**

**6ª semana Cetoacidose e Equilíbrio Ácido - Base - 2ª aula**

**Objectivos de Aprendizagem**

- Cetogénese.
- Equação de Henderson-Hasselbach.
- Principais tampões fisiológicos.
- Acidémia e acidose; alcalémia e alcalose.

**Avaliação (15 minutos)**

1. Descreva a cetogénese.
2. Quais são as duas vias de maior “consumo” dos cetoácidos em circulação?
3. Considere a seguinte gasimetria arterial e interprete os valores:  
pH: 7,50  
PO<sub>2</sub>: 97  
PCO<sub>2</sub>: 55  
HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>: 30 mEq/L
4. Qual seria a adaptação bioquímica e fisiológica que esperava encontrar na situação anterior?
5. Identifique os mecanismos reguladores do pH .

À medida que o processo de ensino-aprendizagem decorria os alunos eram estimulados a reflectirem sobre a progressão das respectivas capacidades e conhecimentos. Por vezes, notava-se alguma ansiedade pelo facto de nem todos os tópicos para aprendizagem serem necessariamente abrangidos pelos casos clínicos.

No que concerne ao processo avaliativo, a assiduidade, participação, interesse e preparação para solucionar os problemas propostos constituíram os critérios qualitativos fundamentais de avaliação continuada de cada discente. Em datas pré-fixadas foram distribuídas aos alunos de cada grupo algumas questões (relativas à matéria subjacente ao problema apresentado na aula) a serem respondidas até à aula seguinte, as quais tinham por finalidade

ajudar na orientação do estudo individual. Na semana (e aula) seguinte procedia-se à correcção daquelas perguntas ou, em alternativa, os alunos eram solicitados a responder a pequeno teste de avaliação contínua. (Quadro V) cujo resultado contava para a classificação final na disciplina.

Foi realizado, em média, um teste por mês e aferida semanalmente a avaliação qualitativa referente à participação dos alunos em cada aula teórico-prática. Dos 6 testes efectuados consideraram-se os 5 melhores para cálculo da respectiva classificação média, sendo o último de realização obrigatória. Os alunos com aproveitamento positivo em 5 testes foram aceites no exame específico para avaliação contínua; os discentes que não cumpriram requisitos estabelecidos para a avaliação contínua foram encaminhados para exame final, comum aos restantes alunos. A classificação final na disciplina final foi calculada a partir do somatório da pontuação (corrigida) atribuída aos diferentes tipos de provas de avaliação realizadas em cada semestre, a dividir pelo total de factores de ponderação. Os factores de ponderação utilizados foram:

- (a)  $x1$  para a média dos testes e da avaliação subjectiva das teórico-práticas;
- (b)  $x2$  para a prova final.

Relativamente à análise estatística há a referir que os dados foram trabalhados segundo médias e desvio padrão. Para comparação de variáveis independentes utilizou-se o teste *T* Student ( $\alpha= 0,05$ ). O teste Qui-Quadrado foi o teste não paramétrico eleito para comparar variáveis dependentes.

### **Resultados**

Os discentes evidenciaram alguma preocupação inicial quanto aos novos objectivos propostos, sobretudo por ser o primeiro ano em que o método estava a ser aplicado no ensino da disciplina; na realidade, o ensino deixava de estar centrado no professor para ser uma aprendizagem centrada no aluno e em contextos que poderiam ser verídicos: os estudantes do grupo abrangido eram confrontados com uma nova fonte de aprendizagem, baseada em problemas médicos adaptados ou similares a factos reais, a requererem a sua participação activa e onde o estudo pessoal assumia grande relevância.

Nas primeiras aulas tiveram dificuldades em estabelecer prioridades na sua própria aprendizagem e sentiam-se inseguros relativamente à responsabilidade que lhes era pedida em serem os principais oradores, em vez dos docentes, como lhes tinha sido habitual até então. Porém, no final da escolaridade a ansiedade desaparecera e sentiam-se familiarizados com o novo método de ensino-aprendizagem.

Os estudantes estudaram os capítulos dos livros de texto aconselhados e algumas referências bibliográficas, o que lhes possibilitou solucionar os problemas apresentados. Alguns dos discentes aprofundaram os conhecimentos

clínicos um pouco mais do que lhes era pedido. No entanto, as opiniões finais convergiam na mesma ideia: a repetição da disciplina nos moldes utilizados constituiria uma excelente experiência de aprendizagem.

Relativamente aos resultados quantitativos, foram analisados os dados relativos ao subgrupo de alunos com frequência anterior que estavam inscritos nas aulas de aprendizagem (EP), segundo diversas variáveis. Estes resultados foram comparados com os do subgrupo NP (discentes que se limitaram a candidatar ao exame final único) e, posteriormente, interpretados e integrados no contexto dos últimos três anos lectivos, quer em relação com os alunos repetentes nesses anos quer com os restantes discentes.

Em Junho (1ª época de exames), 48% do subgrupo de discentes que frequentaram as aulas práticas de resolução de problemas obteve aproveitamento, contrastando com os do subgrupo NP, onde apenas se registou 12% de aprovação (Tabela 2).

**Tabela 2 – Distribuição dos discentes segundo os grupos de aulas teórico-práticas, atendendo ao aproveitamento de cada um.**

(EP: subgrupo que frequentou as aulas de Experiência Pedagógica; NP: subgrupo de alunos sem aulas de Experiência Pedagógica)

Repetentes	Nº alunos	Aprovados	Reprovados	% Aproveitamento	% Reprovação
Repetentes EP	48	23	25	48%	52%
Repetentes NP	43	5	38	12%	88%

A classificação final média do subgrupo EP foi de cerca de 13,5 valores (Fig. 8).

### Classificações do subgrupo EP

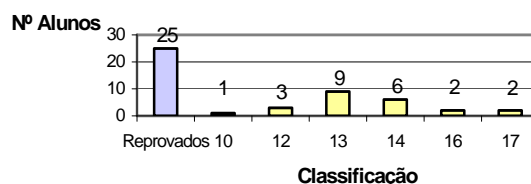


Figura 8 – Classificação dos alunos que frequentaram aulas teórico-práticas (subgrupo EP). (Média classificativa:  $13,5 \pm 1,61$  valores).

Dos 25 alunos que não obtiveram aproveitamento em Bioquímica Fisiológica, 14 reprovaram, 6 desistiram de fazer o exame e 5 desistiram de ir à oral após o exame escrito.

No subgrupo NP apenas obtiveram aproveitamento 5 indivíduos, cuja média classificativa foi de 12,6 valores (Fig. 9), não sendo as diferenças registadas entre as médias dos dois grupos estatisticamente significativas.

### Classificações do subgrupo NP

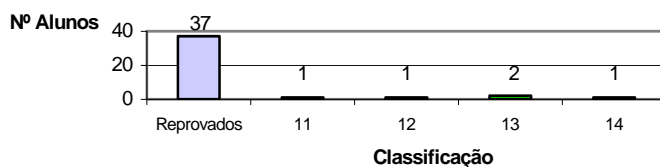


Figura 9 – Classificações dos alunos que não frequentaram aulas teórico-práticas (subgrupo NP). (Média classificativa:  $12,6 \pm 1,14$  valores).

Os indivíduos pertencentes ao grupo EP pertenciam a faixa etária bastante alargada pelo que se optou por fazer uma divisão unicamente metodológica para a aplicação de um teste estatístico. Com este objectivo consideraram-se os subgrupos de discentes: com idade inferior a 25 anos e com idade igual ou superior a 25 anos.

### Classificação segundo faixas etárias

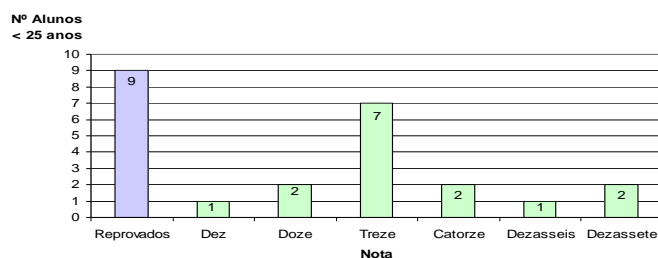


Figura 10 – Classificação dos alunos com menos de 25 anos que frequentaram aulas teórico-práticas (subgrupo EP). (Média classificativa:  $13,53 \pm 1,88$  valores; Taxa de aproveitamento: 62,5%).

A percentagem de aproveitamento no grupo de discentes com idade inferior a 25 anos foi de 62,5% (Fig. 10), sendo de 33,3% (Fig. 11) no grupo etário superior (idade  $\geq 25$  anos). Apesar da grande diferença observada na percentagem de aproveitamento, a verdade é que as classificações médias obtidas foram muito similares; o teste *T-Student* aplicado a estes grupos na comparação de médias não registou diferenças estatisticamente significativas.

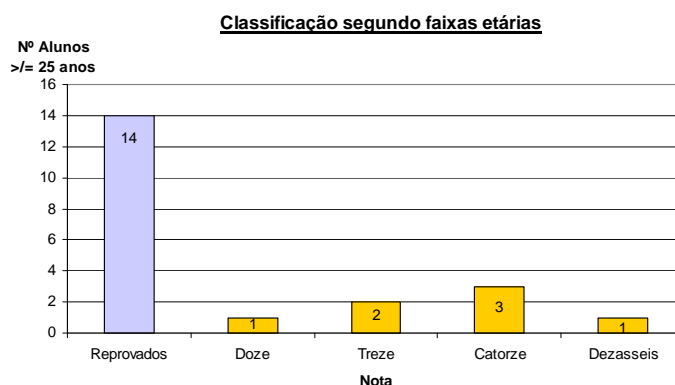


Figura 11: Classificação (em escala de 0 a 20 valores) dos alunos com idade superior ou igual a 25 anos que frequentaram aulas teórico-práticas (subgrupo EP). (Média classificativa:  $13,1 \pm 1,25$  valores; Taxa de aproveitamento: 33,3%).

Atendendo ao género, não se registaram diferenças estatisticamente significativas relativamente à classificação dos alunos que frequentaram aulas teórico-práticas (subgrupo EP).

No que concerne ao curso frequentado também não se registaram diferenças significativas no grupo EP.

Analisando os resultados relativamente ao número de aulas teórico – práticas a que cada aluno assistiu, registaram-se alguns factos interessantes (Tabela 3). Para o efeito foram considerados três conjuntos de alunos:

- Discentes (4) que frequentaram menos de 13 aulas teórico-práticas (cerca de 2/3 das aulas);
- Discentes (23) que frequentaram entre 13 e 16 aulas teórico-práticas;
- Discentes (21) que frequentaram 17 ou mais aulas teórico-práticas.

**Tabela 3 – Classificação média dos discentes segundo o número de aulas teórico-práticas frequentadas.**

Nº Aulas	Nota média	Desvio padrão
<13	0	0
13-16	12,67	1,67
≥ 17	14,64	1,6

Verificou-se que todos os alunos que frequentaram menos de 13 aulas reprovaram; refira-se ainda que nenhum destes alunos realizou avaliação continuada (Tabela 4).

A diferença entre a classificação média dos outros dois grupos, relativamente ao número de aulas frequentadas, tem significado estatístico ( $p=0.002$ ) sendo tanto mais elevada a classificação obtida quanto maior foi o número de aulas participadas. Um outro discente não efectuou avaliação contínua mas assistiu a 14 aulas antes de ter decidido realizar exame final único. Em resumo, 5 dos 48 indivíduos que frequentaram aulas teórico-práticas baseadas na resolução de problemas não realizaram avaliação continuada. Se os resultados forem analisados atendendo a este facto (Tabela 4), e considerarmos que, apesar de terem assistido a um pequeno número de aulas, os alunos que não realizaram avaliação continuada não desenvolveram aprendizagem baseada na resolução de problemas, conclui-se que a taxa de aproveitamento do processo seguido pelo subgrupo EP passa de 48% para 54%.

**Tabela 4 – Distribuição dos discentes do subgrupo EP segundo o tipo de avaliação efectuada.**

Repetentes c/ EP	Nº alunos	Aprovados	Reprovados	% Reprovação	% Aproveitamento
Av. continuada	43	23	20	46%	54%
Ex. Final	5	0	5	100%	0%
<b>Totais</b>	48	23	25	52%	48%

Uma vez que os diversos indivíduos do subgrupo EP frequentavam diferentes anos de curso, optou-se por fazer a distribuição classificativa atendendo a esta característica (Fig. 12). Nos 16 alunos que frequentavam o 2º ano registou-se uma taxa de aproveitamento de 37,5%, com classificação média de 13,7 valores. No 3º ano estavam inscritos 24 alunos, dos quais 10 tiveram aproveitamento (41,6%) com a média de 13,45 valores. A média classificativa dos alunos que frequentavam o 4º ano foi de 13,7 valores nos alunos aprovados (100%).

### **Distribuição pelo ano de frequência**

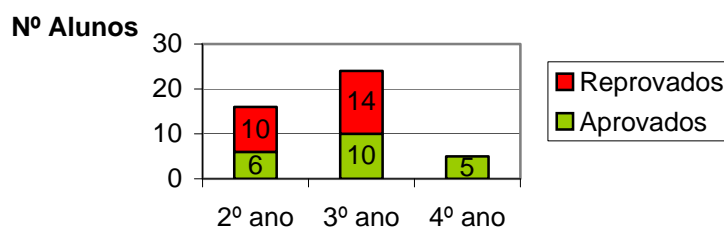


Figura 12 – Distribuição dos alunos do subgrupo EP aprovados e reprovados, segundo o ano de frequência.



Atendendo ao ano de frequência, não se registaram diferenças significativas no que concerne às classificações.

Relativamente ao ano lectivo em que os discentes se inscreveram pela primeira vez em Bioquímica Fisiológica (considerando os anos de 1995/96 e anteriores, 1996/97 e 1997/98 (Fig. 13), verificou-se que nos alunos com a primeira inscrição mais antiga a taxa de aproveitamento foi de 25%, com média de 13 valores. Dos 11 discentes que possuíam três inscrições na disciplina ficaram aprovados 5 (45,5%) com a classificação média de 13,3 valores. Os alunos que estavam inscritos pela segunda vez na disciplina apresentaram uma taxa de aproveitamento superior (65%). A média das notas obtidas por esses indivíduos foi de 13,8 valores, não se registando diferenças estatisticamente significativas relativamente aos restantes grupos.

### Distribuição pelo ano de inscrição

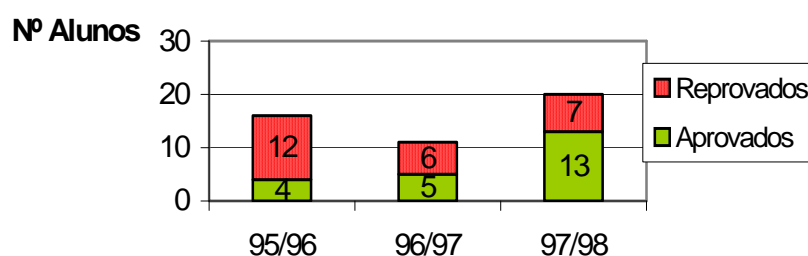


Figura 13 – Distribuição dos alunos aprovados e reprovados segundo o ano da primeira inscrição em Bioquímica Fisiológica.

Os alunos repetentes que frequentaram as aulas teórico-práticas de Bioquímica Fisiológica durante o ano de 1998/99 (subgrupo EP) tiveram melhor aproveitamento (48%) e menor taxa de reprovação (52%) do que os repetentes inscritos em anos anteriores. Comparando no mesmo ano lectivo discentes com diferentes opções de aprendizagem verifica-se que a diferença de taxas de reprovação foi muito superior (88%) nos discentes que não frequentaram as aulas teórico-práticas do que nos do subgrupo EP (52%). O contraste seria ainda mais acentuado caso os 5 discentes do grupo EP que não realizaram avaliação continuada fossem excluídos dos cálculos da percentagem de aproveitamento, que então passaria a ser, aproximadamente, de 54%.

Saliente-se que as classificações médias obtidas pelos alunos repetentes aprovados nos últimos anos lectivos (Tabela 5) merecem a seguinte atenção:

- A comparação das médias entre 1996/97 e 1997/98 não registou diferenças estatisticamente significativas;

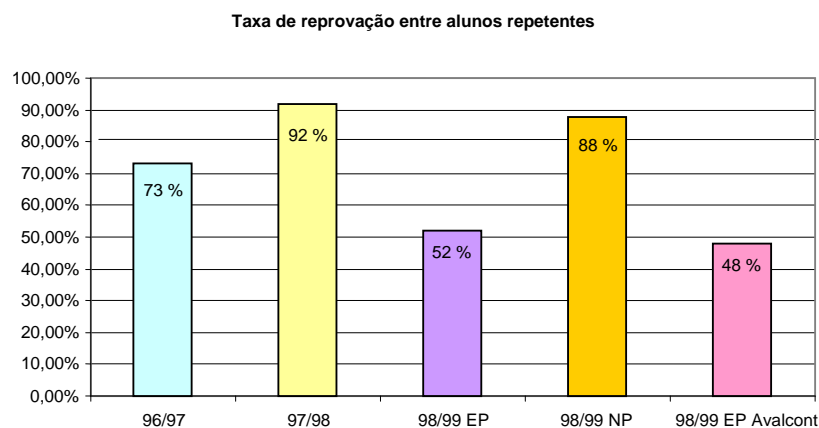


Figura 14: Taxas de reprovação registadas na 1ª Época (Junho), calculadas apenas com alunos repetentes em cada um dos três últimos anos lectivos. No ano de 1998/99 consideraram-se dois subgrupos consoante tivessem frequentado, ou não, as aulas práticas. (EP: subgrupo inscrito nas aulas de Experiência Pedagógica; NP: subgrupo de alunos sem aulas de Experiência Pedagógica; Avalcont: Discentes inscritos em EP e que realizaram avaliação contínua)

- A diferença de médias entre 1996/97 e os repetentes com aulas teórico-práticas em 1998/99 foi estatisticamente significativa ( $p=0.004$ );
- A comparação das médias entre 1998/99 (com aulas EP) e 97/98 revelou valor estatístico ( $p=0.009$ );
- A diferença de médias entre os repetentes de 1998/99 sem aulas teórico-práticas com qualquer um dos dois anos lectivos não registou significado estatístico.

**Tabela 5 – Classificação média dos alunos repetentes aprovados dos três últimos anos lectivos (EP: subgrupo que frequentou as aulas de Experiência Pedagógica; NP: subgrupo de alunos sem aulas de Experiência Pedagógica). Diferenças estatisticamente significativas entre grupos [(1), (2)].**

Repetentes	Nota média	Desvio padrão
<b>1996/97</b>	11,76 <sup>(1)</sup>	2,2
<b>1997/98</b>	11,35 <sup>(2)</sup>	1,32
<b>1998/99 EP</b>	13,53 <sup>(1,2)</sup>	1,61
<b>1998/99 NP</b>	12,6	1,14

De facto, a diferença de médias entre os alunos de 1998/99 que frequentaram ou não aulas práticas não registou valor estatístico contudo, a discrepância entre as taxas de reprovação é notória.

## Discussão

Os resultados obtidos, bem como o interesse e participação activa dos alunos no modelo de ensino-aprendizagem utilizado, são indicadores positivos a favor de novas estratégias educacionais na disciplina de Bioquímica Fisiológica. Ainda que a experiência pedagógica reportada no presente trabalho tenha sido aplicada a um grupo de alunos que, em anos sucessivos, revelavam falta de aproveitamento na disciplina, a sua extensão à generalidade dos futuros discentes afigura-se promissora, por duas razões principais. Em primeiro lugar porque os alunos são estimulados a pensarem sobre soluções adequadas aos problemas apresentados, não só individualmente mais também em função de uma interacção intensa entre os componentes do grupo do trabalho; os estudantes sentiram-se motivados e beneficiaram com o processo de aprendizagem, pelo qual os assuntos que se afiguravam mais complexos ou não interpretáveis no passado acabavam por ser clarificados pelo estudo individual orientado e durante as discussões de grupo na presença do tutor; adicionalmente os conhecimentos ficavam mais estruturados e melhorara a capacidade de auto-aprendizagem. Estas conclusões confirmaram a opinião dos alunos e a análise dos resultados de estudos anteriores, quer a nível das ciências básicas de Medicina <sup>(26-29)</sup> ou, mais especificamente, na área da bioquímica <sup>(23,24,30-33)</sup>, nas quais o ensino-aprendizagem havia sido baseado, em parte ou na totalidade, em problemas aplicados à clínica. Segundo, porque aprendizagem das ciências básicas em geral, e da bioquímica em particular, através de problemas seleccionados e num contexto de aplicação clínica, tem por finalidade possibilitar que os alunos compreendam problemas clínicos, sendo também um relevante substrato para a formação de profissionais competentes e como fundamento da ciência biomédica e médica <sup>(34-38)</sup>. Cerca de 20% dos conceitos clínicos mais utilizados são fundamentados em noções bioquímicas <sup>(36)</sup>. Verificou-se ainda que a utilização do processo PBL no ensino das ciências básicas tende a criar nos alunos um interesse acrescido pela utilização e aumento de conhecimentos daquelas ciências durante os anos de aprendizagem clínica <sup>(38)</sup>. Sem dúvida que a interpretação dos mecanismos gerais e da funcionalidade dos sistemas biológicos revela-se fundamental para o progresso da biologia molecular e, mais recentemente, para a identificação das alterações que parecem estar na origem de muitas doenças humanas. Todavia, enquanto os fenómenos e consequências bioquímicas conduzem a indiscutível progresso científico e aumenta a capacidade interventiva da clínica, subsistem dúvidas de que transmissão desses conhecimentos aos alunos seja tão eficaz quanto se desejaria, em grande parte originada por um menor empenhamento dos docentes no ensino, *versus* a investigação e outras actividades profissionais <sup>(39)</sup>. Por outro lado, diversos estudos sugerem que o processo PBL tem utilidade na aprendizagem contextual mas, por si, não conferirá capacidades para o raciocínio clínico <sup>(40)</sup> nem

parece contribuir para um melhor conhecimento e prática clínica futuras, pelo menos como seria expectável <sup>(41)</sup>. No conjunto, existem discrepâncias entre os conceitos e objectivos educacionais e outras variáveis com implicações no sucesso da aprendizagem, designadamente o interesse dos alunos pelos programas mais áridos das ciências básicas, a disponibilidade e empenhamento dos docentes pelo processo de ensino-aprendizagem e, por fim, a eficácia das metodologias educacionais para um maior envolvimento de alunos e docentes e indução de novas capacidades e competência interventivas, com repercussão concreta na futura actividade profissional.

Na globalidade da estrutura educacional, e independentemente dos conhecimentos e preparação real adquirida no período formativo pré-universitário, os discentes estão, em geral, habituados ao processo fácil de memorizar factos que possam ser reproduzidos quando lhes é solicitado e, neste aspecto são eficientes a fazê-lo; tendem a comportar-se como agentes passivos no processo de aprendizagem, mostram-se desinteressados e, eventualmente, a principal preocupação de alguns será a de conhecerem a matéria do próximo teste e, de seguida, obterem aprovação em cada disciplina, de preferência com classificação elevada. Porém, como é conhecido, memorizar sem compreender o assunto não tem relevância potencial <sup>(24)</sup>. Por outro lado, a falta de atenção, o aborrecimento e a fadiga em situações de aprendizagem passiva contribuem para que muita da informação não seja registada, pelo que o esquecimento deste material é extremamente rápido.

Neste estudo, como se previa, verificou-se inicialmente alguma passividade entre os discentes do grupo EP, mais preocupados em colherem apontamentos relativamente a tudo o que era dito e pouco esforçados em apresentarem hipóteses ou em recordarem conhecimentos anteriores. Porém, estando restringida ao tutor no modelo utilizado uma intervenção lectiva mas tão só à actuação e moderação dos debates e ordenamento das conclusões do respectivo grupo de trabalho, os alunos viam-se “forçados”, gradualmente, a pensarem de uma forma activa, analítica, lógica e dedutiva. Em cada aula foi fundamental serem os discentes a resolver o problema seleccionado. Confirmando experiências anteriores, as aulas em que o rendimento dos alunos foi mais elevado requereram menos intervenções do tutor <sup>(3)</sup>.

De acordo com outras observações, o método de ensino-aprendizagem baseado na resolução de problemas encoraja o desenvolvimento de mentes abertas, a reflexão, a crítica e a aprendizagem activa. Além disso, o ensino em pequenos grupos é um excelente método para desenvolver a interacção quer entre discentes quer entre discentes e docente (tutor), minimizando a inibição inicial de quem tem receio de falar em público <sup>(7-10,37)</sup>.

Foi pedagogicamente grato verificar a aquisição de hábitos de estudo individuais e da capacidade de aprender e assimilar o conhecimento de forma a aplicá-lo mais tarde. O facto de o tema-base de cada problema apresentado ser actual e frequente no quotidiano proporcionou maior interesse por parte dos alunos. A simulação da realidade em cada caso clínico e a interrelação

existente entre problemas de aulas diferentes também prenderam a atenção e preservaram o conhecimento adquirido através de casos anteriores.

O entusiasmo e perseverança constituíram apanágio das vinte semanas, durante as quais foi criado um ambiente de respeito, interesse, crítica e participação. Confirmando estudos anteriores<sup>(3,9)</sup>, foi relevante que os discentes que participaram nesta experiência pedagógica já possuíssem alguns conhecimentos relativos à disciplina leccionada (tinham frequência anterior); puderam assim participar de forma mais activa, apresentarem maior número de questões e, sobretudo, identificarem o mecanismo bioquímico subjacente a cada caso clínico a estudar.

Igualmente, à semelhança de outros resultados<sup>(22,23)</sup>, o tipo de aulas teórico-práticas com problemas de Bioquímica contextualizados numa provável situação clínica revelou-se útil, pois os discentes participaram com menor inibição e num ritmo que foi aceite e cumprido por todos, com resultados bastante positivos. A taxa de aproveitamento do subgrupo EP (48%) foi a melhor entre os repetentes dos últimos três anos, bem como as classificações obtidas (cuja média foi a mais elevada nesse mesmo período de tempo). A percentagem de aproveitamento de 54% entre alunos do subgrupo EP (contra os 12% do subgrupo NP) é a que melhor espelha e traduz a eficácia deste método de ensino, ao englobar os alunos que desenvolveram a capacidade de resolver problemas, frequentaram assiduamente as aulas e preencheram os critérios de avaliação contínua (Tabela 4). Porém, se excluirmos o componente progressivo e a avaliação continuada, este processo de aprendizagem perde utilidade; a demonstrá-lo estão os 100% de não aproveitamento entre discentes que frequentaram menos de 2/3 das aulas.

O que é enfatizado neste tipo de aulas é o processo de os discentes desenvolverem estratégias de aprendizagem próprias e instrumentos racionais para a integração de conhecimentos e a resolução de problemas de Bioquímica aplicada à Medicina. A aquisição de conhecimentos melhorou quer com a aprendizagem activa quer com a aplicação da informação. Efectivamente, para que o processo PBL ou com recursos a problemas contextualizados em situações clínicas seja eficaz, tem de incorporar os objectivos educacionais numa estratégia de acção, que inclui casos clínicos cuidadosamente seleccionados, envolvimento dos alunos que constituem os grupos de trabalho na discussão e resolução daqueles problemas, e oportunidades para aprendizagem individual autónoma<sup>(28)</sup>. Acresce ainda a experiência positiva dos alunos tutores de fases de aprendizagem mais adiantadas que, por conhecerem bem as dificuldades próprias que tiveram, conferem um relevante apoio aos colegas mais novos, além de colherem maior experiência e perspectivas mais amadurecidas para a sua evolução formativa<sup>(42)</sup>.

Em conclusão, o método de ensino utilizado no presente estudo parece ajudar os alunos a relembrar factos científicos e possibilita a aplicação dos conhecimentos em problemas onde a matéria apreendida revela grandes

potencialidades e utilidade de aplicação clínica futura. Em apoio deste argumento referem-se os 100% de aproveitamento dos alunos do subgrupo EP que frequentavam o 4º ano, atendendo a que, nessa fase do curso médico, se encontram em contacto próximo com a clínica, ficando mais motivados para a interpretarem as situações da clínica em bases bioquímicas e, simultaneamente, valorizarem melhor o interesse e aplicação potencial da matéria de Bioquímica Fisiológica à prática médica.

### **Agradecimentos**

Os Autores agradecem à Senhora Professora Carlota Saldanha pelos comentários e sugestões sobre este trabalho.

### **Bibliografia**

- 1 – Neufeld VR, Barrows HS. The “McMaster Philosophy”: an approach to medical education. *J Med Educ.* 1974; 49:1040-1050.
- 2 – Neufeld VR, Spaulding WB. Use of learning resources at McMaster University. *Br Med J.* 1973; 3:99-101.
- 3 – Albanese MA, Mitchell S. Problem-based learning: a review of literature on its outcomes and implementation issues. *Acad Med.* 1993; 68:52-81.
- 4 – Jonas HS, Etzel SI, Barzansky B. Educational programs in US medical schools, 1993-1994. *JAMA.* 1994; 272:694-701.
- 5 – Miller AP, Schwartz PL, Loten EG. “Systems Integration”: a middle way between problem-based learning and traditional courses. *Med Teacher* 2000; 22:51-58.
- 6 – Barrows HS. Problem –based self-directed learning. *JAMA* 1983; 250: 3077-3080.
- 7 – Norman GR. Problem-solving skills, solving problems and problem-based learning. *Med Educ.* 1988;22: 279-286.
- 8 – Lloyd-Jones G, Margetson D, Bligh JG. Problem-based learning: a coat of many colours. *Med Educ.* 1998; 32:492-494.
- 9 – Schmidt HG. Foundations of problem-based learning: some explanatory notes. *Med Educ.* 1993; 27:422-432.
- 10 – Barrows HS. A taxonomy of problem-based learning methods. *Med Educ.* 1986; 20:481-6.
- 11 – Walton H. Small group methods in medical teaching. *Med Educ.* 1997; 31:459-464.
- 12 – Elstein AS-What goes around comes around: return of the hypothetic-deductive strategy. *Teach Learn Med* 1993;6: 121-123.
- 13 – Schwartz PL, Egan AG, Heath CJ. How one school obtained the benefits of problem-based learning without revolution. *Acad Med.* 1993; 68:612-613.

- 14 – Kaufman DM, Holmes DB. The relationship of tutors' content expertise to interventions and perceptions in a PBL medical curriculum. *Med Educ.* 1998; 32:255-261.
- 15 – Neville AJ. The problem-based learning tutor; Teacher? Facilitator? Evaluator? *Med Teacher* 1999; 21:393-401.
- 16 – Maudsley G. Do we all mean the same thing by “problem-based learning”? A review of the concepts and a formulation of the ground rules. *Acad Med.* 1999; 74:178-185.
- 17 – Charlin B, Mann K, Hansen P. The many faces of problem-based learning: a framework for understanding and comparison. *Med Teacher* 1998; 20:323-330.
- 18 – Page GG, Fielding DW. Performance on PMPs and performance in practice: are they related? *J Med Educ.* 1980; 55:529-537.
- 19 – Bordage G, Zacks R. The structure of medical knowledge in the memories of medical students and general practitioners: categories and prototypes. *Med Educ.* 1984; 18:406-16.
- 20 – Mandin H, Jones A, Woloschuk W, Harasym P. Helping students learn to think like experts when solving clinical problems. *Acad Med.* 1997; 72:173-179.
- 21 – Vernon DT, Blake RL. Does problem-based learning work? A meta-analysis of evaluative research. *Acad Med.* 1993; 68:550-563.
- 22 – Brosemer RW. Case study on diabetes mellitus. *Biochem Educ* 1991; 19:193-195.
- 23 – Regan-Smith MG, Obenshain SS, Woodward C, Richards B, Zeitz HJ, Small PA Jr. Rote learning in medical school. *JAMA.* 1994;272:1380-1381.
- 24 – Morley CGD, Blumberg P. Learning medical school biochemistry through self-directed case oriented study. *Biochem Educ* 1987; 15: 184-188.
- 25 – Mårtensson D, Eriksson H, Ingelman-Sundberg M. Medical chemistry: evaluation of active and problem-oriented teaching methods. *Med Educ.* 1985;19:34-42
- 26 – Pales J, Gual A. Active and problem-based learning: two years' experience in physiology at the Medical School of the University of Barcelona. *Med Educ.* 1992;26:466-472.
- 27 – Bernstein P, Tipping J, Bercovitz K, Skinner HA. Shifting students and faculty to a PBL curriculum: attitudes changed and lessons learned. *Acad Med.* 1995; 70:245-247.
- 28 – Caplow JA, Donaldson JF, Kardash C, Hosokawa M. Learning in a problem-based medical curriculum: students' conceptions. *Med Educ.* 1997;31:440-447.
- 29 – Mierson S. A problem-based learning course in physiology for undergraduate and graduate basic science students. *Am J Physiol.* 1998;275(6 Pt 2):S16-S27.
- 30 – Khayam-Bashi H. Toward a clinical orientation in the basic medical biochemistry curriculum. *Med Educ.* 1978;12:186-190.
- 31 – Schwartz PL, Lovell-Smith CJ, Loten EG. Small-group, case-based clinical biochemistry course for a medical laboratory science curriculum. *Clin Chem.* 1995;41(8 Pt 1):1193-1195.

- 32 – Helleiner CW, Fernandez LAV. Problem-based learning of biochemistry in a medical curriculum. *Biochem Educ* 1993; 21:143-146.
- 33 – Mishra V, Kumar S, Siwach V, Sharma NK, Angral R, Mujumdar A, Sharma AK. Need for bringing in a change in biochemistry curriculum to make it clinically oriented? *J Assoc Phys India*. 2000; 48:635-638.
- 34 – Martins e Silva J – Relevância da Bioquímica no curriculum médico. Ensaio sobre a educação médica e a sua dependência da investigação e ciências experimentais. *J Soc Ciên Méd Lisboa* 1984;148:81-94.
- 35 – Patel VL, Groen GJ, Scott HM. Biomedical knowledge in explanations of clinical problems by medical students. *Med Educ* 1988; 22: 398–406.
- 36 – Dawson-Saunders B, Feltovich PJ, Coulson RL, Steward DE. A survey of medical school teachers to identify basic biomedical concepts medical students should understand. *Acad Med*. 1990; 65:448-454.
- 37 – Evans EM .Educating for a qualification or a career? *Biochem educ* 1991;19: 121-124.
- 38 – O'Neill PA. The role of basic sciences in a problem-based learning clinical curriculum. *Med Educ*. 2000; 34:608-613.
- 39 – Crown V. A study to examine whether the basic sciences are appropriately organized to meet the future needs of medical education. *Acad Med*. 1991; 66:226-231.
- 40 – Coles CR. Elaborated learning in undergraduate medical education. *Med Educ*. 1990; 24:14-22.
- 41 – Colliver JA. Effectiveness of problem-based learning curricula: research and theory. *Acad Med*. 2000;75:259-266.
- 42 – Schaffer JL, Wile MZ, Griggs RC Students teaching students: a medical school peer tutorial programme. *Med Educ*. 1990; 24:336-343.



## Capítulo 5

### Metodologías



**Estágio de investigação laboratorial em bioquímica:  
acção *in vitro* e *in vivo* do LPS**

*Santos C, Silva AC, Mascarenhas M, Ramos H,  
Medeiros L, Martins C, Cardoso M, Guerreiro M,  
Afonso E, Santos R, Diogo C, Gouveia C, Marques N,  
Saldanha C, Martins-Silva J*

**Resumo**

Pretendemos com este trabalho descrever as características de ensino-aprendizagem do Estágio de Investigação Laboratorial em Bioquímica e resumir os trabalhos efectuados no seu âmbito entre 1998 e 2001. Aquele estágio é uma componente pedagógica optativa para alunos do 2<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> anos da Faculdade de Medicina. Com escolaridade de 80h, o estágio tem 3 fases principais sob a orientação do tutor: treino de técnicas laboratoriais básicas e pesquisa sobre o tema a investigar; aprendizagem do método laboratorial e apresentação de um artigo já publicado sobre o tema em estudo; ensaio experimental e elaboração de relatório final. Os trabalhos experimentais efectuados incluíram-se no tema central do estágio, nomeadamente a caracterização e o estudo experimental das acções do LPS *in vitro*, nos metabolismos eritrocitário e leucocitário e, *in vivo*, no metabolismo da levedura.

Com o trabalho da caracterização da solução de LPS em tampão fosfato salino de Dulbecco pH 7,4 foi determinado o valor de 14 µg/mL para a concentração micelar crítica do LPS de E. Coli serotipo 026:B6. Os resultados obtidos com os outros trabalhos relativamente aos efeitos *in vitro* da incubação com LPS revelaram: aumento da concentração de lactato no sangue total e em eritrócitos isolados em meio de NaCl 0,9%; aumento da actividade de lactato desidrogenase e hexocinase eritrocitárias; diminuição da actividade do contra-transportador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> eritrocitário, ausência de modificação da actividade da catalase e da superóxido dismutase Cu, Zn eritrocitária; influência do tempo de incubação (superior aos 10 min vs 20-25 min) e da

concentração de LPS utilizada (1 µg/mL induziu aumento superior ao obtido com 10 µg/mL na produção de anião superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) por neutrófilos; diminuição da actividade da fosfofrutocinase e hexocinase da levedura *S. cerevisiae* em resposta ao LPS, em condições de hipertonidade

A discussão conjunta em cada um dos anos do Estágio de Investigação Laboratorial, versando aspectos diferentes do mesmo tema, possibilitaram aos discentes um ambiente de aprendizagem integrador de conhecimento e o desenvolvimento das aptidões de análise, de crítica e humildade intelectual.

### **Caracterização do ensino-aprendizagem**

O Estágio de Investigação Laboratorial em Bioquímica é uma componente optativa para alunos do 2<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> ano, a realizar durante o ano lectivo no Instituto de Bioquímica da Faculdade de Medicina de Lisboa.

Os objectivos gerais do programa de estágio consistem em aprender a saber fazer com método e rigor, a saber estar e comunicar e a testar experimentalmente hipóteses formuladas. Mais especificamente, isto implica a aquisição de capacidades em valências como a pesquisa, observação, interpretação e comunicação oral e escrita.

A escolaridade do estágio é de 80h, se bem que aqui não estejam incluídas as horas de escolaridade “escondida”, despendidas na pesquisa e na elaboração do relatório. A avaliação pelo tutor é resultante de 3 parcelas de classificação empenho no estagiário, comunicação oral e relatório final.

O ensino-aprendizagem tem diferentes, fases, sob a orientação do tutor. A fase inicial é de adaptação ao laboratório e para relembrar técnicas básicas. Este treino é feito pela repetida determinação da concentração de hemoglobina de uma amostra de sangue. É também nesta primeira fase que se efectua pesquisas sobre o tema a investigar. Numa 2<sup>a</sup> fase decorre a aprendizagem do método e também a apresentação de um artigo já publicado sobre o tema em estudo. Seguem-se os ensaios-piloto (para treino do modelo experimental), o ensaio experimental, a análise e a discussão dos resultados por comunicação oral ao tutor e, por fim, a apresentação do relatório.

Durante o período de 1998 a 2001, o projecto de investigação laboratorial foi centrado num tema comum para todos os estagiários: a problemática da acção do lipopolissacárido (LPS, também chamado endotoxina) sobre o metabolismo dos elementos figurados do sangue e da levedura.

### **Caracterização da temática do LPS**

As bactérias são seres unicelulares, procariotas. De uma forma simplificada, apresentam citoplasma com ribossomas e material nucleico, e são envolvidas por membrana citoplasmática e parede celular. As características

estruturais da parede bacteriana estão na gênese da classificação pelo método de coloração de Gram; a parede celular das Gram-negativas é constituída pela camada de peptidoglicano e por uma membrana exterior, cujo folheto externo é a sede do LPS.

Cada molécula de LPS é formada por três constituintes principais: lípido A (fosfolípido ancorado à membrana exterior), grupo central de hidrocarbonetos e cadeia O-lateral (consiste numa combinação de açúcares, que é específica de espécie).

A constituição da cadeia O-lateral é variável, enquanto o lípido A e o grupo central são constantes e servem como locais de ligação para diferentes proteínas do plasma humano, como a LBP (*LPS-binding protein*) e o sCD14 (*soluble* CD14). O LPS libertado da parede bacteriana liga-se a lipoproteínas plasmáticas (ficando neutralizado) ou ao sCD14 (numa reacção catalisada pela LBP); neste último caso, o LPS é depois transferido para o mCD14 (*membrane* CD14), o qual se associa a receptores da família TLR (*Toll-like receptor*) para a transdução do sinal. Isto resulta num aumento de expressão de moléculas de adesão e de libertação de *Tumor Necrosis Factor* (TNF $\alpha$ ) e interleucina 1 (IL-1). No homem, caso esta libertação de citocinas ultrapasse certos limites, surge o choque séptico, caracterizado por febre, colapso circulatório, coagulação intravascular disseminada, necrose hemorrágica e eventual falência multi-órgão.

### **Tipos de trabalhos experimentais dos estágios de investigação laboratorial em bioquímica**

O trabalho continuado de investigação desta temática pelos estagiários sob a orientação de tutores no Instituto de Bioquímica da FML foi agrupado nos seguintes subtemas:

- I. Caracterização das propriedades bioquímicas e biofísicas do LPS *in vitro*
- II. Efeitos do LPS no Metabolismo Eritrocitário *in vitro*
- III. Efeitos do LPS no Metabolismo Leucocitário *in vitro*
- IV. Efeito do LPS no Metabolismo da Levedura *in vivo*

Notas:

- a) Foi sempre utilizado o LPS de *E. Coli* serotipo 026:B6.
- b) As Figuras apresentadas neste trabalho constam dos relatórios entregues pelos estagiários.



de ensaio. As grandes dimensões e a porção hidrofóbica do LPS sugerem que este provoque uma alteração na conformação da albumina que possa influenciar o processo de glicação. Neste trabalho estudou-se a influência do LPS (10 µg/mL) na glicação da albumina. O método utilizado foi o do NBT (*Nitro Blue Tetrazolium*), que se baseia na redução do NBT pela frutossamina; a absorvância da solução obtida foi depois determinada a 530 nm num espectrofotómetro e convertida em concentração através da curva de calibração do DMF (1-desoxi-1-morfolinofrutose). Este estudo determinou a glicação de albumina bovina com diferentes concentrações de glicose (0 mM, 10 mM, 20 mM, 40 mM, 80 mM) em 7 dias consecutivos. Foi demonstrado que quando se aumenta a concentração de glicose a que a albumina está exposta, maior é a redução do NBT (i.e., maior é a concentração de frutossamina). Os resultados da influência do LPS neste processo foram inconclusivos, uma vez que não seguiram nenhum padrão (aumento, diminuição ou invariabilidade). Colocou-se a hipótese de a alteração induzida pelo LPS na albumina ser aleatória, afectando ou não o local de glicação, o que explicaria os resultados obtidos.

#### *Influência do LPS na Fragilidade Osmótica Eritrocitária*

A fragilidade osmótica é um parâmetro que avalia a capacidade dos eritrócitos incorporarem água sem sofrerem lise. Investigações actuais sugerem que, em situação de choque séptico, o LPS possa provocar alterações a nível da membrana eritrocitária, que se traduziriam num aumento da fragilidade e numa diminuição da deformabilidade. Estas alterações poderiam ocorrer por acção directa sobre a membrana do glóbulo vermelho, ou indirectamente por intermédio de interleucinas, radicais de oxigénio e ainda monóxido de azoto. Este trabalho utilizou soluções de sangue total com diferentes percentagens de NaCl (0,9%, 0,6%, 0,52%, 0,45%, 0,40% e 0,32%), com o objectivo de provocar hemólise.

Após incubação com e sem LPS (10 µg/mL), a 37°C e durante 45 min, centrifugaram-se as amostras e determinou-se num espectrofotómetro a absorvância de cada sobrenadante a 540 nm (comprimento de onda óptimo para medição da absorvância da hemoglobina). Como se observa pela Figura 2, o LPS provoca um aumento da hemólise sobretudo quando a concentração de NaCl é intermédia. Para concentrações menores de NaCl ocorre um efeito de diminuição da fragilidade osmótica (efeito protector), sugerindo a ocorrência de alterações membranares induzidas pelo LPS.

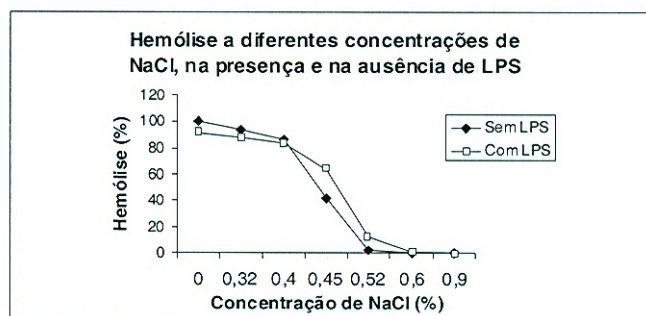


Figura 2 – Valores da percentagem de hemólise a diferentes concentrações de NaCl, na presença e na ausência de LPS.

#### *Influência do LPS na Concentração de Lactato do Sangue Total Humano*

Sabe-se actualmente que o LPS, por acção da caquexina, promove a entrada de  $Ca^{++}$  nas células. Este ião é responsável pela activação/inactivação de diferentes enzimas, o que pode originar desvios da sequência normal das vias metabólicas. Este estudo averiguou a influência do LPS na concentração de lactato no sangue total humano, de forma a avaliar a participação deste composto no estado de acidose metabólica que é característico do choque séptico. Para tal, procedeu-se à incubação de alíquotas de sangue total com e sem LPS (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), durante 30 e 60 min. A determinação da concentração do lactato envolve o deslocamento do equilíbrio da reacção piruvato + NADH  $\rightleftharpoons$  lactato + NAD $^{+}$  para a esquerda pela adição de NAD $^{+}$ , e a subsequente determinação num espectrofotómetro da absorvância do NADH a 340 nm. Constatou-se que a concentração de lactato nas amostras incubadas com LPS é sempre superior à dos controlos; este aumento de concentração foi mais acentuado dos 0 aos 30 min do que dos 30 aos 60 min (Figura 3).

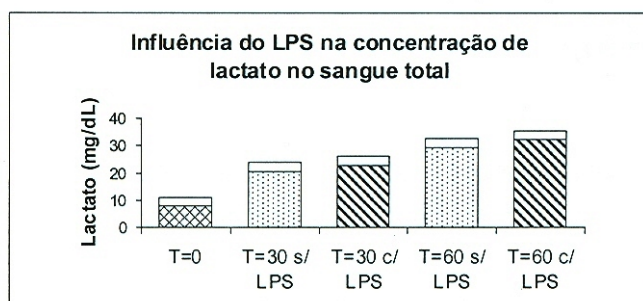


Figura 3 – Influência do LPS na concentração de lactato no sangue total em função do tempo de (em minutos) incubação. O rectângulo superior não preenchido representa o desvio padrão.



### Efeitos do LPS no metabolismo eritrocitário *in vitro*

#### *Estudo do Efeito do LPS na Concentração de Lactato no Eritrócito*

Sabe-se da literatura que a incubação de leucócitos com LPS aumenta a sua produção de lactato. Neste estudo investigou-se o efeito do LPS na produção de lactato pelo eritrócito. Para tal foi feita a suspensão de eritrócitos em soro fisiológico e a sua incubação a 37°C durante 30 min com LPS (10 µg/mL). A determinação da concentração de lactato decorreu pelo método já descrito em trabalho anterior. Os resultados obtidos (Figura 4) indicam que a incubação com LPS provoca um aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) da concentração de lactato pelo eritrócito humano.

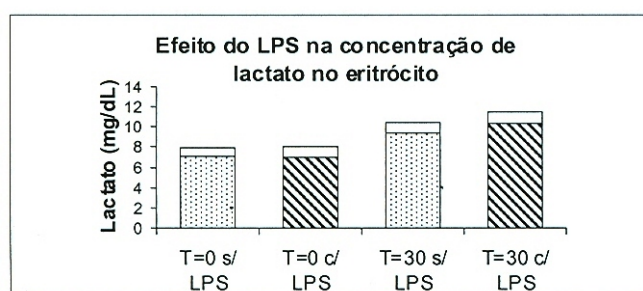


Figura 4 – Influência do LPS na concentração de lactato no eritrócito, em função do tempo de incubação. O rectângulo superior não preenchido representa o desvio padrão.

#### *Determinação do Efeito do LPS na Actividade Enzimática da Lactato Desidrogenase do Eritrócito*

Como já foi referido, colocou-se a hipótese de o LPS poder activar/inactivar enzimas intracelulares, causando desvios das normais sequências das vias metabólicas. Nesta investigação determinou-se o efeito sobre a lactato desidrogenase (LDH), a enzima final da fermentação láctica, responsável pela reacção  $\text{piruvato} + \text{NADH} \rightleftharpoons \text{lactato} + \text{NAD}^+$ . O processo experimental consistiu na incubação de sangue total com LPS (10 µg/mL) a 37°C durante 30 e 60 min, após o que os eritrócitos foram isolados e lisados. Uma vez que no hemolisado existe a LDH, a adição de NADH e piruvato de sódio resulta na oxidação de NADH a  $\text{NAD}^+$ , o que provoca uma alteração da densidade óptica detectável por espectrofotometria (340 nm). Verificou-se que ocorre um aumento da actividade da LDH aos 30 min e aos 60 min (Figura 5); o aumento só é estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) aos 30 min. Este aumento não é, no entanto, suficiente para que a actividade da enzima ultrapasse os valores normais ( $N: 142,37 \pm 34,59 \text{ U/g Hb}$ ).

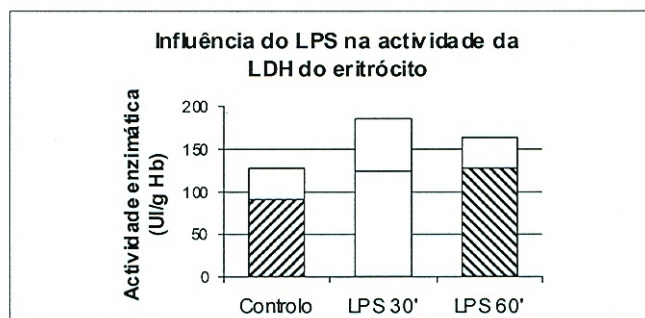


Figura 5 – Influência do LPS na actividade da LDH do eritrócito, em função do tempo (em minutos) de incubação. O rectângulo superior não preenchido representa o desvio padrão.

#### *Influência do LPS na Actividade Enzimática da Hexocinase Eritrocitária*

A glicose pode, no eritrócito, seguir duas vias: fermentação láctica (90%) ou via das fosfopentoses (10%). A entrada na via da fermentação láctica dá-se pela fosforilação a glicose-6-fosfato (G-6-P), por intermédio da hexocinase. O protocolo experimental foi semelhante ao anteriormente descrito para a LDH: incubação de sangue total com LPS (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) a 37°C durante 30 e 60 min, seguida de isolamento e lise dos eritrócitos. O hemolisado foi tratado de acordo com o protocolo e foi analisada num espectrofotómetro a variação da densidade óptica a 340 nm (que neste caso traduz a quantidade de NADP consumido). Concluiu-se (Figura 6) que existe um aumento estatisticamente significativo da actividade da hexocinase eritrocitária em relação ao controlo, após incubação com LPS durante 30 min. A actividade aumenta até aos 60 min, mas sem diferença significativa para os valores observados aos 30 min. Os resultados obtidos não ultrapassam os valores normais para a actividade desta enzima ( $N:0,64 \pm 0,27$  UI/g Hb).

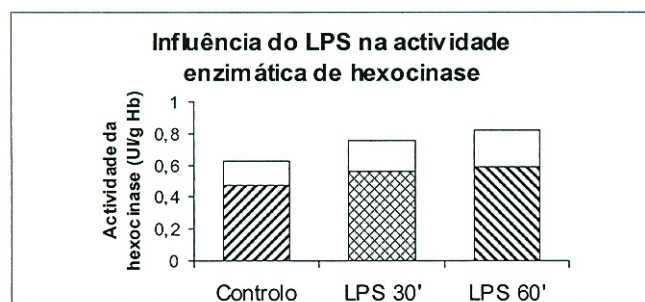


Figura 6 – Influência do LPS na actividade enzimática da hexocinase, em função do tempo (30 e 60 minutos) de incubação. O rectângulo superior não preenchido representa o desvio padrão.

### *Efeito do LPS no Sistema de Contra-transporte Sódio/Protão em Eritrócitos Humanos*

O sistema de contra-transporte  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  está envolvido em vários processos celulares, entre os quais o controlo do pH e volume celulares. A saída de  $\text{H}^+$  e a entrada de  $\text{Na}^+$  permitem manter o pH necessário para regular a actividade de diferentes enzimas, assim como a afinidade da hemoglobina para o oxigénio. Utilizou-se um método de potenciometria para avaliar a influência do LPS (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) neste sistema. Primeiro fez-se incubação de sangue total com LPS a 37°C, durante 60 min; seguiu-se a lavagem dos eritrócitos com solução PBS e tampão TRIS-MES. O potenciómetro regista, então, a variação de pH em resposta à adição de NaCl ao meio. A interpretação desta variação permite calcular o valor da actividade do sistema de contra-transporte  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ . A Figura 7 evidencia o decréscimo de actividade do transportador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  que se registou. A dispersão de valores obtidos para a diminuição de actividade do transportador foi grande, o que poderá estar associado, entre outras causas, à dificuldade na aferição e realização desta metodologia.



Figura 7 – Efeito do LPS na actividade do transportador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  do eritrócito. O rectângulo superior não preenchido representa o desvio padrão).

### *Efeito do LPS na Actividade da Catalase Eritrocitária*

A catalase é uma enzima anti-oxidante de grande importância na detoxificação do peróxido de hidrogénio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). O efeito do LPS na actividade da catalase eritrocitária foi determinado da seguinte forma: incubação de sangue total com LPS (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) a 37°C, durante 60 min; lavagem dos eritrócitos com solução de NaCl 0,9%; hemólise com solução saponina; incubação com  $\text{H}_2\text{O}_2$  durante 1 min e adição de molibdato de amónio. O molibdato de amónio forma um complexo corado estável com o  $\text{H}_2\text{O}_2$  se não tiver sido detoxificado pela catalase, e a absorbância do complexo é determinada a 405 nm num espectrofotómetro. Isto permitiu calcular a actividade enzimática da catalase e concluir que esta não é alterada de forma estatisticamente significativa pela incubação com LPS (Figura 8).

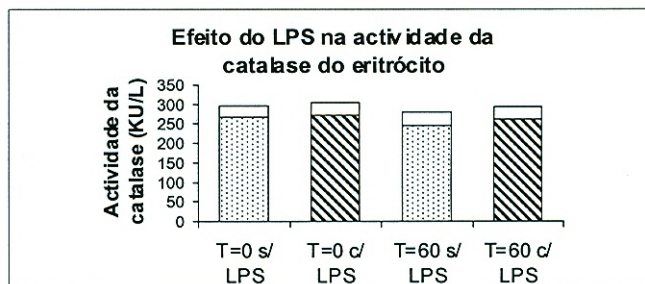


Figura 8 – Efeito do LPS na actividade da catalase eritrocitária, em função do tempo (0, 30 e 60 minutos) de incubação. O rectângulo superior não preenchido representa o desvio padrão.

#### *Estudo da Acção do LPS na Actividade da Superóxido Dismutase Eritrocitária*

As superóxido dismutases (SOD) são enzimas que catalisam a dismutação do anião superóxido ( $2O_2^- + 2H^+ \rightleftharpoons H_2O_2 + O_2$ ), protegendo o organismo dos efeitos desta espécie reactiva de oxigénio. Nos eucariotas, a MnSOD existe nas mitocôndrias e a Cu, Zn SOD encontra-se no citoplasma e circulante no plasma. O objectivo deste trabalho foi estudar a acção do LPS na actividade da SOD eritrocitária (Cu,ZnSOD). Foi feita a incubação de sangue total com LPS (10  $\mu$ g/mL) a 37°C, durante 60 min; seguiu-se a lavagem dos eritrócitos e a sua lise com água destilada; o hemolisado foi tratado com etanol e clorofórmio, obtendo-se um sobrenadante com a enzima pretendida. A actividade enzimática da Cu,ZnSOD foi medida pela sua capacidade de inibir a auto-oxidação em meio alcalino da epinefrina, que se avalia pela absorvância a 480 nm dos produtos da reacção de auto-oxidação. Verificou-se que o LPS não tem qualquer efeito sobre a actividade da Cu,ZnSOD eritrocitária (Figura 9).

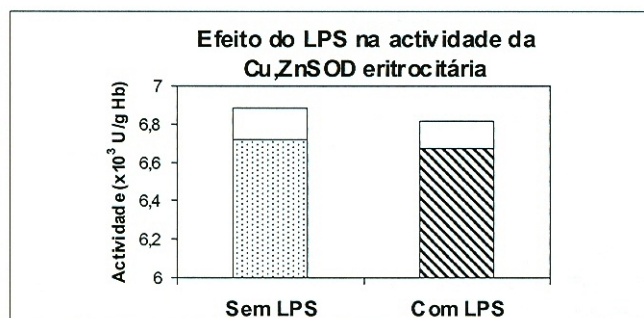


Figura 9 – Efeito do LPS na actividade da Cu,ZnSOD eritrocitária.

### Efeitos do LPS no metabolismo leucocitário *in vitro*

#### *Estudo da Acção do LPS na Produção de Anião Superóxido pelos Neutrófilos*

Como já referido na introdução, o LPS provoca a libertação de citocinas inflamatórias, capazes de activar os neutrófilos. Estes, quando activados, actuam por intermédio de mecanismos oxidativos (espécies reactivas de oxigénio) e não-oxidativos (p.ex., metaloproteinasas). A produção de anião superóxido ( $O_2^-$ ) ocorre por acção da NADPH oxidase ( $2O_2 \longrightarrow 2O_2^-$ ). Dois trabalhos foram realizados sobre este tema no âmbito dos estágios.

O primeiro trabalho estudou o efeito de duas concentrações diferentes de LPS (1  $\mu\text{g/mL}$  e 10  $\mu\text{g/mL}$ ) na produção de  $O_2^-$ . Procedeu-se, então, à incubação de sangue total com as duas concentrações de LPS a 37°C, durante 60 min. Seguiu-se: separação dos neutrófilos por intermédio da adição de Histopaque 1077 e 1119; centrifugação; contagem e ajustamento do número de neutrófilos no contador automático. A determinação da produção de  $O_2^-$  fez-se através da adição de ferrocitocromio C que, na presença de  $O_2^-$ , é reduzido de Fe III a Fe II; a absorvância foi determinada num espectrofotómetro a 550 nm. Para a concentração de LPS de 1  $\mu\text{g/mL}$  verificou-se uma libertação de  $O_2^-$  2,542 vezes maior do que no controlo; para a concentração de LPS de 10  $\mu\text{g/mL}$  verificou-se uma libertação de  $O_2^-$  1,544 vezes maior do que no controlo (Figura 10).

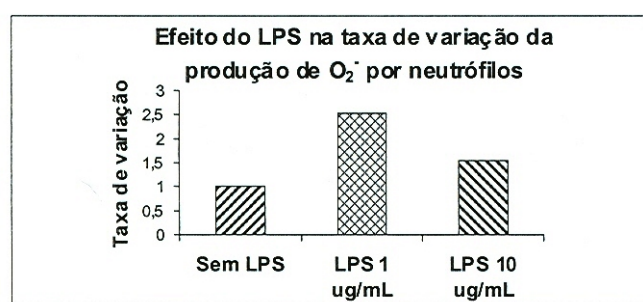


Figura 10 – Efeito do LPS na taxa de variação da produção de  $O_2^-$  por neutrófilos, em função do tempo da concentração de LPS.

O segundo trabalho teve por objectivo quantificar a produção de  $O_2^-$  por neutrófilos pela incubação de sangue total com LPS (10  $\mu\text{g/mL}$ ) a 37°C durante 10, 20, e 30 minutos. A metodologia utilizada foi semelhante à acima descrita. Observou-se que, aos 10 min, a produção de  $O_2^-$  foi maior no grupo exposto ao LPS do que no grupo controlo. Aos 20 e 30 minutos a produção de  $O_2^-$  continua superior à do controlo, mas é menor em relação ao grupo dos 10 minutos (Figura 11).

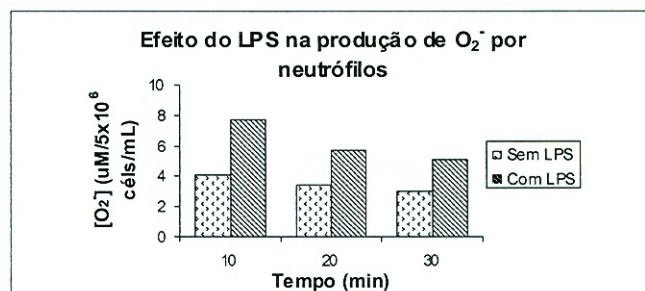


Figura 11 – Efeito do LPS na produção de O<sub>2</sub><sup>-</sup> por neutrófilos, em função do tempo de incubação (10, 20 e 30 minutos).

### Efeitos do LPS no metabolismo da levedura *in vivo*

A acção do LPS requer a ligação a um receptor, activando uma cascata proteica, sendo uma das proteínas envolvidas a p38. Esta proteína tem sequências semelhantes à Hog 1 da *Saccharomyces cerevisiae*; p38 e Hog 1 pertencem à família das MAP cinases e respondem ambas a alterações da osmolalidade extracelular.

O objectivo deste trabalho foi estudar a resposta metabólica da levedura *S. cerevisiae* ao LPS em meios de diferente osmolalidade, através da medição da actividade enzimática da fosfofrutocinase (PPK) e da hexocinase (HXK), bem como a possível influência da proteína cinase C neste processo – utilizando uma mutante incapaz de expressar o gene *PKC1*.

As células foram crescidas em meios suplementados com sorbitol, nas concentrações 0, 0,5 e 1 M (meio hipotónico, isotónico e hipertónico, respectivamente); quando atingiram a fase exponencial de crescimento foram incubadas com LPS (100ng/mL) durante três horas. A estirpe selvagem cresceu em todos os meios, mas só no meio com sorbitol 1M e LPS é que apresentou inibição da actividade da PPK (-33%) e da HXK (-40%). A estirpe mutante não cresceu no meio hipotónico; com sorbitol 0,5M e LPS já se verificou inibição da PPK (-22%, não está representado graficamente), e com sorbitol 1 M verificou-se diminuição da PPK (-42%) e da HXK (-56%) em relação ao controlo (estirpe mutante sem LPS). A representação gráfica destas alterações é evidenciada nas Figuras 12 e 13. Os resultados levam-nos a prever que a levedura possui uma resposta metabólica na presença de LPS, quando em condições fisiológicas que activam a resposta ao stress osmótico. Pode prever-se também, que na ausência de proteína cinase C, em condições de isotonicidade, existe uma outra via de resposta ao LPS, paralela à referida anteriormente.



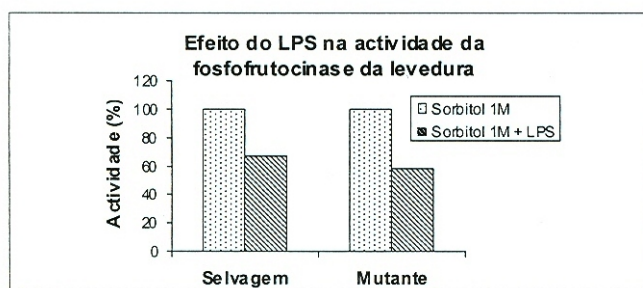


Figura 12 – Efeito do LPS na actividade da fosfofrutocinase da levedura.

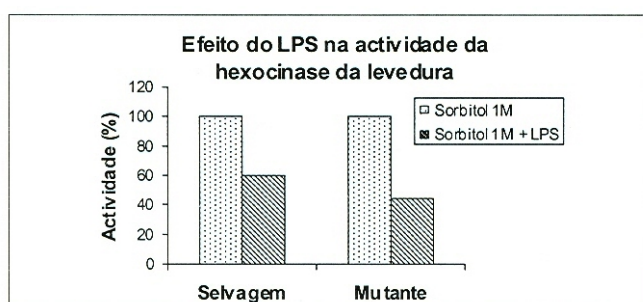


Figura 13 – Efeito do LPS na actividade da hexocinase da levedura.

### Conclusões

O Estágio de Investigação Laboratorial em Bioquímica é uma componente de aprendizagem optativa para alunos do 2º e 3º ano da FML. O tema central do Estágio tem sido a caracterização e investigação das acções do LPS no metabolismo eritrocitário e leucocitário *in vitro*, e metabolismo da levedura *in vivo*. Conclusões: a concentração micelar crítica do LPS *E. Coli* (serotipo 026:B6) é de 14 µg/mL. No que respeita ao metabolismo eritrocitário na presença de LPS, verificou-se: aumento da concentração de lactato no sangue total e em eritrócitos isolados em meio de NaCl 0,9%; aumento da actividade enzimática da lactato desidrogenase e da hexocinase eritrocitárias; diminuição da actividade do contra-transportador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> eritrocitário; ausência de modificação da actividade da catalase e da superóxido dismutase Cu, Zn eritrocitárias. No que concerne ao metabolismo leucocitário, verificou-se que a produção de anião superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) por neutrófilos foi dependente do tempo de incubação (superior aos 10 min vs 20-25 min) e da concentração de LPS utilizada (1 µg/mL induziu aumento superior ao obtido com 10 µg/mL). Em relação aos efeitos do LPS no metabolismo da levedura,

verificou-se diminuição da actividade da fosfofrutocinase e hexocinase da levedura *S. cerevisiae* em resposta ao LPS em condições de hipertonicidade.

Do ponto de vista de ensino-aprendizagem, concluímos que a estruturação do Estágio de Investigação Laboratorial em Bioquímica correspondeu às expectativas e às necessidades de aprendizagem nesta fase da licenciatura em Medicina. A partilha da discussão dos resultados pelos estagiários foi eficaz em consequência dos trabalhos experimentais terem decorrido sobre um tema comum.

### **Tutores do Instituto e Bioquímica**

Prof. Doutora Carlota Saldanha, Prof. Doutor João Martins e Silva, Prof. Doutor Nuno Santos, Prof. Doutora Teresa Gonçalves, Prof. Doutora Isabel Júlio, Prof. Doutora Isabel Neto, Prof. Doutora Isabel Silva.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem o apoio técnico da Sra. D. Teresa Freitas e o apoio pedagógico e científico do Dr. Rui Mesquita. Agradecem também à Sra. D. Emília Alves pelo apoio dactilográfico.

### **Bibliografia**

#### LPS

– Rietschel ET, et al – Bacterial endotoxin: chemical constitution, biological recognition, host response, and immunological detoxification. *Curr Top Microbiol Immunol* 1996; 216:39-81.

#### Processo de Agregação do LPS e Relação com a Função Bioquímica

- Aurell CA – Critical aggregation concentrations of gram-negative bacterial lipopolysaccharides (LPS). *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 253:119-123.
- Brandenburg K – Investigations into the thermotropic phase behaviour of natural membranes extracted from Gram-negative bacteria and artificial membrane systems made from lipopolysaccharide and free lipid A. *Thermochim Acta* 1987; 119:127-142.
- Brandenburg K – Physical aspects of structure and function of membranes made from lipopolysaccharides and free lipid A. *Bioch Biophys Acta* 1984; 775:225-238.
- Provencher SW – A constrained regularization method for inverting data represented by linear algebraic or integral equations. *Comput Phys Commun* 1982; 27:229-242.
- Santos NC – Caracterização estrutural de polímeros e associações moleculares por técnicas de dispersão de luz. *Quimica* 1996; 62:46-52.
- Santos NC – Teaching light Scattering Spectroscopy: The dimensions and shape of the tobacco mosaic virus. *Biophys J* 1996b; 71:1641-1650.



- Srimal S – Titration calorimetric studies to elucidate the specificity of the interactions of polymyxin B with lipopolysaccharide and lipid A. *Biochem J* 1996; 315:679-686.

#### Glicosilação Não Enzimática da Albumina – Estudo do Efeito do LPS

- Bunn HF – Nonenzymatic glycosilation of protein: relevance to diabetes. *Am J of Med* 1981; 70:325.
- Armbruster DA – Fructosamine: structure, analysis and clinical usefulness. *Clin Chem* 1987; 33:12.
- Johnson RN – Fructosamine: a new approach to the estimation of serum glycosylprotein. An index of diabetic control. *Clin Chim Acta* 1987; 127:87.
- Jones AF – Inhibitory effect of superoxide dismutase on fructosamine assay. *Clin Chem* 1987; 33:1.

#### Influência do LPS na Fragilidade Osmótica Eritrocitária

- Poscht JB – The effect of different *Escherichia coli* endotoxins on red blood cell deformability. *Clin Hemorheology* 1995; 1 5:749-753.
- Todd JC – Leukocyte modulation inhibits endotoxin induced disruption of calcium homeostasis. *Trauma* 1995; 36.
- Starzyk D – The role of nitric oxide in regulation of deformability of red blood cells in acute phase of endotoxaemia. *J of Pharm* 1997; 48:731-735.

#### Influência do LPS na Concentração de Lactato do Sangue Total Humano

- Hirschberg Y – The response of endotoxin in Guinea pigs after intravenous black current seed oils. *Lipids* 1990; 8:491-496.

#### Estudo do Efeito do LPS na Concentração de Lactato no Eritrócito

- Beamer L – The three-dimensional structure of human bactericidal/permeability-increasing protein. *Bioch Pharm* 1999; 57:225-229.
- Hajji-Michael P – Leukocyte glycolysis and lactate output in animal sepsis and ex vivo human blood. *Metabolism* 1999; 6:779-785.
- Bhattacharyya J – Effect of endotoxin on protein degradation and lipid peroxidation of erythrocytes. *J of Phys and Pharm* 1999; 50 (2):321-326.

#### Determinação do Efeito do LPS na Actividade Enzimática da Lactato Desidrogenase do Eritrócito

- Board M – Maximum activities of key enzymes of glycolysis, glutaminolysis, pentose phosphate pathway and tricarboxylic acid cycle in normal, neoplastic and suppressed cells. *Bioch J* 1990; 265.
- Poschl JMB – The effect of different *Escherichia coli* endotoxins on red blood cell deformability. *Clin. Hemorheology* 1995; 5:749-753.
- Branco E, Saldanha C, Martins-Silva J – Incubação de sangue humano na presença e ausência de lipopolissacárido da *Escherichia Coli*. IX Reunião da Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação, 1994.

#### Influência do LPS na Actividade Enzimática da Hexocinase

- Loughtin MR, Thompson D – The regulatory role for magnesium in glycolytic flux of the human erythrocyte. *J. B. Chem* 1996; 271 (46): 28977-83.

#### Efeito do LPS no Sistema de Contra-transporte Sódio/Protão em Eritrócitos Humanos

- Gringstein S – Mechanism of regulation of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger. *J Memb Biol* 1986; 90: 1-12.

- Gringstein S – Cytoplasmatic pH regulation in thymic lymphocytes by an amiloride-sensitive  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiport. J Gen Phys 83:341-369.
- Motais R – The control of  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange by molecular oxygen in trout erythrocytes. J Gen Phys 90:197-207.

#### Efeito do LPS na Actividade da Catalase Eritrocitária

- Agar NS – Erythrocyte catalase. Journal of Clin Invest 77:319-321.
- Tian L – Induction of Mn SOD in human monocytes without inflammatory cytokine production by a mutant endotoxin. Am J Phys 1986; 275:740-747.
- Góth L – A simple method for determination of serum catalase activity and revision or reference range. Clin Chim Acta 196:143-152.
- Spolarics Z – Role of glutathione and catalase in  $\text{H}_2\text{O}_2$  detoxification in LPS-activated hepatic endothelial and Kupffer cells. Am J Phys 1997; 273:1304-1310.
- Scott MD – Decreased catalase activity is the underlying mechanism of oxidant susceptibility in glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient erythrocytes. Bioch Biophys Acta 1993; 1181:163-168.

#### Estudo da Acção do LPS na Actividade da Superóxido Dismutase Eritrocitária

- Fridovich I – Superoxide radical and superoxide dismutases. Annu Biochem 1995; 64:97-112.
- Winterbourne, CC – Erythrocyte SOD levels. in: “Handbook of Methods for Oxygen Radical Research” Boca Raton (Florida): CRC Press, 1985, pp. 277-280.
- Misra HP – The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay superoxide dismutase. J Biol Chem 1972; 10:3170-3175.

#### Estudo da Acção do LPS na Produção de Anião Superóxido pelos Neutrófilos

- Rosen GM – Free radicals and phagocytic cells. FASEB J 1995; 9:200-209.
- Silva JM – Ferro e radicais livres de oxigénio. Arq de Med 1997; 11(1):13-18.
- Tsuji C – The importance of polymorphonuclear leukocytes in lipopolysaccharide-induced superoxide anion production and lung injury: ex vivo observation in rat lungs. Lung 1998; 176:1-13.
- Forehand JR – Lipopolysaccharide priming of human neutrophils for an enhanced respiratory burst. J Clin Invest 1989; 83:74-83.
- Guthrie LA – Priming of neutrophils for enhanced release of oxygen metabolites by bacterial lipopolysaccharide. J Exp Med 1984; 160:1656-1671.
- Yee J – Neutrophil priming by lipopolysaccharide involves heterogeneity in calcium-mediated signal transduction. J Immun 1993; 150:1988-1997.

#### Efeito do LPS em Leveduras

- Banuett F – Microbiology and Mol Biol Reviews 1998 62:249-274.
- Batiza AF – J Biol Chem 1996; 271:23357-23362.
- Gustin MC – Microb and Mol Biol Reviews 1998; 62:1264-1300.
- Lowry OH – J Biol Chem 1951; 193:265-275.
- Miller RC – J Biochem 1992; 203:593-598.
- Shapira L – Bioch Bioph Res Com 1997; 240:629-634.

## **Cursos livres de bioquímica experimental para alunos de medicina: 15 Anos de uma Iniciativa Pedagógica\***

*Carlota Saldanha, J. Martins e Silva*

### **Introdução**

Considerámos oportuno editar, a propósito do XII Curso Livre de Bioquímica Experimental para Alunos de Medicina, realizado em Setembro de 1997, um breve resumo do que tem sido uma acção pedagógico-científica entusiasmante e motivadora, iniciada em 1982 e prosseguida com regularidade e persistência durante os últimos 15 anos.

Os Cursos Livres foram, de início, estruturados como forma de compensação (embora muito limitada) da lamentável inexistência de ensino prático na disciplina de Bioquímica. Nessa data, e até um passado recente, não havia efectivas condições logísticas que permitissem a inclusão do ensino laboratorial no programa de Bioquímica. Com a introdução das aulas práticas na disciplina de Bioquímica, foram incluídas nos Cursos novas perspectivas conceptuais e aplicações práticas, que se mantêm até hoje.

O trabalho desenvolvido e os resultados obtidos têm sido possibilitados pelo entusiasmo e dedicação dos muitos docentes e discentes voluntários que, desde 1982, têm sabido responder a um desafio sucessivamente renovado. A todos agradecemos a colaboração e disponibilidade pessoais, e dedicamos este trabalho.

Os Cursos Livres de Bioquímica Experimental para Alunos de Medicina foram iniciados em 1982 e, desde então, têm sido organizados pelo Instituto de Bioquímica da Faculdade de Medicina de Lisboa, destinando-se preferencialmente a alunos do 1º ano que tenham concluído com aproveitamento a disciplina de Bioquímica.

---

\* Livro editado pelo Instituto de Bioquímica da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, 1997.

Os cursos têm decorrido nas férias de Verão, em geral durante dez a doze dias úteis, para um número reduzido de alunos, à excepção do oitavo curso, que foi frequentado por dezanove alunos durante dois anos lectivos consecutivos.

Em quinze anos foram realizados doze cursos, que mantiveram os objectivos gerais iniciais: criação de um espaço de ensino-aprendizagem extracurricular, caracterizado pela participação voluntária dos discentes, consolidado pela interacção efectiva e activa docente-discente, pelo fomento de trabalho em pequenos grupos, pela aplicação de conceitos teóricos, e pela perspectivação e vivência do método científico. Ao estimular o ensino centrado no discente pretendeu-se desenvolver-lhes aptidões cognitivas, humanísticas e de confiança na auto-aprendizagem.

Os objectivos específicos, idênticos nos sete primeiros cursos, foram modificados no oitavo e, a partir do nono curso, têm mantido as características actuais. Como principal causa para a mudança dos objectivos específicos destaca-se a introdução de aulas práticas no currículo da disciplina de Bioquímica a partir do ano lectivo de 1994-95. Nos sete primeiros cursos pretendeu-se que o discente adquirisse (i) atitudes e gestos adequados ao trabalho experimental, (ii) coordenação de movimentos, (iii) capacidade para a pesquisa de informação científica, (iv) capacidade para analisar resultados e para apresentá-los na forma oral e escrita. O oitavo curso acrescentou, como objectivo específico, a pretensão de os alunos virem a demonstrar capacidades para tutor (ou monitor) em próximos cursos, e eventualmente, nas aulas práticas da disciplina de Bioquímica. Do nono ao décimo segundo cursos, agora com o subtítulo “Curso de Iniciação à Investigação Científica”, ampliaram-se os objectivos específicos às capacidades para (i) identificar as diversas áreas da investigação científica da ciência médica e (ii) seleccionar estratégias adequadas em investigação científica.

Para alcançar os objectivos propostos criaram-se espaços de ensino tutelado, organizado em pequenos grupos de trabalho e de auto-aprendizagem. Os oito primeiros cursos privilegiaram as aulas práticas de laboratório relativamente à de elaboração do plano experimental, análise estatística e apresentação de resultados, invertendo-se esta relação nos quatro últimos cursos.

Nos três primeiros cursos, os candidatos foram seleccionados através de testes de escolha múltipla. O processo de escolha nos restantes cursos foi baseado na melhor classificação obtida pelos candidatos na disciplina de Bioquímica

O tema de cada curso serviu de pretexto para desenvolvimento do próprio programa e de base para o processo de avaliação. O enunciado dos objectivos gerais e específicos, a par com o programa e metodologias a utilizar, foram distribuídos no início de cada curso. O conhecimento teórico dos temas desenvolvidos laboratorialmente durante os oito primeiros cursos havia sido matéria do programa da disciplina de Bioquímica. No nono e

décimo cursos, em que foram omissas as sessões práticas, os projectos distribuídos exigiram desenvolvimento conceptual para a sua realização. A discussão teórica para a possível efectivação foi seguida da análise dos resultados obtidos em trabalhos de investigação, desenvolvidos e publicados anteriormente por membros do Instituto de Bioquímica. Nos décimos primeiro e segundo cursos introduziram-se a experimentação animal e, de novo, a execução laboratorial.

A avaliação utilizada pretende ser formativa, pela orientação e ajustamentos contínuos da aprendizagem em grupo, pela realização das tarefas programáticas conducentes à sua apresentação escrita e oral, e pela resolução prática do tema de estudo. Com a finalidade de avaliar a mudança de conhecimentos ocorrida nos discentes, em termos de interpretação e aquisição de conceitos, foram efectuados habitualmente, a partir do nono curso dois testes, um no início e outro no fim de cada, cuja identificação fica restrita ao próprio aluno.

Nos quatro últimos cursos introduziu-se o processo de apreciação – avaliação do curso pelos discentes, através de um questionário escrito anónimo, incidindo nomeadamente na organização, material de apoio, conteúdo programático, método de ensino-aprendizagem, interesse suscitado e satisfação de expectativas individuais.

Os cursos têm recebido o patrocínio do Conselho Científico da FML, sendo o aproveitamento do discente certificado por um diploma assinado pelo Presidente do Conselho Científico e pelo Director do Instituto de Bioquímica.

A título de apreciação global, diríamos que os Cursos Livres têm decorrido com sucesso, sendo patente a valorização científica e o interesse manifestado pela maioria dos discentes, muitos dos quais desejaram posteriormente participar em trabalhos de investigação científica desenvolvidos no Instituto de Bioquímica. Apraz registar que alguns desses alunos têm sido galardoados com prémios para jovens investigadores, têm participado como co-autores em diversas reuniões científicas e/ou têm colaborado ou continuam a colaborar na docência, primeiro como voluntários e depois como monitores e assistentes

**I CURSO LIVRE DE BIOQUÍMICA EXPERIMENTAL  
PARA ALUNOS DE MEDICINA**

**CARACTERIZAÇÃO CINÉTICA E MATABÓLICA  
DAS ENZIMAS DA GLICÓLISE ERITROCITÁRIA**

**13-20 Setembro, 1982**

**DOCENTES**

Prof. Doutor J. Martins e Silva  
Eng. Carlota Saldanha (Proença)  
Dr. J. Paulo Barroca  
Dra. M. Helena M. Ribeiro  
Dr. José Nunes  
Dra. Dulce F. Santos

**DISCENTES**

Paulo Jorge Simões dos Reis  
Maria de Fátima dos Santos Pedrosa  
Humberto Augusto Vicente da Rosa  
Paula Cristina dos Santos Soares Gaspar  
Ana Maria Teodoro Servano  
Pedro Manuel Correia Magro  
Isabel Cristina de Carvalho F. Bichão  
Fernanda Maria Marques Branco  
Maria da Graça Antunes Lérias

**PROGRAMA**

**1º DIA**

- Abertura
- “O eritrócito como modelo mais usual de estudos *in vitro*”  
– Prof. J. Martins e Silva
- “Tecnologia e controlo da qualidade”  
– Eng. Carlota Saldanha (Proença)
- Treino laboratorial

**2º DIA**

- “Metabolismo glicolítico eritrocitário”
  - Técnicas de incubação” – Dr. Paulo Barroca
- Preparação do trabalho experimental:
  - Tratamento e preparação das amostras
  - Exposição de material técnico e demonstração (Nucleon)

**3º DIA**

- Trabalho experimental
- Grupos 1, 2 – determinação do consumo de glicose
- Grupo 3 – determinação da produção de lactato

**4º DIA**

- “Tratamento estatístico” – Dr. José Nunes
- Cálculos para a obtenção dos resultados
- Preparação das amostras
- Exposição de material técnico e demonstração (Boehringer Mannheim)

**5º DIA**

- Trabalho experimental
- Grupo 1, 2 determinação da produção de lactato
- Grupo 3 determinação do consumo de glicose

**6º DIA**

- “Genética aplicada” – Dra. Helena Ribeiro
- Cálculos para a obtenção dos resultados por grupo
- Tratamento matemático dos resultados

**7º DIA**

- Apresentação por grupo:
  - Objectivos e conclusões
  - Protocolo de aplicação da metodologia aprendida

**II CURSO LIVRE DE BIOQUÍMICA EXPERIMENTAL  
PARA ALUNOS DE MEDICINA**

**METABOLISMO ENERGÉTICO ERITROCITÁRIO,  
CINÉTICA DA DESIDROGENASE DA GLICOSE-6-FOSFATO  
19-30 Setembro, 1983**

**DOCENTES**

Prof. Doutor J. Martins e Silva  
Eng. Carlota Saldanha (Proença)  
Dr. J. Paulo Barroca  
Dra. M. Helena M. Ribeiro  
Dra. Dulce F. Santos  
Dra. Sandra Marques  
Carlos Moreira

**DISCENTES**

Alexandra Boto Viana Fernandes  
João Paulo de Matos Araújo Guimarães  
Teresa Luísa de Albuquerque M. Quintão  
Maria Joana Mendes G.M. de Alvarenga  
Paulo Oom de Sousa  
Ângela Paula Gomes de Castro Lopes  
Paula Cristina Baptista Machado  
João Manuel Monteiro Silva Castro  
José Manuel de Jesus M.R. Loureiro  
Ilda Margarida dos Santos Costa  
Lucília Maria Martins Andrez

**PROGRAMA**

**1º DIA**

- Abertura
- “O eritrócito como marcador fisiológico?”  
– Prof. J. Martins e Silva
- “Tecnologia e controlo da qualidade”  
– Dra. Sandra Marques
- Treino laboratorial



**2º DIA**

- “Metabolismo glicolítico eritrocitário” – Dr. J.P. Barroca
- Preparação do trabalho experimental
- Tratamento e preparação das amostras

**3º DIA**

- Determinação do consumo de glicose

**4º DIA**

- “Tratamento estatístico dos resultados”  
– Carlos Moreira.
- Preparação das amostras

**5º DIA**

- Determinação da produção de lactato

**6º DIA**

- “Cinética aplicada I” – Dra. Helena Ribeiro
- Determinação dos parâmetros cinéticos da desidrogenase de glicose 6-fosfato

**7º DIA**

- Determinação dos parâmetros cinéticos da desidrogenase de glicose 6-fosfato na presença de inibidores.

**8º DIA**

- “Cinética aplicada II” – Eng<sup>a</sup>. Carlota Saldanha (Proença)
- Elaboração dos relatórios.

**9º DIA**

- Apresentação e discussão dos temas previamente escolhidos
- Apresentação e discussão dos relatórios dos trabalhos experimentais.

**III CURSO LIVRE DE BIOQUÍMICA EXPERIMENTAL  
PARA ALUNOS DE MEDICINA**

**METABOLISMO ENERGÉTICO, MEMBRANA E CINÉTICA  
DA ACETILCOLINESTERASE DO ERITOCITO**

**7-18 Outubro, 1985**

**DOCENTES**

Prof. Doutor J. Martins e Silva  
Eng<sup>a</sup>. Carlota Saldanha  
Dra Ana Machado  
Dra. Helena Ribeiro  
Dra. Dulce Santos  
Dra. Amália Braz Nunes  
Dra. Sandra Marques  
Dr. Carlos Moreira

Alexandra Maria de Oliveira dos Reis Borges  
Maria Expedito Calha Marques Bandeira  
Isabel Maria Mestre Marques Palmeirim  
Domingos António Sebastião  
António Daniel Pedro Soares  
Ana Paula Godinho de Oliveira  
Pedro Jorge Martins Gonçalves  
Maria da Graça Cantante Nogueira  
Rogério Godinho

**PROGRAMA**

**1º DIA**

- Abertura
- Apresentação do material de laboratório e aparelho  
Treino laboratorial

**2º DIA**

- Controlo de qualidade
- Preparação do trabalho experimental. Tratamento e preparação das amostras

**3º DIA**

- “Cinética enzimática”
- Determinação do consumo da glicose

**4º DIA**

- “Bioquímica das membranas”
- Preparação das amostras

**5º DIA**

- Determinação da produção de lactato

**6º DIA**

- Discussão dos trabalhos experimentais
- Doseamento de proteínas

**7º DIA**

- “Fundamentos de electroforese”
- Electroforese – sessão experimental

**8º DIA**

- “Cinética da AChE com inibição”

**9º DIA**

- Cinética do AChE com inibição

**10º DIA**

- Apresentação e discussão dos relatórios dos trabalhos experimentais. Discussão de separatas

**IV CURSO LIVRE DE BIOQUÍMICA EXPERIMENTAL  
PARA ALUNOS DE MEDICINA**

**BIOQUÍMICA DO SANGUE, IDENTIFICAÇÃO  
DE ALGUMAS PROTEÍNAS**

**29 Julho-5 Agosto, 1987**

**DOCENTES**

Prof. Doutor J. Martins e Silva  
Prof.<sup>ª</sup>. Doutora Carlota Saldanha  
Dra. Ana Isabel Santos  
Dra. Manuela Nunes  
Dr. Luís Cardoso

**DISCENTES**

António Manuel Soeiro Nunes  
António João Pereira dos Santos Beirão Amador  
Carla Isabel Esteves Baleiras  
Anabela Margarida Nunes Fernandes Lopes  
Ana Sofia da Conceição Carreira Germano  
Jorge Manuel Damásio de Carvalho  
(Aluno da Faculdade de Ciências, Química)

**PROGRAMA**

**1º DIA**

- Abertura
- Controlo de qualidade.
- Apresentação de material de laboratório e aparelhos.
- Treino laboratorial.

**2º DIA**

- Composição sanguínea.
- Separação dos constituintes sanguíneos.
- Doseamento de hemoglobina (curva de calibração e hematócrito).

**3º DIA**

- “Hemólise e suas características”.
- Determinação da fragilidade osmótica.

**4º DIA**

- “Solubilização dos constituintes da membrana eritrocitária”.
- Preparação das membranas.

**5º DIA**

- “Métodos de doseamento de proteínas”.
- Doseamento das proteínas da membrana eritrocitária (curva de calibração).

**6º DIA**

- “Descrição das proteínas plasmáticas e importância em Medicina”.
- Doseamento de proteínas séricas (curva de calibração).

**7º DIA**

- Fundamentos de electroforese.
- Electroforese das proteínas séricas

**8º DIA**

- Apresentação e discussão dos relatórios dos trabalhos experimentais.
- Discussão de separatas.
- Encerramento.

**V CURSO LIVRE DE BIOQUÍMICA EXPERIMENTAL  
PARA ALUNOS DE MEDICINA**

**RESPIRAÇÃO MITOCONDRIAL  
1-10 Agosto, 1988**

**DOCENTES**

Prof. Doutor J. Martins e Silva  
Profª. Doutora Carlota Saldanha  
Dra. Yolanda Pinto  
Dra. Manuela Nunes  
Dr. Luís Cardoso  
Dr. Carlos Moreira  
Dr. João Paulo Guimarães  
Mário Carreira (como voluntário)

**DISCENTES**

Cláudio Vergílio Antunes David  
Hui Cheng Vai  
Mafalda Sofia Leitão Lucas da Silva  
Maria Gabriela Magalhães Pereira  
Maria João Matos da Encarnação Gomes  
Teresa Maria Ferreira Nunes  
Cristina Maria Ferreira Cristovão  
Cristina Maria Ferreira Brás  
Vitor Manuel Delgado Damásio Oliveira  
Sandra Maria Belo Monteiro Claro

**PROGRAMA**

**1º DIA**

- Abertura
- “Controlo de qualidade”
- Apresentação dos materiais de laboratório e aparelhos.
- “Introdução aos métodos de pesquisa bibliográfica e estudo específico”.  
(aula teórica) Treino laboratorial
- Fornecimento de material de consulta e referências básicas
- “Introdução aos princípios da experimentação”

**2º DIA**

- Utilização de animais de experimentação (escolha, manutenção, manuseamento). Colheita de amostras de tecidos e sangue de animais a utilizar
- Separação de mitocôndrias hepáticas

**3º DIA**

- “Proteínas: métodos de separação e identificação”.
- “Purificação proteica”.
- Determinação da concentração proteica
- Curvas de calibração (com método do biureto).

**4º DIA**

- “Princípio energético da teoria químio-osmótica”
- Preparação de mitocôndrias para determinação do consumo de oxigénio: com substratos e inibidores

**5º DIA/6º DIA**

- Preparação de mitocôndrias para ensaio de fosforilação oxidativa. Acção de dissociadores e inibidores
- Separação de partículas sub-mitocondriais

**7º DIA**

- Enzimas marcadoras de fracções mitocondriais – malato desidrogenase, mono-amina-oxidase.

**8º DIA**

- Apresentação e discussão dos relatórios de trabalho apresentados.
- Encerramento

**VI CURSO LIVRE DE BIOQUÍMICA EXPERIMENTAL  
PARA ALUNOS DE MEDICINA**

**PROTEÍNAS PLASMÁTICAS  
1-9 Agosto, 1 989**

**DOCENTES**

Prof. Doutor J. Martins e Silva  
Prof.<sup>ª</sup>. Doutora Carlota Saldanha  
Dra. Yolanda Pinto  
Dra. Manuela Nunes  
Dr. Luís Cardoso  
Dr. José Loureiro  
Dr. Carlos Moreira

**DISCENTES TUTORES**

Mafalda Lucas  
Fernando Abreu  
Cristina Cristovão  
Teresa Nunes  
Maria João Gomes  
Gabriela Pereira  
Vitor Oliveira  
Isabel Goulão (aluna da Universidade de Toronto)

**DISCENTES**

Carlos Alexandre de Almeida Ramos  
João Paulo do Nascimento Janeiro  
Luís José Morais Sargento  
João Luís Magalhães G.P. Gouveia  
Maria Clara Monteiro Lopes  
Paula Regina Silva Fazendas

**PROGRAMA**

**1<sup>º</sup> DIA**

- Abertura
- “Introdução aos métodos de pesquisa bibliográfica e estudo específico”



- Equipamento e material de uso laboratorial – preparação específica
- Continuação da aula prática
- “Obtenção e tratamento dos resultados experimentais”
- “Caracterização bioquímica e funcional das principais proteínas plasmáticas”

**2º DIA**

- “Caracterização bioquímica e funcional das principais proteínas plasmáticas”
- Filme sobre “Sangue”
- Separação dos constituintes sanguíneos
- Diferenciação do plasma e soro
- Diálise, osmose e pressão oncótica
- Determinação das proteínas totais (método do biureto)

**3º DIA**

- “Métodos de identificação das proteínas e principais fracções plasmáticas”
- Filme sobre electroforese
- Electroforese de proteínas plasmáticas
- Electroforese de lipoproteínas

**4º DIA**

- Ultracentrifugação (vídeo)
- Separação do plasma em fracções por ultracentrifugação
- Imunodifusão radial (fibrinogénio)
- Método de coagulação (fibrinogénio)
- Determinação da viscosidade do plasma e soro
- Determinação da osmolalidade do plasma e soro

**5º DIA**

- Macromoléculas (filme)
- Estudo da variação da viscosidade plasmática em função da temperatura, concentração de proteínas totais e respectivas fracções plasmáticas

**6º DIA**

- Aprendizagem de “Purificação proteica” (vídeo)
- Acção do plasma na formação de rolhões eritrocitários
- Preparação de relatórios

**7º DIA**

- Apresentação e discussão plenária dos resultados dos trabalhos experimentais
- Encerramento

**VII CURSO LIVRE DE BIOQUÍMICA EXPERIMENTAL PARA ALUNOS  
DE MEDICINA**

**É A VELOCIDADE DE HEMÓLISE INFLUENCIADA PELA COMPOSIÇÃO LIPÍDICA GLOBULAR?**

**1-10 Agosto, 1991**

**DOCENTES**

Prof<sup>ª</sup>. Doutora Carlota Saldanha  
Dra. Yolanda Pinto  
Dra. Manuela Nunes  
Dr. Carlos Moreira

**DISCENTES**

Nuno Miguel de Almeida Sousa  
João Eduardo Castro e Campos Brito Subtil  
Luís Filipe Pereira dos Santos Pinheiro  
Rita Manuela Lopes dos Santos

**PROGRAMA**

**1º DIA**

- Abertura
- Revisão teórica:
  - Introdução aos métodos de pesquisa bibliográfica.
  - Princípios básicos sobre metodologia experimental.
  - Filme sobre Sangue
  - Constituintes sanguíneos.
- Experimentação:
  - Diferenciação do plasma e soro.
  - Caracterização das amostras de sangue (esfregaço, hemoglobina e hematócrito).

**2º DIA**

- Revisão teórica:
  - “Mecanismo de hemólise hipotónica”
- Experimentação:

- Enriquecimento de membranas globulares com colesterol.
- Avaliação da velocidade de hemólise de amostras de glóbulos enriquecidos com e sem colesterol.
- Determinação da fragilidade osmótica globular.
- Revisão teórica
  - Noções de solubilização de complexos macromoleculares.
- Experimentação:
  - Início da extracção dos lípidos de membranas eritrocitárias.

### **3º DIA**

- Experimentação:
  - Continuação da extracção dos lípidos de membranas eritrocitárias.
  - Determinação quantitativa do conteúdo em fosfolípidos e colesterol dos extractos lipídicos obtidos de glóbulos enriquecidos e não enriquecidos com colesterol
  - Separação das várias classes de fosfolípidos, nos extractos lipídicos obtidos por TLC.

### **4º DIA**

- Revisão teórica:
  - Classificação de formas globulares.
- Experimentação:
  - Identificação e determinação semiquantitativa das diferentes classes de fosfolípidos nos extractos lipídicos obtidos de glóbulos enriquecidos e não enriquecidos com colesterol.
- Coloração de esfregaços.

### **5º /6º DIA**

- Revisão teórica:
  - Aplicação da análise gráfica da cinética enzimática ao cálculo da velocidade e tempo de hemólise.
- Experimentação:
  - Observação microscópica dos esfregaços obtidos.
  - Análise gráfica
  - Integração dos cromatogramas.

### **7º DIA**

- Revisão teórica:
  - Análise estatística
- Experimentação:
  - Apresentação e análise dos resultados dos trabalhos experimentais.

### **8º DIA**

- Entrega do relatório e discussão oral dos resultados obtidos.
- Encerramento.

**VIII CURSO LIVRE DE BIOQUÍMICA EXPERIMENTAL  
PARA ALUNOS DE MEDICINA**

**“FORMAÇÃO DE TUTORES”  
Outubro 1991 a Maio 1993**

**DOCENTES**

Prof<sup>ª</sup>. Carlota Saldanha

**DISCENTES**

Ana Lúcia Carvalho F. Pina  
Paulo Jorge Marcelino Serrano Alegria  
Ana Cristina Van C. Peres Cordeiro  
Milena Sofia Mendes da Silva Pinto Mendes  
Ana Cristina Mendes  
Jorge Manuel Rodrigues Maia Alcaravela  
Sandra Cláudia Morgado  
Sandra de Jesus Reis Faias  
Pedro Miguel Abrantes Antas de Barros  
Carla Cristina Clemente Rodrigues Pinto  
Isabel Cristina Gonçalves Simões  
Maria Leonor Correia Guedes  
Maria Teresa Prates Lopes da Neta  
Sandra Maria Maurício Hilário  
Ricardo Martins Freire  
Sandra Afonso André  
Pedro Miguel Gonçalves Pessegueiro  
Sofia Azambuja Duarte Santos  
Ana Margarete Morais Mendes

**PROGRAMA**

**Época de Maio e Junho**

**1.º MÓDULO**

- Pesagem e Pipetagem

**Palavras-chave** – balança, sílica gel, espátula, esguicho, parafilme, água destilada, agitador magnético, pipeta automática, pipeta de escoamento total,

“pompete”, balão volumétrico, proveta, funil, vidro de relógio, hote, substância volátil, substância higroscópica, solução, solução saturada.

**Objectivos específicos** – pipetar e pesar correctamente, resolução de problemas de concentração.

## 2º MÓDULO

• Centrifugação, Potenciometria, Osmometria

**Palavras-chave** – centrífuga, potenciómetro, lavagem de glóbulos vermelhos, plasma, soro, anticoagulante, “buffy coat”, plaquetas, leucócitos, isotónico, osmómetro, tampão, pKa, poder tampão, equação de Henderson-Hasselbach.

**Objectivos específicos** – centrifugar e preparar soluções correctamente; resolução de problemas de equilíbrio proteico e de equilíbrio ácido-base; interpretação do mecanismo de hemólise.

## 3º MÓDULO

• Espectrofotometria

**Palavras-chave** – espectrofotómetro, lei de Beer, concentração molar, coeficiente de extinção molar, espectro, comprimento de onda, percurso óptico, absorvância, densidade óptica, transmitância, factor de conversão, coeficiente de absorção, hemoglobina, metahemoglobina, carboxi-hemoglobina, cianmetahemoglobina.

**Objectivos específicos** – significado de curva de calibração; significado do fundamento da metodologia experimental

## 4º MÓDULO

• Determinação da concentração de hemoglobina de uma amostra de sangue

**Palavras-chave** – precisão, exactidão, reprodutibilidade

**Objectivos específicos** – execução de metodologia com rigor; interpretação e discussão de resultados; elaboração de um relatório.

## Época de Setembro – Outubro

## 5º/6º MÓDULO

• Cinética enzimática da hexocinase – influência do pH nos parâmetros cinéticos

**Palavras-chave** – hexocinase, produto, substrato, enzima, coenzima, velocidade máxima, constante de afinidade da enzima para o substrato.

**Objectivos específicos** – manipulação e simulação experimental de conceitos teóricos de cinética enzimática; interpretação e discussão de resultados; elaboração de um relatório

## 7º MÓDULO

• Ensaio de uma aula prática no local próprio das futuras aulas práticas

**Objectivos específicos** – adaptação dos discentes às futuras instalações onde decorrerão as aulas práticas de Bioquímica.

**IX CURSO LIVRE DE BIOQUÍMICA EXPERIMENTAL  
PARA ALUNOS DE MEDICINA**

**1º CURSO DE INICIAÇÃO À INVESTIGAÇÃO CIENTÍFICA  
3-14 Outubro, 1994**

**DOCENTES**

Prof. Doutor J. Martins e Silva  
Profa. Doutora Carlota Saldanha  
Prof. Doutor A.J.C. Laureano Santos  
Dr. Alexandre Mendonça  
Prof. Doutor J. Carvalho de Sousa  
Doutor Madeira Lopes  
Dr. J. Pereira da Silva  
Dr. João Paulo Guimarães  
Dra. Elsa Branco  
Dra. Teresa Quintão  
Dr. João Paulo Janeiro  
Dr. Luís Sargento

**DISCENTES**

Maria Isabel de Oliveira Margarida Gonçalves  
Sónia Luísa Pimentel Marques Dias  
Anabela Alves Barbosa  
Rui Francisco dos Santos Mesquita  
Filipe Miguel da Glória e Silva  
Bruno Miguel Santiago  
Sandra Afonso André  
Carla Cristina Clemente Rodrigues Pinto  
Sandra Maria Maurício Hilário  
Sandra Cláudia Morgado  
Ana Cristina Mendes  
Maria Teresa Prates Lopes da Neta  
Sandra de Jesus Reis Faias  
Maria Leonor Correia Guedes

**PROGRAMA****1º DIA**

- “Apresentação do programa do Curso e distribuição dos Projectos de Investigação” – Prof<sup>ª</sup>. Doutora Carlota Saldanha
- Pesquisa Bibliográfica
- “Investigação Animal” – Dr. João Paulo Guimarães

**2º DIA**

- “Investigação Fundamental e Aplicada” – Dr. Pereira da Silva
- Organização da Pesquisa Bibliográfica

**3º DIA**

- Definição das Metodologias e Estruturação dos Ensaios
- “Processos em Biologia e Alguns Conceitos Abrangentes” – Doutor A. Madeira Lopes

**4º DIA**

- “Padronização e Controlo dos Métodos Laboratoriais” – Prof. Doutor Carvalho de Sousa
- Organização dos Resultados

**5º DIA**

- “A Estatística e a Investigação Clínica” – Prof. Doutor Laureano Santos
- Organização dos Resultados

**6º DIA**

- “Cultura de Tecidos” – Prof. Fernando Vale
- “Aplicação da Análise Estatística dos Resultados”

**7º DIA**

- Aplicação da Análise Estatística dos Resultados

**8º DIA**

- “Ensaio Clínicos” – Dr. Alexandre Mendonça
- Discussão dos Resultados

**9º DIA**

- Apresentação Oral dos Projectos
- Encerramento do Curso

**X CURSO LIVRE DE BIOQUÍMICA EXPERIMENTAL  
PARA ALUNOS DE MEDICINA**

**2o CURSO DE INICIAÇÃO À INVESTIGAÇÃO CIENTÍFICA  
2-12 Outubro, 1995**

**DOCENTES**

Prof<sup>ª</sup>. Doutora Carlota Saldanha  
Doutor A. Madeira Lopes  
Prof. Doutor Laureano Santos  
Prof. Doutor A. Vaz Carneiro  
Prof. Doutor J. Carvalho de Sousa  
Dr. João Paulo Guimarães  
Prof. Doutor Fernando Vale  
Prof. Doutor J. Ribeiro da Silva  
Prof. Doutor Virgílio Durão

**DOCENTES CONVIDADA**

Rosário Leitão (Instituto Luso-Fármaco)

**DISCENTES TUTORES**

Sandra Hilário  
Pedro Pessegueiro  
Rui Mesquita  
Sónia Dias  
Isabel Gonçalves

**DISCENTES**

Duarte Dório Freitas  
Manuel Augusto Martins Moreira  
Pedro Miguel Santos Ferreira  
Susana Paula Capela  
Ana Rita Peralta  
Maria Cristina Neves  
Helena Proença  
Inês Pereira



Paula Esteves da Silva  
Ruth Geraldés  
Ana Paula Silva  
Carla Sofia Duarte Silva  
Filipe José Seixo  
Marco António Franco Ferreira  
Tânia Lourenço  
Terezinha Costa  
Gonçalo Melo  
Joana Carneiro  
Liliana Cristina Dias  
Maria Emília Vitorino  
Sónia Margarida de Oliveira  
Diogo Libano Monteiro  
Gonçalo Esteves  
Ana Vasconcelos Dias

## **PROGRAMA**

### **1º DIA**

- “Apresentação do Programa do Curso e Distribuição dos Projectos de Investigação” – Prof<sup>a</sup>. Doutora Carlota Saldanha
- Pesquisa Bibliográfica
- “Processos em Biologia e Alguns Conceitos Abrangentes” – Doutor A. Madeira Lopes

### **2º DIA**

- “A Estatística e a Investigação Clínica” – Prof. Doutor Laureano Santos
- Organização da Pesquisa Bibliográfica

### **3º DIA**

- Definição das Metodologias e Estruturação dos Ensaios
- “Investigação Fundamental e Aplicada” – Prof. Doutor A. Vaz Carneiro

### **4º DIA**

- “Padronização e Controlo dos Métodos Laboratoriais” – Prof. Doutor J. Carvalho de Sousa
- Organização dos Resultados

### **5º DIA**

- Investigação Animal – Dr. João Paulo Guimarães
- Organização dos Resultados
- Aplicação de Análise Estatística aos Resultados

### **6º DIA**

- “Cultura de Tecidos” – Prof. Doutor Fernando Vale

- Técnicas de Documentação e Informação Científica – (Instituto Luso Fár-maco – D. Rosário Leitão)
- “Experiência Pedagógica – Sandra Hilário, Pedro Pessegueiro

**7º DIA**

- Aplicação de Análise Estatística aos Resultados
- “Acção do Etanol na Membrana Eritrocitária
- Estudo “*In vitro*”. – Rui Mesquita, Sónia Dias, Isabel Gonçalves
- “Ética e Investigação” – Prof. Doutor J. Ribeiro da Silva
- Discussão dos Resultados

**8º DIA**

- “Ensaio Clínicos” – Prof. Doutor Virgílio Durão
- Apresentação Oral dos Projectos
- Encerramento do Curso: Avaliação do Curso com Debate

**XI CURSO LIVRE DE BIOQUÍMICA EXPERIMENTAL  
PARA ALUNOS DE MEDICINA**

**3º CURSO DE INICIAÇÃO À INVESTIGAÇÃO CIENTÍFICA  
7-16 Outubro, 1996**

**DOCENTES**

Prof<sup>ª</sup>. Doutora Carlota Saldanha  
Dr. Oliveira Marques  
Dr. António Ruivo  
Doutor A. Madeira Lopes  
Profa. Doutora Isabel Neto  
Profa. Doutora Isabel Margarida Ribeiro  
Profa. Doutora Isabel Júlio  
Dra Leyre Zabala  
Dr. João Paulo Guimarães  
Dr. Victor Oliveira  
Prof. Doutor Laureano Santos  
Prof. Doutor A. Vaz Carneiro  
Prof. Doutor J. Carvalho de Sousa  
Prof. Doutor Fernando Vale  
Prof. Doutor H. Bicha Castelo  
Dr. Henrique Sobral do Rosário  
Dr. Jorge Lima  
Dra. Isabel Goulão

**DISCENTES TUTORES**

Sónia Dias  
Rui Mesquita

**DISCENTES**

Pedro Fernando Moura Ramos  
Luís Miguel Cláudio Canelas  
Maria João Fidalgo M. Ramalhete  
Márcio César Lino Ribeiro Navalho  
Marta Ferreira Marquês  
Susana Isabel Domingos da Piedade  
Joana Inês de Sousa Santos Ruivo  
Sandra Pinheiro Garcês  
Isadora Alexandra da Luz Rosa

Ana Cristina Araújo Pinheiro  
Filipa Todo Bom Monteiro

## **PROGRAMA**

### **1º DIA**

- “Apresentação do Programa do Curso” – Prof<sup>ª</sup>. Doutora Carlota Saldanha
- Pancreatectomia – Dr. Oliveira Marques, Dr. António Ruivo
- “Laboratório – Manipulação de amostras”. Definição das Metodologias e Estruturação dos Ensaios

### **2º DIA**

- “Processos em Biologia e Alguns Conceitos Abrangentes” – Doutor A. Madeira Lopes
- Laboratório
- “Bioquímica da Diabetes” – Prof<sup>ª</sup>. Doutora Isabel Neto, Dr. João Paulo Guimarães

### **3º DIA**

- Laboratório
- “Ensaio Terapêuticos” – Dr. Victor Oliveira
- “A Estatística e a Investigação Clínica” – Prof. Doutor Laureano Santos

### **4º DIA**

- Laboratório
- “Investigação Fundamental e Aplicada” – Prof. Doutor A. Vaz Carneiro
- Técnicas de Documentação e Informação Científica (Instituto Luso-Fármaco – D. Rosário Leitão)

### **5º DIA**

- “Padronização e Controlo dos Métodos Laboratoriais – Prof. Doutor J. Carvalho de Sousa
- Laboratório
- “Cultura de Tecidos” – Prof. Doutor Fernando Vale

### **6º DIA**

- Laboratório
- “Experimentação Animal” – Prof. Doutor H. Bicha Castelo
- Organização dos Resultados
- Aplicação de Análise Estatística aos Resultados

### **7º DIA**

- Laboratório
- Organização dos Resultados

### **8º DIA**

- Apresentação Oral dos Trabalhos
- Encerramento do Curso: Avaliação do Curso com Debate

**XII CURSO LIVRE DE BIOQUÍMICA EXPERIMENTAL  
PARA ALUNOS DE MEDICINA**

**4º CURSO DE INICIAÇÃO À INVESTIGAÇÃO CIENTÍFICA  
22 Setembro a Outubro, 1997**

**DOCENTES**

Prof. Doutor João Lobo Antunes  
Prof.<sup>ª</sup>. Doutora Carlota Saldanha  
Dr. António Ruivo  
Prof.<sup>ª</sup>. Doutora Isabel Júlio  
Prof.<sup>ª</sup>. Doutora Luísa Granadeiro  
Dra. Ana Lacerda  
Prof. Doutor Laureano Santos  
Prof. Doutor Fernando Vale  
Dr. João Paulo Guimarães  
Dr. Victor Oliveira  
Prof. Doutor A. Vaz Carneiro  
Prof. Doutor J. Gomes Pedro  
Prof. Doutor Fausto J. Pinto  
Prof. Doutor H. Bicha Castelo

**DOCENTES CONVIDADA**

Rosário Leitão (Instituto Luso-Fármaco)

**DISCENTES TUTORES**

Pedro Pessegueiro  
Isabel Gonçalves  
Rui Mesquita

**JOVENS INVESTIGADORES**

Susana Capela  
Márcio Navalho

**DISCENTES**

Amílcar Silva dos Santos  
Eunice Moreira dos Santos Guerra

Liliana Salomé S.B. de Almeida Santos  
Maria José Pereira C. de Frias Loureiro  
João Pedro Isidoro Colaço  
Ricardo Miguel Ribeiro M. Cunha Fernandes  
Pedro Bruno Grilo de Castro Figueiredo  
Tiago Alexandre Mestre  
Rita Alexandra Moiron Valério Simões  
Tiago Ramos Alegre Branco

## **PROGRAMA**

### **1º DIA**

- “O que eu aprendi no Laboratório” – Prof. Doutor João Lobo Antunes
- “Características do XII Curso Experimental de Bioquímica” – Prof.<sup>a</sup>. Doutora Carlota Saldanha
- Pancreatectomia – Dr. António Ruivo
- Laboratório
- “Definição da Metodologia e Estrutura dos Ensaios” – Prof.<sup>as</sup> Douloras Isabel Júlio e Luísa Granadeiro

### **2º DIA**

- “Controlo de Qualidade” – Dra. Ana Lacerda
- Laboratório
- “A Experiência do Jovem Investigador” – Jovens Investigadores: Susana Capela e Márcio Navalho
- Pesquisa Bibliográfica – Instituto Luso-Fármaco – D. Rosário Leitão

### **3º DIA**

- Laboratório
- Pesquisa Bibliográfica – Biblioteca da Faculdade de Medicina de Lisboa  
Tutores: Isabel Gonçalves e Rui Mesquita
- Pesquisa Bibliográfica
- Organização e Discussão da Pesquisa Bibliográfica

### **4º DIA**

- “Estatística” – Prof. Doutor Laureano Santos
- Laboratório
- “Estatística” – Prof. Doutor Laureano Santos

### **5º DIA**

- “Cultura de Tecidos” – Prof. Doutor Fernando Vale
- Laboratório
- Organização dos Resultados

### **6º DIA**

- “Microalbuminúria e Diabetes” – Dr. João Paulo Guimarães

- Laboratório
- Aplicação de Análise Estatística aos Resultados

**7º DIA**

- “Ensaio Terapêuticos” – Dr. Victor Oliveira
- Laboratório
- “Investigação Fundamental e Aplicada” – Prof. Doutor A. Vaz Carneiro
- Discussão dos Resultados

**8º DIA**

- “Investigação em Comportamento Humano” – Prof. Doutor J. Gomes Pedro
- Laboratório
- “Experimentação Animal” – Prof. Doutor Fausto J. Pinto
- Preparação da Comunicação Oral

**9º DIA**

- “A Prática Cirúrgica Integrada na Unidade de Investigação” – Prof. Doutor H. Bicha Castelo
- Apresentação Oral – “Repercussões Bioquímicas da Pancreatectomia”
- Encerramento do Curso: Avaliação do Curso com Debate.

**Agradecimentos**

É-nos grato destacar e agradecer o apoio constante possibilitado pelas Bibliotecas da FML e do Instituto Luso-Fármaco (actualmente Smith Kline Beecham).

Agradecemos ainda o apoio pontual do Serviço de Educação da Fundação Calouste Gulbenkian e de algumas firmas da indústria farmacêutica e de equipamento de laboratório, nomeadamente Ferraz Lynce, Socilda, Nucleon, Boehringer Mannheim e Tecnifar.

Queremos salientar o apoio de secretariado em cada um dos Cursos e no tratamento de texto desta colectânea, recebido da Sra. D. Emília Alves, a que muito agradecemos.

Queremos também agradecer à Sra. D. Celeste e Ana Cristina Sá pelo apoio recebido nos últimos dois cursos coadjuvando o secretariado.





**Seminários pré-graduados de bioquímica:  
uma proposta didáctica para melhorar a interacção intra  
e interdisciplinar no curso de medicina**

*C. Saldanha, J. Martins e Silva*

**Introdução**

O objectivo final do ensino de Bioquímica no Curso de Medicina é o de contribuir para a competência do futuro médico, constituindo o conhecimento da Bioquímica um meio (em conjunto com o das outras disciplinas) para atingir um fim, a formação médica (1).

Para a efectivação dos objectivos educacionais gerais é indispensável o envolvimento de docentes e discentes, e a interacção mútua sobre o elemento comum – o conteúdo científico da disciplina de Bioquímica.

Pretende-se que o conteúdo programático, metodologias apropriadas e docentes motivados possam desenvolver nos discentes autoconfiança, ponderação, humildade científica, espírito de iniciativa, capacidades para estabelecer estratégias, de relacionamento, auto-aprendizagem e estruturação do conhecimento.

Neste aspecto, adquire relevo a preparação para adquirir informação útil, para a aplicar posteriormente na resolução de problemas e na elaboração de raciocínios conducentes à criatividade, a aquisição de novos conhecimentos (pelo desenvolvimento da capacidade de análise, espírito crítico e síntese de conhecimentos) e a propostas de novas hipóteses racionais.

No processo do ensino orientado para o aluno, que se desenrola a par do treino de auto-aprendizagem, é indispensável o docente actuar como facilitador e estimulador da aprendizagem, em particular no primeiro ano do Curso de Medicina, quando os discentes transitam entre dois modelos educacionais diferentes, normalmente em idades de ajustamento de personalidade (2). Nesta fase, deve o docente escolher, organizar conhecimentos e informações pertinentes, impulsionar e encorajar os discentes, reduzir-lhes os conflitos e

frustrações, dar resposta aos seus esforços e resultados da aprendizagem (3).

As experiências que possam ser desenvolvidas sobre metodologias de ensino são potencialmente vantajosas, ao possibilitarem o ensaio de condições alternativas a transmissão dos conhecimentos e a sua apreensão pelo discente. Há oportunidade para o desenvolvimento de diferentes aproximações de ensino, que fortaleçam a capacidade de diálogo docente/discente e exercitem as aptidões pedagógicas do docente.

Nesse propósito, decidimos organizar no ano lectivo de 1989/90 os primeiros Seminários Pré-graduados de Bioquímica, como vertente metodológica adicional do ensino de Bioquímica, que se manteve nos anos seguintes. Além de se objectivar uma melhoria do processo de ensino-aprendizagem da matéria nuclear, pretende-se acentuar a pertinência desses conhecimentos, numa perspectiva médica.

Os Seminários Pré-graduados de Bioquímica constituíram-se numa oportunidade para a interpretação Bioquímica de situações clínicas comuns, em colaboração interdisciplinar.

### **Características dos seminários pré-graduados de bioquímica**

Os Seminários Pré-graduados de Bioquímica (SPGB) têm constituído uma metodologia de ensino e aprendizagem habitual no ensino da Bioquímica do 1º ano do Curso<sup>1</sup>. Entre os anos lectivos de 1989/90 e 1994/95 foram realizados 18 Seminários de natureza multidisciplinar em que se perspectivou a aplicação dos conhecimentos de Bioquímica (do programa da disciplina) a situações clínicas cuidadosamente seleccionadas. Os SPGB destinados aos alunos do 1º ano tiveram em geral a duração de 3 horas, sendo cada sessão subdividida em duas partes consecutivas, a primeira incluindo a apresentação do problema ou temática, sendo a segunda parte reservada para o respectivo debate aberto. A natureza do tema determinou a metodologia dos trabalhos de cada Seminário. Em alguns casos, a análise Bioquímica precedeu a apresentação clínica, e noutros sucedeu o inverso. Na generalidade dos casos, a apresentação da situação clínica foi realizada por docentes de áreas clínicas com experiência no problema, por anuência expressa do respectivo coordenador académico.

Participaram ainda docentes de outras áreas básicas, monitores e alunos de outros anos do Curso de Medicina. Os meios audiovisuais utilizados foram, na generalidade, vídeo, filme, projecção de diapositivos e de transparências.

Os discentes eram informados, com antecedência suficiente, do tema de cada SPGB, sendo-lhes fornecida no próprio dia a documentação respectiva,

---

<sup>1</sup> Os Seminários Pré-graduados foram incluídos também no Programa de Química Fisiológica a partir do ano lectivo de 1994/95.

da qual constava o sumário, objectivos, descrição dos casos clínicos, palavras-chave e glossário da temática que lhes era desconhecida.

Os Seminários incluíram avaliação de conhecimentos através de dois testes de resposta múltipla, um realizado no início (teste diagnóstico) e outro no fim do Seminário (teste sumativo). Apenas a classificação obtida no teste sumativo era incluída (com factor de ponderação) no cálculo da classificação final da disciplina de Bioquímica.

**Quadro I – Temática dos Seminários Pré-graduados e das respectivas áreas científicas, básicas e clínicas**

Ano lectivo	Temática
1988/89	Desidrogenase da Glicose-6-Fosfato
1989/90	Enzimologia em Medicina
1989/90	Patologia Molecular da Hemoglobina
1989/90	Obesidade
1990/91	Resposta Imunitária
1990/91	Receptores de Acetilcolina e Patologias Associadas
1990/91	Diabetes
1990/91	Aspectos Bioquímicos e Clínicos da Fenilcetonúria
1991/92	Aspectos Bioquímicos e Clínicos da Malária
1991/92	Aspectos Bioquímicos e Clínicos da Insuficiência Respiratória
1993/94	Hemoglobinas normais e anormais – Drepanocitose
1993/94	Membranas Celulares – Etanol e Alcoolismo
1993/94	Caquexia Tumoral
1993/94	Aterosclerose e Hiperlipidémias
1994/95	Hemoglobinas normais e anormais – Drepanocitose
1994/95	Isquémia do Miocárdio
1994/95	Bioquímica das Hepatopatias
1994/95	Bioquímica da Insuficiência Renal

Em todos os Seminários, os resultados da avaliação sumativa atingiram a classificação de “muito bom” (90-100% dos alunos). Os estudantes, na generalidade, participaram com entusiasmo, intervindo com questões a propósito dos casos clínicos.

Os resultados favoráveis da apreciação qualitativa destes acontecimentos justificam que se considere os Seminários Pré-graduados de Bioquímica uma modalidade de interesse pedagógico para todos os intervenientes, discentes e docentes das disciplinas envolvidas.

Acresce ainda que esta experiência pedagógica e metodológica de ensino se afigurou estimulante para os discentes, pela oportunidade de assistirem ao exemplo e grau de evolução científica já patenteada pelos colegas dos anos mais avançados do Curso de Medicina, alguns dos quais com intervenção docente nos Seminários.

### Conclusões

Os SPGB, introduzidos a título experimental no programa do ano lectivo 1989/90, foram bem aceites pelos alunos e revelaram utilidade didáctica, justificando a sua continuidade nos anos lectivos seguintes.

Os discentes do 1<sup>o</sup> ano dos anos lectivos de 1989/90 até 1994/95 participaram nos Seminários Pré-graduados com entusiasmo e aproveitamento, demonstrando particular interesse pela interpretação bioquímica das situações clínicas que fundamentavam a temática de cada Seminário.

Os Seminários revelaram-se (i) uma oportunidade para os alunos, numa fase incipiente do Curso de Medicina, poderem compreender a inter-relação dos conhecimentos das ciências básicas com aplicação na área clínica, e (ii) um espaço para partilhar experiências didácticas e pedagógicas entre docentes de áreas científicas e profissionais diferentes.

Seminários deste tipo serão úteis para o desenvolvimento da integração horizontal e vertical do ensino e aprendizagem das várias disciplinas do Curso de Medicina.

### Agradecimentos

Os autores, pelo Instituto de Bioquímica, agradecem a inestimável colaboração docente que concederam em um ou mais Seminários, a: Dra. Ana Paula Alcântara, Prof. Doutor A. Bugalho de Almeida, Prof. Doutor Francisco Antunes, Prof. Doutor José Barbas, Prof. Doutor Manuel Barbosa, Dr. Joaquim Bastardo, Dr. Aguinaldo Cabral, Dra. Isabel do Carmo, Dr. Mário Carreira, Dra. Maria João Costa, Prof. Doutor J. Melo Cristino, Dra. Maria José Ferreira, Dra. Teresa Fonseca, Dra. Maria João Gomes, Dr. Fernando M. Gonçalves, Dra. Isabel Goulão, Dr. João Paulo Guimarães, Dra. Rosa Estrela B. Inácio, Dr. João Paulo Janeiro, Dr. Jorge Lima, Prof. Doutor Pedro Eurico Lisboa, Dra. Clara Lopes, Dr. José Loureiro, Dr. Alexandre Mendonça, Dr. Peixoto de Meneses, Dra. Maria I. Pires de Miranda, Dr. Carlos Moreira, Dr. Fernando Morgado, Sandra Morgado, Dra. Paula Mota, Dra. Manuela Nunes, Dra. Filomena Pereira, Dra. Gabriela Pereira, Prof. Doutor Armando Pereirinha, Ana Lúcia Pina, Dra. Yolanda Pinto, Dra. Teresa Quintão, Dr. Miguel Raimundo, Dra. Maria do Rosário Rosa, Dr. Henrique Sobral do Rosário, Dra. Luísa Sagreiro, Dr. Luís Sargento, Dr. Luís Tavares e Prof. Doutor José Fernando Freitas Velosa.

Os autores agradecem à Sr<sup>a</sup>. D. Celeste Fernandes a eficiente preparação dactilográfica do texto.

**Bibliografia**

1. Martins e Silva J – Relevância da Bioquímica no *curriculum médico*. Ensaio sobre a educação médica e a sua dependência da investigação e ciências experimentais. J. Soc. Ciên. Méd. Lisboa 1984; CXLVIII: 81-94.
2. Van Winkle LJ – Assault on student's development: the basic sciences in medical education. *Biochem Educ* 1989; 17: 29-31.
3. Vella F – Editorial: To arouse an energy-dependent transport process. *Biochem Educ* 1985; 13:1



## Seminários Multidisciplinares de Bioquímica (1989/90-2006-07)

*J. Martins e Silva, Carlota Saldanha*

### **Introdução**

1. São apresentados os resumos das intervenções que constituíram o programa de alguns dos Seminários Multidisciplinares realizados entre 1989 e 1996 pelo Instituto de Bioquímica, no âmbito das disciplinas de Bioquímica (designada por Bioquímica Celular depois de 1994) e de Bioquímica Fisiológica do curso de licenciatura em Medicina, da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

Na Parte A estão incluídos alguns dos Seminários de Bioquímica/Bioquímica Celular realizados entre 1989 e 1996.

Na Parte B são reunidos alguns dos Seminários incluídos no programa de Bioquímica Fisiológica, de 1994/95 a 2004/05. Os restantes Seminários realizados em cada Parte foram omitidos por os respectivos conteúdos serem incompletos ou semelhantes a outros realizados sob a mesma temática (vide listagem sectorial).

São mencionados todos os prelectores e colaboradores que participaram no conjunto dos Seminários realizados pelas duas disciplinas.

2. A génese dos Seminários Multidisciplinares resultou de uma orientação pedagógica da regência da disciplina de Bioquímica decidiu iniciar no ano lectivo de 1989/90.

Entre os objectivos pedagógicos definidos para o ensino-aprendizagem daquela disciplina destacava-se a pretensão de enquadrar os conteúdos fundamentais do programa num contexto de aplicação médica, recorrendo para tal a exemplos simples mas representativos de problemas clínicos comuns, habitualmente evocados durante as actividades lectivas. Porém, afigurava-se desejável desenvolver um pouco mais aquela interacção de

conhecimentos. Com essa finalidade foi perspectivada a organização dos Seminários Multidisciplinares, em que uma determinada situação clínica era contextualizada num cenário inteligível por alunos do 1º ano do curso, tendo por apresentadores convidados médicos, além de docentes de Bioquímica destacados para estabelecer uma ponte de contacto com a matéria da disciplina. Por fim, era intenção principal que o tema de cada Seminário não se limitasse a uma sequência de apresentações teóricas por diversos intervenientes mas ainda representasse um espaço aberto para debate informal entre os docentes e os alunos do curso. A interacção aluno-docente constituía um factor essencial para os objectivos pedagógicos perspectivados. Neste propósito entendeu-se que a intervenção de alunos de anos mais adiantados que participavam voluntariamente nas actividades académicas do Instituto representaria um contributo positivo adicional. Foi entusiasmante e muito grato para nós a evolução de alguns destes estudantes que, anos depois, já médicos no Internato de Especialidade, continuavam a dar a sua colaboração entusiástica a este projecto.

Tendo em atenção os factores considerados e as limitações de escolaridade ou de disponibilidade de alunos e docentes, foi decidido organizar pelo menos um Seminário Multidisciplinar em ano lectivo. Considerando o conteúdo e metodologias a utilizar, cada sessão decorreu num período alargado entre três a quatro horas no período da manhã, em horário adequado à generalidade dos participantes. Podiam aceder às sessões também alunos de outros anos.

Na generalidade, os objectivos estabelecidos foram atingidos. Os alunos participaram maciçamente nas sessões, não hesitando a colocar questões pertinentes aos prelectores convidados, em particular quando o assunto abrangia conteúdos especificamente clínicos.

3. Seminários de Bioquímica Fisiológica – A curiosidade pelo conhecimento concreto representou a alavanca motivadora para uma mais intensa aplicação dos discentes ao estudo da Bioquímica no curso de Medicina. Adicionalmente, a experiência pedagógica adquirida ao longo do período abrangido, permitiu colher ideias para a re-organização do programa da disciplina de Bioquímica Fisiológica a partir de 1994. As aulas teórico-práticas desta disciplina foram progressivamente esquematizadas com base em problemas de aplicação clínica ou experimental, de modo a que os alunos aprendessem a solucioná-los, fundamentando-se em conhecimentos teóricos pré-adquiridos ou pesquisando a literatura por palavras-chave. Posteriormente, o programa daquela disciplina passou também a incluir seminários temáticos com objectivos e orientações semelhantes aos da Bioquímica Celular, embora com algumas variantes quanto aos prelectores. Num dos modelos a apresentação do tema e a dinamização da sessão ficava a cargo somente de um dos docentes médicos da disciplina, enquanto no outro era convidado um docente da clínica para coordenar o tema, junta-



mente com os demais docentes ou alunos estagiários de Bioquímica Fisiológica. À medida que o programa de Bioquímica Fisiológica incluía sistematicamente exemplos de aplicação clínica, com constante interacção docente-discente, concluiu-se que era redundante prosseguir com os Seminários específicos da disciplina, pelo que cessaram a partir de 1999/2000.

A integração interdisciplinar era um dos objectivos recomendados pela Comissão de Revisão Curricular da FML. Para se ensaiar aquele projecto de integração do ensino, foi proposto começar pela realização de seminários multidisciplinares no 2º ano, seleccionando conteúdos específicos afins das quatro disciplinas (Bioquímica Fisiológica, Fisiologia II, Histologia-Embriologia e Neuroanatomia), com o acordo dos respectivos regentes. Para coordenar cada seminário era convidado um docente clínico escolhido consensualmente pelos responsáveis daquelas.

Para que o modelo tivesse sucesso havia que seleccionar cuidadosamente temas complementares àquelas disciplinas. Em segundo lugar, a planificação de cada sessão (uma ou mais em cada ano) requeria a definição prévia da equipa de prelectores (somente docentes), que deveriam reunir-se com o coordenador clínico as vezes necessárias para definirem um *guião* sequencial da sessão. Por fim, restava a importante questão de decidir sobre a inclusão dos temas dos seminários interdisciplinares no sistema de avaliação de todas as disciplinas.

Esta iniciativa, desenvolvida durante dois anos lectivos, veio a revelar problemas de articulação e implantação (em particular, por ser difícil reunir previamente todos os docentes escalonados das diversas disciplinas nas reuniões de preparação e, ainda, por não ter sido conclusiva a inclusão de questões multidisciplinares na avaliação de cada disciplina). Assim, a tentativa de integração interdisciplinar foi interrompida a partir de 2002/03.

**Conclusões** – As evidentes vantagens pedagógicas, directas e indirectas, a par da entusiástica participação que tiveram por parte dos alunos, e a pronta colaboração que obtiveram de docentes e médicos hospitalares de várias instituições, permitiram concluir que a iniciativa possuía valor pedagógico, muito especialmente em Bioquímica Celular.

Num plano mais lato os resultados daquela nova dinâmica incitaram a uma mudança progressiva na metodologia de ensino-aprendizagem de Bioquímica em Medicina. Mais do que uma sequência de capítulos descritivos que conferem por si um grande peso ao ensino teórico, ficou demonstrado, ao longo dos cursos que incluíam exemplos de aplicação clínica de aspectos específicos da matéria, e problemas que contextualizavam situações médicas ou biomédicas cuidadosamente escolhidas, que o conteúdo das duas disciplinas de Bioquímica se tornava mais atractivo e de mais fácil aprendizagem pelos alunos.



1ª PARTE

Seminários de Bioquímica Celular  
(1989-1996)



## ÍNDICE

### Parte A – Seminários realizados de Bioquímica Celular

Ano lectivo	Sequência	Temática	Data
1989/90	I	Desidrogenase da Glicose 6-fosfato	11/Março/1989
1989/90	II	Enzimologia em Medicina	3/Março/1990
	III	Patologia Molecular da Hemoglobina	17/Março/1990
	IV	Obesidade – da Bioquímica à Clínica	24/Março/1990
1990/91	V	Resposta Imunitária – Perspectivas Bioquímicas Fisiopatológicas e Clínicas	5/Janeiro/1991
	VI	Receptores de Acetilcolina e Patologias Associadas	12/Janeiro/1991
	VII	Diabetes – Bases Bioquímicas, Fisiopatologia	2/Fevereiro/1991
1991/92	VIII	Aspectos Bioquímicos e Clínicos da Fenilcetonúria	14/Dezembro/1991
	IX	Aspectos Bioquímicos e Clínicos da Malária	11/Janeiro/1992
	X	Aspectos Bioquímicos e Clínicos da Insuficiência Respiratória	18/Janeiro/1992
1993/94	XI	Hemoglobinas Normais e Anormais – Drepanocitose	22/Maio/1994
	XII	Etanol, Membranas Celulares, Alcoolismo	6/Maio/1994
	XIII	Mecanismos de Caquexia Tumoral	20/Maio/1994
	XIV	Aterosclerose e Hiperlipidemias	3/Junho/1994
	XV	Metabolismo Eritrocitário – Apresentação Final dos Trabalhos Experimentais (não incluído)	17/Junho/1994
1994/95	XVI	Hemoglobinopatias Normais e Anormais – Drepanocitose (não incluído)	9/Dezembro/1994
	XVII	Aterosclerose e Hiperlipidemias (não incluído)	13/Janeiro/1995
	XVIII	Isquemia do Miocárdio	27/Janeiro/1995
1995/96	XIX	Hemoglobinopatias (não incluído)	15/Dezembro/1995
	XX	Aterosclerose e Hiperlipidemias (não incluído)	19/Janeiro/1996
1996/97	XXI	Hemoglobinopatias	13/Dezembro/1996
	XXII	Aterosclerose e Hiperlipidemias (não incluído)	24/Janeiro/1997
	XXIII	Metabolismo Eritrocitário – Apresentação Final dos Resultados Experimentais (não incluído)	31/Janeiro/1997

	XXIV	Nutrição e Exercício Físico (não incluído)	16/Janeiro/1998
1997/98	XXV	Metabolismo Eritrocitário – Apresentação Final dos Trabalhos Experimentais (não incluído)	30/Janeiro/1998
	XXVI	Nutrição e Exercício Físico (não incluído)	19/Janeiro/1998
1998/1999	XXVII	Metabolismo Eritrocitário – Apresentação Final dos Trabalhos Experimentais (não incluído)	29/Janeiro/1999
1999/2000	XXVIII	Aterosclerose e Hiperlipidemias (não incluído)	21/Janeiro/2000
	XXIX	Metabolismo Eritrocitário – Apresentação Final dos Trabalhos Experimentais (não incluído)	28/Janeiro/2000
2000/2001	XXX	Aterosclerose e Hiperlipidemias (não incluído)	31/Janeiro/2001
	XXXI	Metabolismo Eritrocitário – Apresentação Final dos Trabalhos Experimentais (não incluído)	2/Fevereiro/2001
2001/2002	XXXII	Aterosclerose e Hiperlipidemias (não incluído)	25/Janeiro/2002
	XXXIII	Metabolismo Eritrocitário – Apresentação Final dos Trabalhos Experimentais (não incluído)	1/Fevereiro/2002
2002/2003	XXXIV	Aterosclerose e Hiperlipidemias (não incluído)	27/Fevereiro/2003
2003/2004	XXXV	Electroforese das Proteínas Séricas Apresentação Final dos Trabalhos Experimentais (não incluído)	12/Janeiro/2004
	XXXVI	Aterosclerose e Hiperlipidemias (não incluído)	23/Janeiro/2004
2004/2005	XXXVII	Aterosclerose e Hiperlipidemias (não incluído)	26/Janeiro/2005
2005/2006	XXXVIII	Metabolismo Eritrocitário (não incluído)	20/Janeiro/2006
	XXXVIII	Aterosclerose e Hiperlipidemias (não incluído)	17/Fevereiro/2006

**PRELECTORES EM SEMINÁRIOS DE BIOQUÍMICA CELULAR****(1989/90 – 2006/07)**

- Aguinaldo Cabral
- Alexandre Mendonça
- Ana Forjaz de Lacerda
- Ana Lúcia Pina
- Ana Paula Alcântara
- António A. Bugalho de Almeida
- Armando Pereirinha
- Carlos Moreira
- Carlota Saldanha
- Clara Lopes
- Cristina Cristovão
- Fernando Abreu
- Fernando Martos Gonçalves
- Fernando Morgado
- Filomena Alves
- Filomena Pereira
- Francisco Antunes
- Gabriela Pereira
- Hui Cheng Vai
- Isabel do Carmo
- Isabel Goulão
- Isabel Júlio da Silva
- Isabel Margarida Silva Ribeiro
- J. Martins e Silva
- J. Melo Cristino
- João Paulo Guimarães
- João Paulo Janeiro
- Joaquim Bastardo
- José Rodrigues Loureiro
- Leonor Parreira
- Leonor Queiroz
- Luís Cardoso
- Luís Sargento
- Luís Tavares
- Luísa Sagreira
- Manuel Barbosa
- Manuel Gomes
- Manuela Nunes
- Maria Gabriela Magalhães Pereira
- Maria I. Pires de Miranda
- Maria João Costa
- Maria João Gomes
- Maria João Pereira Miguel
- Maria José Ferreira
- Maria Rosário Rosa
- Mário Carreira
- Miguel Raimundo
- Paula Mota
- Pedro Eurico Lisboa
- Peixoto Menezes
- Rosa Estrela B. Inácio
- Sandra Morgado
- Susana Pinho
- Teresa Fonseca
- Teresa Nunes
- Teresa Quintão
- Yolanda Pinto

## I SEMINÁRIO

### **Tema: DESIDROGENASE DA GLICOSE-6-FOSTATO**

#### **Subtemas:**

- Acção enzimática e regulação
- Deficiência da desidrogenase e anemias hemolíticas

#### **Intervenientes**

Docentes do Instituto de Bioquímica/FML:

- Dra. Yolanda Pinto (Assist. Estagiária)
- Dra. Manuela Nunes (Assist. Estagiária)
- Dr. Luís Cardoso (Assist. Estagiário)
- Dr. Carlos Moreira (Assist. Convidado)

Investigadores voluntários do Instituto de Bioquímica/FML:

- Dra. Filomena Alves (Interna do Internato Geral/HSM)
- Dra. Leonor Queiroz (Interna do Internato Geral/HSM)

Alunos do 2º Ano, Monitores voluntários do Instituto de Bioquímica/FML:

- Teresa Nunes
- Maria João Gomes
- Maria Gabriela Magalhães Pereira
- Fernando Abreu
- Cristina Cristovão
- Hui Cheng Vai

### **ACÇÃO ENZIMÁTICA E REGULAÇÃO DA DESIDROGENASE DA GLICOSE 6-FOSFATO**

*Teresa Nunes*

*Maria João Gomes*

#### **Introdução**

A glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) é a enzima limitante da via das fosfopentoses. Catalisa a desidrogenação da glicose-6-fosfato em C-1, formando 6-fosfogliconolactona e NADPH. A via das fosfopentoses serve



vários propósitos incluindo a síntese e degradação de açúcares, em particular as pentoses necessárias aos nucleótidos e ácidos nucleicos. No entanto, a maior importância desta via reside na capacidade de sintetizar NADPH, a utilizar em reacções biossintéticas. A direcção que a via toma é determinada principalmente pela necessidade em açúcares e NADPH. A sua distribuição nos vários tecidos irá depender das funções específicas destes. Por exemplo nos eritrocitos, a via das fosfopentoses tem em vista a produção de NADPH que, por sua vez, é usado para gerar glutatião reduzido, essencial à manutenção da estrutura do eritrocito. A via é também bastante activa em tecidos como o fígado, glândula mamária, testículo e córtex adrenal, onde decorre electivamente a síntese de esteróides e ácidos gordos, que requerem o poder redutor do NADPH.

### **Factores Hormonais e Nutricionais**

Estudos *in vivo* em animais demonstraram a regulação da glicose-6-fosfato desidrogenase por parte de factores hormonais e nutricionais.

#### *Nutrição*

A actividade da G6PD decresce com a fome ou durante a re-alimentação rica em gorduras, aumentando significativamente com dietas ricas em hidratos de carbono.

#### *Hormonas*

A insulina, glicocorticóides e as hormonas tiroideias aumentam a actividade da enzima, enquanto a glicagina diminui a actividade da G6PD. Sabe-se que os glicocorticóides não aumentam, por si só, a actividade das enzimas, mas amplificam a estimulação causada pela insulina.

#### *Influência da Glicose*

A influência que a glicose exerce sobre a G6PD ainda não está totalmente esclarecida. Pensa-se que a acção da glicose sobre a G6PD seja apenas indirecta, por estimulação da insulina.

#### *Etanol*

O etanol potencia fortemente a actividade da G6PD. Isto explica, em parte, as alterações do metabolismo lipídico e lipoproteico que decorrem da ingestão excessiva de etanol. Note-se que a G6PD afecta a redução de  $\text{NADP}^+$  em NADPH que, por sua vez, regula a actividade da sintetase dos ácidos gordos. O aumento de NADPH favorece a síntese de ácidos gordos, na origem do fígado gordo alcoólico.

### *Influência da Putrescina*

O crescimento e a proliferação celulares que envolvem a síntese de ácidos nucleicos (e, por isso requerem uma via da fosfopentose activa) estão associados à estimulação da ornitina-descarboxilase, uma enzima que depende de piridoxal fosfato. Verificou-se que a putrescina, um produto da actividade da ornitina-descarboxilase, estimula o aumento de actividade da glicose-6-fosfato desidrogenase. Os mecanismos de activação estão ainda por esclarecer.

### *Efeito do Glutatião Oxidado*

A modulação da actividade da glicose-6-fosfato desidrogenase por parte do glutatião oxidado (GS-SG) é um assunto ainda em discussão. Acrescenta-se apenas que a redução completa do GS-SG leva a uma maior produção de NADPH a partir de NADP<sup>+</sup>. Simultaneamente à redução do glutatião, ocorre a reoxidação do NADPH, ou seja, o aumento do NADP<sup>+</sup>.

## **A DEFICIÊNCIA DA DESIDROGENASE DA GLICOSE-6-FOSFATO COMO CAUSA DE ALTERAÇÕES DA MEMBRANA ERITROCITÁRIA QUE CONDUZEM A ANEMIAS HEMOLÍTICAS**

*Maria Gabriela Magalhães Pereira*

### **O Glóbulo Vermelho**

O glóbulo vermelho circulante maduro não tem capacidade de se dividir, de sintetizar proteínas e de ter fosforilação oxidativa, sendo por isso uma “célula” com metabolismo relativamente limitado.

A glicose, como única fonte de energia química, entra no eritrocito por difusão facilitada, sendo convertida em glicose-6-fosfato, com transformação potencial através de duas vias: cerca de 80 a 90% segue a via glicolítica, enquanto apenas cerca de 10% da glicose é catabolisada pela via das fosfopentoses (Fig. 1).

A energia obtida pelo glóbulo vermelho sob a forma de ATP é utilizada principalmente no funcionamento da bomba Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>, que assegura a manutenção do meio iónico intracelular e evita a lise osmótica. É também necessária energia para manter e reparar a membrana e, em menor quantidade, para que os átomos de ferro da hemoglobina se mantenham na forma reduzida.

Em condições normais, os glóbulos permanecem em circulação durante 120 dias, antes de serem retidos e destruídos pelo fígado e baço. No entanto, esta sobrevivência está condicionada à sua capacidade de manter a deformabilidade da membrana.

Os factores responsáveis pelo envelhecimento normal do glóbulo vermelho são ainda pouco conhecidos, envolvendo entre outros: a deposição de substâncias estranhas na membrana e a perda gradual da actividade catalítica

das enzimas de glóbulos envelhecidos que produzem menos ATP, levando à desorganização da rede de actina e espectrina, e subsequente perda da flexibilidade globular.

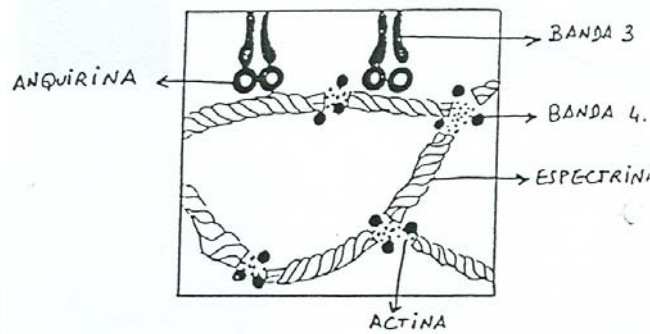


Fig. 1 – Esquema da rede da espectrina e proteínas membranares associadas

### Constituição da Membrana Eritrocitária

As principais causas de modificação da membrana do glóbulo vermelho são devidas a alterações do citoesqueleto, que é o principal determinante da forma e deformabilidade deste constituinte do sangue.

O citoesqueleto é constituído por diversas proteínas (Fig. 2), com destaque para a espectrina, actina, proteína 4.1, anquirina e proteína 3. No total, as proteínas da membrana eritrocitária perfazem cerca de 49% da constituição membranar, sendo a fracção restante representada por lípidos (43%) e glícidos (8%).

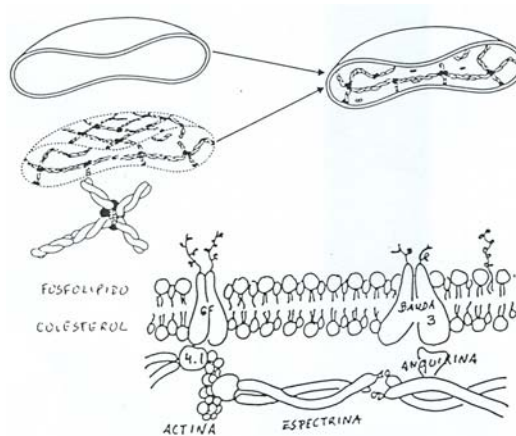


Fig. 2 – Representação esquemática do citoesqueleto da membrana eritrocitária.

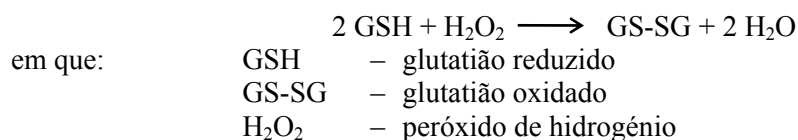
### Glicose-6-Fosfato Desidrogenase

A glicose-6-fosfato desidrogenase é uma enzima que catalisa a primeira reacção da via das fosfopentoses, do que resulta a oxidação da glicose-6-fosfato em 6-fosfogliconolactona, acompanhada por redução do  $\text{NADP}^+$  em  $\text{NADPH}$  e  $\text{H}^+$ .

A deficiência em G6PD é transmitida através de um gene mutante do cromossoma X que torna as células susceptíveis a alterações da membrana quando na presença de agentes oxidantes, alterações estas que originam a ruptura da membrana.

A hemólise ocorre através de mecanismos ainda não perfeitamente conhecidos, sendo detectada geralmente após administração de uma droga, ingestão de favas, infecções, ou cetoacidose diabética.

Isto é, a exposição a agentes que provoquem “stress” oxidativo resulta na produção de peróxido de hidrogénio e outros radicais livres de oxigénio. A neutralização deste composto é feita sobretudo à custa de glutatião reduzido, numa reacção catalisada pela peroxidase do glutatião:



Como as células com deficiência em glicose-6-fosfato desidrogenase não reduzem  $\text{NADP}^+$  suficiente para manter o glutatião no estado reduzido, o  $\text{H}_2\text{O}_2$  não é eliminado e provoca graves danos nos eritrocitos, nomeadamente a peroxidação dos lípidos e proteínas da membrana e, ainda mais importante, a formação de complexos com a hemoglobina (peroxi-hemoglobina).

Por outro lado, o glutatião oxidado forma também complexos com a hemoglobina ( $\text{HbS-SG}$ ). A hemoglobina acumula-se formando os chamados corpos de Heinz que se associam à membrana, conferindo-lhe rigidez e dificultando a deformação dos eritrocitos, favorecendo, portanto, a sua destruição ao nível do fígado e do baço. Como a destruição dos eritrocitos é superior à sua produção, resultam situações de anemia.

### As Anemias Hemolíticas

As anemias são situações patológicas em que existe diminuição da massa total dos glóbulos vermelhos e/ou do seu conteúdo em hemoglobina.

No caso das anemias hemolíticas os glóbulos são destruídos precocemente, por causa hereditária ou adquirida. Embora a medula óssea tenha capacidade para aumentar cerca de oito vezes a sua produção, a destruição pode ultrapassar consideravelmente esta capacidade de compensação, causando anemia.

Os glóbulos vermelhos podem ser destruídos em circulação e libertar o seu conteúdo directamente no plasma (hemólise intravascular) ou, mais frequentemente, serem retidos e destruídos no fígado e baço (hemólise extravascular). A destruição globular ocorre em duas situações: existência de alterações de superfície reconhecidas como anómalas ou presença de características físicas que limitem a deformabilidade dos eritrocitos, impedindo-os de atravessar a barreira constituída pela microcirculação esplénica.

### Exemplos de Anemias Hemolíticas (Quadro I)

**Quadro I** – Classificação das Anemias Hemolíticas  
(exemplos)

- 
1. Devidas a factores extrínsecos
    - a) *Esplenomegália*
    - b) *Imuno-hemolíticas*
    - c) *Mecânicas*
    - d) *Toxicidade*
  2. Devidas a defeitos da membrana
    - a) *Anemia de células espiculadas*
    - b) *Hemoglobina paroxística nocturna*
    - c) *Esferocitose hereditária*
    - d) *Eliptocitose hereditária*
    - e) *Estomatocitose hereditária*
  3. Devidas a factores intrínsecos
    - a) *Enzimopatias da via glicolítica*
    - b) *Enzimopatias da via das fosfopentoses*
    - c) *Hemoglobinopatias*
    - d) *Talassémias*
- 

#### Resultantes de defeitos da membrana

##### *Anemia de células espiculadas (Acantocitose)*

Encontra-se em doenças hepáticas graves. Os eritrocitos têm contornos irregulares, espiculados, apresentando aumento de colesterol na membrana, sem haver aumento proporcional dos fosfolípidos. Esta desproporção resulta em diminuição da fluidez de membrana e da deformabilidade globular.

##### *Esferocitose hereditária*

Quase todos os doentes têm deficiência de espectrina, que é proporcional à gravidade da anemia. Os seus eritrocitos têm contornos esféricos e estruturas rígidas, apresentando aumento da fragilidade osmótica.

### *Eliptocitose hereditária*

Encontram-se glóbulos vermelhos de forma oval ou elíptica nas aves, répteis, camelos e lamas. No homem essa característica é patológica, correspondendo a uma doença hereditária de transmissão autossômica dominante. Em doentes homocigóticos verificou-se ausência da banda 4.1.

### *Estomatocitose hereditária*

Os glóbulos têm uma zona central pálida, em fenda. Apresentam permeabilidade aumentada parcialmente compensada por aumento do transporte activo. Têm também aumento dos lípidos de membrana principalmente, da fosfatidilcolina. Esta alteração poder-se-á traduzir quer por aumento da fragilidade osmótica, com glóbulos grandes, quer por diminuição da fragilidade osmótica, com glóbulos pequenos.

### Resultantes de enzimopatias

A incapacidade do glóbulo vermelho em sintetizar proteínas torna-o particularmente susceptível à instabilidade ou aos defeitos nas suas enzimas (uma mutação que resulte numa enzima menos estável é expressa mais facilmente no eritrocito).

### *Enzimopatias da via glicolítica*

Estas doenças traduzem-se na diminuição do conteúdo globular de ATP, relativamente à idade dos eritrocitos, que têm assim grande dificuldade em manter o ião potássio no seu interior. Daí resultam alterações morfológicas que sugerem ser a membrana secundariamente afectada pelo defeito enzimático.

De todas as enzimas da via glicolítica as que mais frequentemente apresentam alterações hereditárias são a piruvato-cinase (95% dos casos) e a glicose-P-isomerase (4% dos casos).

Tanto os defeitos da hexocinase como da piruvato-cinase se observam unicamente no glóbulo vermelho (Fig. 3).

### *Défice da Glicose-6-Fosfato Desidrogenase*

As anemias hemolíticas podem resultar de deficiências enzimáticas, nas vias glicolítica e das fosfopentoses. Neste caso, a deficiência da desidrogenase da glicose-6-fosfato é a mais comum. A enzima catalisa a oxidação da glicose-6-fosfato em 6-fosfogliconolactona, com produção de NADPH; esta coenzima é necessária na degradação do peróxido de hidrogénio e à manutenção dos grupos sulfidrílicos da membrana e da hemoglobina no estado reduzido, o que, no conjunto, é essencial à integridade do glóbulo vermelho circulante.

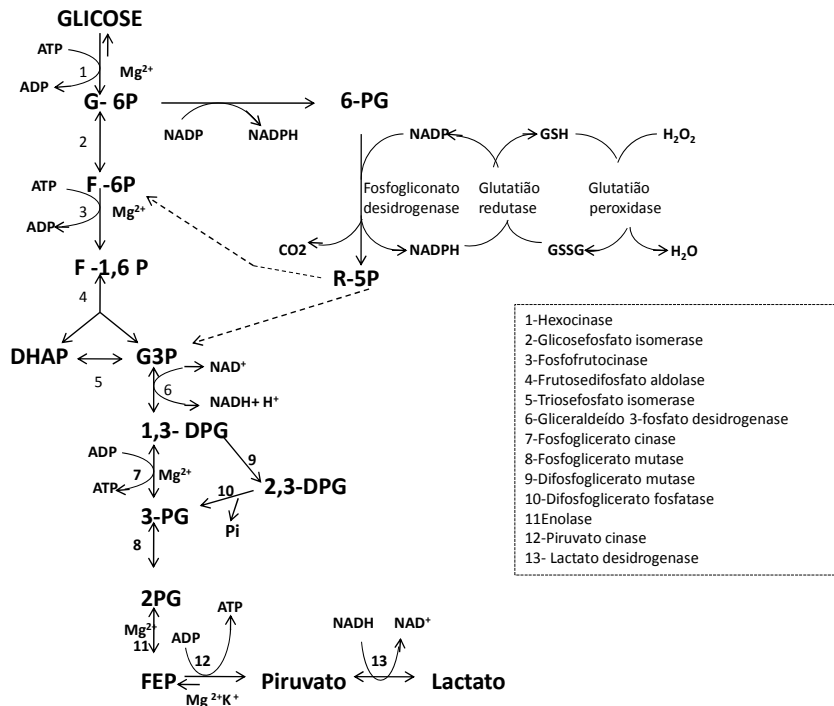


Fig.

3 – Via glicolítica eritrocitária e mecanismos associados da oxi-redução.

As células deficientes em desidrogenase da glicose-6-fosfato tornam-se mais susceptíveis a todos os tipos de “stress oxidativo” (p. ex: drogas oxidantes, infecções, ingestão de favas), de que resultam episódios hemolíticos agudos, auto-limitados.

Esta enzimopatia encontra-se ligada ao cromossoma X; assim sendo, os homens são homocigóticos enquanto as mulheres são geralmente portadoras.

Existem cerca de 250 variantes desta enzima, muitas destas não causando qualquer anomalia funcional significativa. O tipo B é a forma normal ou nativa; o tipo A+ encontra-se em 20% dos indivíduos de raça negra, sendo uma forma funcionalmente normal. As formas mais frequentes e com significado clínico são o *tipo A-*, existente em 15% dos indivíduos de raça negra dos E.U.A. (e que, curiosamente, confere uma certa protecção contra a malária), e o *tipo Mediterrânico*, cujas manifestações clínicas são muito mais graves que na variante A-, podendo estar associada a favismo.

A deficiência em G6PD é uma doença com alguma dimensão clínica, uma vez que afecta quatrocentos milhões de habitantes a nível mundial. A prevenção tem um papel importante, que consiste, essencialmente, em evitar medicamentos oxidantes e fazer o rastreio em indivíduos potencialmente susceptíveis, antes de medicação oxidativa.

## II SEMINÁRIO

### Tema: ENZIMOLOGIA EM MEDICINA

#### Subtemas:

- A enzimologia no diagnóstico clínico da lesão tecidual
- Doenças por deficiência enzimática
- Enzimas com utilização terapêutica

#### Intervenientes

Docente Convidado:

- Dr. Armando Pereirinha (Interno do I. Complementar/HSM e Assist. – Convidado de Medicina IIIA)

Docentes do Instituto de Bioquímica/FML:

- Dr. Carlos Moreira (Assist. Convidado)
- Dra. Teresa Luísa Quintão (Assist. Convidada)

Investigador voluntário do Instituto de Bioquímica/FML:

- Dr. Mário Carreira (Interno do I. Geral/HSM)

Aluna do 2º ano, monitora voluntária do Instituto de Bioquímica

- Clara Lopes

### A ENZIMOLOGIA NO DIAGNÓSTICO CLÍNICO DA LESÃO TECIDUAL

#### Introdução à Enzimologia

*T. Quintão*

(Como introdução foi apresentado o filme “Structure et Fonction des Enzymes”, comentado e discutido).

As enzimas são proteínas que têm a propriedade de catalisar reacções químicas.



Podem classificar-se de acordo com a reacção química que catalisam, em:

1. Oxirredutases
2. Transferases
3. Hidrolases
4. Liases
5. Isomerasas
6. Ligases

A actividade enzimática desenvolve-se, para além de outras vias, no metabolismo dos glicídios, dos lípidos e das proteínas, e em reacções químicas que interferem na estabilidade celular. Os defeitos enzimáticos podem assim conduzir a doenças.

As enzimas são utilizadas em Medicina, quer em método de diagnóstico quer como agentes terapêuticos.

### **As Alterações Enzimáticas como Repercussão da Lesão Tecidual**

A actividade enzimática no sangue e nos tecidos pode ser determinada no laboratório. Em caso de doença há alteração da actividade enzimática o que contribui para o diagnóstico. Enzimas de localização intracelular são detectadas em pequenas quantidades no sangue.

Tomando como exemplo o enfarte de miocárdio, sabe-se que no decurso desta doença os níveis séricos de determinadas enzimas – p.ex., creatina-fosfocinase (CPK), transaminase glutâmica-oxaloacética (TGO), desidrogenase láctica (LDH) – apresentam concentrações superiores às usuais.

### **Importância Diagnóstica das Isoenzimas**

*Clara Lopes*

Isoenzimas são formas múltiplas de uma enzima que podem existir num só organismo ou mesmo numa só célula.

As isoenzimas existentes no soro podem provir de diferentes tecidos de origem.

A lesão tecidual pode traduzir-se por aumento da actividade sérica de uma isoenzima específica do tecido em causa.

O doseamento das isoenzimas reveste-se assim de importância diagnóstica.

Como exemplos apresentam-se a desidrogenase láctica, a creatina-fosfocinase e a fosfatase alcalina.

## **ALGUMAS DOENÇAS POR DEFICIÊNCIA ENZIMÁTICA**

### **Glicogenoses**

*T. Quintão*

Os defeitos enzimáticos em qualquer via do metabolismo têm, como conseqüências principais, a acumulação de substrato, a utilização de vias alternativas e o déficit de produtos.

As glicogenoses são um grupo de doenças caracterizadas por um defeito enzimático do metabolismo do glicogênio, quer a nível da sua síntese quer a nível da degradação.

São na maioria doenças autossômicas recessivas. As manifestações clínicas variam com a enzima envolvida, destacando-se a hepatomegália, a hipoglicémia e as alterações musculares.

As possibilidades terapêuticas resumem-se a dieta.

### **Lipidoses**

*C.S. Moreira*

#### **1 – Hiperlipoproteinémias**

- Mutações de um gene
  - Deficiência lipoproteína lipase
  - Hipercolesterolemia
  - Hipertrigliceridemia
- Secundárias
  - Diabetes Mellitus
  - Álcool
  - Contraceptivos

#### **2 – Doenças raras do metabolismo lipídico**

- Doença de Fabry
- Doença de Gaucher
- Doença de Niemann-Pick

### **Fenilcetonúria e Albinismo**

*T. Quintão*

São doenças devidas a perturbações do metabolismo dos aminoácidos aromáticos.

### *Fenilcetonúria*

Doença resultante de deficiência do sistema da hidroxilase da fenilalanina, que converte a fenilalanina em tirosina.

É uma doença autossômica recessiva.

As suas manifestações incluem atraso mental e pele e olhos claros.

O seu diagnóstico no recém-nascido (rastreamento conhecido por “teste do pezinho”) permite evitar o desenvolvimento da doença, instituindo uma dieta com restrição de fenilalanina.

### *Albinismo*

Surge por deficiência da enzima tirosinase que converte a dopa em dopa-quinona, a qual, por sua vez, é um precursor da melanina.

Conhecem-se dois tipos de albinismo (oculo-cutâneo e ocular), o primeiro recessivo e o segundo ligado ao cromossoma X.

## **Anemias Hemolíticas**

### *Mário Carreira*

Na anemia há, por definição, redução significativa da massa de eritrócitos e diminuição correspondente na capacidade de transporte de oxigênio do sangue.

As anemias podem ser devidas a perdas sanguíneas, diminuição da produção dos eritrócitos e por destruição dos eritrócitos (hemólise). As anemias por destruição dos glóbulos vermelhos (anemias hemolíticas) podem resultar de factores exteriores ao glóbulo (extracorpúsculares) ou de defeitos do eritrócito (intracorpúsculares).

As anemias hemolíticas intracorpúsculares são geralmente hereditárias e, entre elas, estão as provenientes de defeitos enzimáticos. A maioria das deficiências enzimáticas localizam-se na via de Embden-Meyerhof e na via das fosfopentoses. Em alguns casos, as deficiências em enzimas do metabolismo dos nucleótidos (pirimidina 5'-nucleotidase) são também responsáveis por hemólise.

Em geral, os eritrócitos com deficiências na via de Embden-Meyerhof têm menor quantidade de ATP, maior concentração intraglobular de potássio e maior rigidez, os quais condicionam a sua destruição no sistema fagocitário-mononuclear.

Os eritrócitos portadores de deficiências na via das fosfopentoses são incapazes de manter um nível adequado de glutatíon reduzido intraglobular, sendo inaptos para resistir ao *stress* oxidativo; conseqüentemente, os grupos sulfidrílicos da hemoglobina são oxidados e a hemoglobina tende a precipitar, constituindo os corpúsculos de Heinz. Nesta via a deficiência mais frequente é a desidrogenase da glicose-6-fosfato.

## ENZIMAS COMO MEIO TERAPÊUTICO

*Armando Pereirinha*

O enfarte agudo do miocárdio (EAM) é uma situação clínica muito importante pela sua elevada prevalência nas sociedades ocidentais (atingindo muito frequentemente indivíduos em idade produtiva) e pelas suas pesadas repercussões clínicas, que podem ir até à morte. O EAM é um bom exemplo de como toda a actuação médica se desenrola num ambiente em que as enzimas têm um papel preponderante. Vimos como são úteis no diagnóstico (utilização da CPK, TGO, LDH e suas isoenzimas no diagnóstico de EAM); vamos agora ver como as utilizamos como forma terapêutica.

### **Fisiopatologia do Enfarte Agudo do Miocárdio**

O coração pode, de uma forma simplista, ser visto como uma bomba cuja parte mecânica é constituída por músculo (o músculo cardíaco ou miocárdio). Todo esta massa muscular é alimentada por uma rede arterial específica, as artérias coronárias. A doença aterosclerótica, caracterizada pelo desenvolvimento de placas na parede das artérias, envolve muito frequentemente as artérias coronárias. A placa aterosclerótica evolui, crescendo de forma paulatina, mas é uma estrutura biologicamente activa, com fases de crescimento mais activo (em surtos), em que ocorrem fenómenos de ruptura e hemorragia intraplaca. Estes fenómenos, para além de provocarem o crescimento da placa, proporcionam o local e o estímulo para a agregação de plaquetas e a activação do sistema de coagulação, com formação de fibrina e, assim, de trombo que, em última análise, virá a ocluir o lúmen da artéria. Deste modo, a massa de miocárdio dependente da irrigação dessa artéria que foi ocluída ficará em anóxia, processo que terminará na morte celular (necrose) se a circulação não for restabelecida a tempo (antes de haver ocorrido lesão celular irreversível).

### **Bases Bioquímicas para a Utilização da Trombólise**

No nosso organismo existe o sistema fibrinolítico (destinado a promover a lise da fibrina) que se encontra habitualmente na forma inibida. Basicamente, este sistema é constituído por enzimas. O seu elemento base é o plasminogénio (proenzima), activado pelos activadores do plasminogénio (que são hidrolases) na forma activa – a plasmina – que é uma protease que vai actuar sobre a fibrina, digerindo-a em produtos solúveis (os produtos de degradação da fibrina).

Assim sendo, uma forma de actuarmos no EAM seria a activação deste sistema de fibrinólise, no sentido de dissolver o trombo que se formou na

artéria coronária e que irá provocar a morte celular, se decorrer o tempo suficiente. Precisariamos assim de agentes que fossem activar o plasminogénio para plasmina (funcionando portanto em alternativa aos activadores do plasminogénio do organismo).

Um desses agentes é o t-PA (“tissue-type plasminogen activator”). É uma protease que se liga especificamente à fibrina, activando o plasminogénio à superfície da fibrina. Esta forma terapêutica – activação do sistema de fibrinólise – no decurso do EAM é designada por trombólise (por se pretender a lise do trombo que oclui a artéria coronária em causa). Para além de enzimas propriamente ditas (como é o caso do t-PA ou o seu similar rt-PA\*), outros agentes são usados (em particular, no nosso meio, a estreptocinase e o APSAC\*\*) que, embora não sejam enzimas propriamente ditas, vão actuar da mesma forma, activando o plasminogénio em plasmina.

### Utilização Clínica da Trombólise

A utilização de trombólise (com qualquer dos agentes referidos) é hoje o tratamento padrão do EAM, tendo como único limite de utilização ser iniciada nas primeiras horas da evolução do EAM (antes de se haver dado a necrose de toda a massa muscular em sofrimento pela oclusão da artéria coronária), isto é, idealmente nas primeiras 4-6 horas de crise; adicionalmente, existem contraindicações clínicas ao seu uso, sobretudo situações com grande risco hemorrágico (por exemplo, doentes com úlcera gástrica activa com hemorragia recente). Com a sua utilização foi possível melhorar o prognóstico do EAM, quer em termos de mortalidade hospitalar quer de melhor preservação da função do coração nos doentes sobreviventes de EAM.

---

\* Recombinant Tissue-type Plasminogen Activator (rt-PA)

\*\* Anisoylated Plasminogen Streptokinase Activator Complex (APSAC)

### III SEMINÁRIO

#### **Tema: PATOLOGIA MOLECULAR DA HEMOGLOBINA**

##### **Subtemas:**

- Estrutura da hemoglobina e transporte de oxigénio
- Síntese de hemoglobina durante o desenvolvimento fetal
- Generalidades sobre as hemoglobinas anormais
- Anemia de células falciformes
- Carboxi-hemoglobina
- Talassémias

##### **Intervenientes**

Docentes Convidados:

- Dra. Maria João Costa (Interna do I. Geral/HSM)
- Dra. Maria José Ferreira (Interna do I. Geral/HSM)

Docente do Instituto de Bioquímica/FML:

- Dr. João Paulo Guimarães (Monitor do Instituto de Bioquímica e Interno do Internato Geral/HSM))

Investigador Voluntário

- Dr. Mário Carreira (Interno do I. Geral/HSM)

Aluno do 2<sup>o</sup> ano, monitor voluntário do Instituto de Bioquímica/FML

- Luís Sargento

#### **ESTRUTURA DA HEMOGLOBINA E TRANSPORTE DE OXIGÉNIO**

*João Paulo Guimarães*

A hemoglobina é a proteína que tem como principal função o transporte de oxigénio dos pulmões para os tecidos, ao mesmo tempo que facilita a eliminação do CO<sub>2</sub> em sentido inverso.

A parte proteica da molécula de hemoglobina (globina) é composta por quatro cadeias polipeptídicas: duas cadeias  $\alpha$  com 141 aminoácidos cada, e duas cadeias  $\beta$  com 146 aminoácidos. Embora as cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  tenham dife-

rentes sequências de aminoácidos a sua estrutura tridimensional é muito semelhante.

Cada uma destas cadeias contém um grupo prostético (o heme) ao qual se liga o oxigénio. O heme, anel porfirínico tetrapirrólico cujo núcleo contém ferro sob a forma de  $\text{Fe}^{2+}$  (ferroso), é o pigmento que dá a cor vermelha ao sangue.

A sequência de aminoácidos que compõe cada uma das cadeias de hemoglobina é bem conhecida há vários anos. Apesar das quatro cadeias não serem iguais, elas dispõem-se umas em relação às outras como os vértices de um tetraedro, embora não totalmente regular. A hemoglobina é uma molécula quase esférica, com peso aproximado de 65.000 dalton, e cujas dimensões são de aproximadamente  $640 \times 550 \times 500 \text{nm}$ . De uma forma geral pode dizer-se que as regiões interiores das cadeias são compostas principalmente por aminoácidos hidrofóbicos e que à superfície existem aminoácidos com cadeias hidrofílicas, o que torna a molécula de hemoglobina impermeável, embora solúvel em água.

A quantidade de oxigénio ligado à hemoglobina em determinado momento relaciona-se com a concentração de oxigénio (ou melhor, com a pressão parcial de oxigénio,  $\text{PO}_2$ , visto tratar-se de um gás; quando a pressão é referida ao sangue arterial é expressa por  $\text{P}_a\text{O}_2$ ). O número de moléculas de oxigénio que se ligam aos grupos heme da hemoglobina aumenta à medida que a concentração de oxigénio no meio sobe e, pelo contrário, diminui quando a pressão parcial de oxigénio baixa.

O equilíbrio entre a hemoglobina e o oxigénio representa-se facilmente através de um gráfico – onde se indica em ordenadas a saturação da hemoglobina (percentagem da capacidade total máxima de ligação de oxigénio) e em abcissas a pressão parcial de oxigénio (em mmHg) – que é vulgarmente designado por curva de dissociação da hemoglobina. Tal como se define a afinidade das enzimas para os seus substratos, também se pode considerar a afinidade da hemoglobina para o oxigénio. Um outro conceito frequentemente usado é o da  $\text{P}_{50}$ , que corresponde à pressão de oxigénio com a qual se obtém uma saturação de 50%.

A curva de dissociação da oxihemoglobina é uma curva sigmóide; a níveis mínimos de  $\text{PO}_2$  a molécula capta pouco oxigénio; aproximadamente a partir dos 30mmHg a captação de oxigénio atinge o aumento máximo. Em termos práticos, este fenómeno favorece o transporte de oxigénio: a altas pressões de oxigénio (ex: pulmão,  $\text{PO}_2 \approx 100 \text{mmHg}$ ) a molécula capta muito oxigénio (saturação de 90-95%), enquanto a níveis de  $\text{PO}_2$  da ordem dos 40mmHg (ex: no sector venoso dos tecidos periféricos) a tendência da hemoglobina é estar apenas cerca de 75% saturada, o que significa que libertou o “excesso” de oxigénio nos tecidos que foram irrigados.

O formato sigmóide da curva de dissociação da oxihemoglobina corresponde a um efeito de interacção entre as subunidades, designado por efeito

cooperativo. Pode ser interpretado da seguinte forma: quando uma molécula de hemoglobina capta oxigénio, favorece a captação de oxigénio pelas outras cadeias, e quando perde oxigénio aumenta também as probabilidades de libertação de oxigénio pelas outras cadeias da mesma molécula. A explicação actual para o efeito cooperativo envolve conceitos mais sofisticados, em grande parte derivados de uma teoria introduzida por Jacques Monod e Jean-Pierre Changeux – a clássica teoria do alosterismo. Assim, considera-se a existência de duas modalidades conformacionais para as quatro cadeias de hemoglobina, às quais corresponderiam diferentes afinidades para o oxigénio. Estes dois estados conformacionais da hemoglobina designam-se por R (forma “relaxada” ou laxa) e T (forma tensa), interconvertíveis entre si, correspondendo a duas diferentes modalidades de ligação intercadeias; a diferentes constantes de equilíbrio para o oxigénio, a forma R tem uma afinidade muito superior à da forma T.

A curva de dissociação da oxihemoglobina é afectada pela tendência que a hemoglobina apresenta para a interconversão entre a forma T e R. Como as condições do meio podem provocar alterações no sentido de favorecer a passagem de uma forma à outra, resulta que a forma da curva de dissociação da oxihemoglobina varia com a composição do meio. Os factores mais importantes são a concentração de protões (que define o pH do meio), a pressão de dióxido de carbono ( $\text{PCO}_2$ ) e a concentração de 2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG). Estes factores tendem a estabilizar a forma T, ou seja, aumentando a concentração de qualquer deles diminui a afinidade para o oxigénio. O resultado é uma curva de dissociação da oxihemoglobina deslocada para a direita, mais sigmóide. A temperatura (obviamente dentro das variações fisiológicas) também desloca a curva de dissociação para a direita, embora a torne menos sigmóide. Há deslocamento da curva para a esquerda quando diminui a  $[\text{H}^+]$ , a  $\text{PCO}_2$ , a [2,3-BPG] ou quando baixa a temperatura.

O efeito do pH sobre a curva de dissociação (desvio da curva para a direita com a diminuição do pH) não se esgota no efeito de estabilização da forma T. Há outros mecanismos independentes da transição entre formas T e R. É conhecido que a hemoglobina pode captar e libertar protões de e para o meio, funcionando como tampão. Cedo se verificou também que esta troca de protões com o meio estava intimamente relacionada com a captação e libertação de oxigénio: quando capta oxigénio a hemoglobina liberta protões para o meio, e vice-versa. Há evidência experimental que os protões em questão provenham de aminoácidos posicionados nos extremos das cadeias e não da vizinhança dos grupos heme. A situação pode ser também encarada sob outro ponto de vista: à captação de protões corresponde uma diminuição da afinidade da hemoglobina para o oxigénio. A este fenómeno de reciprocidade e interdependência entre a afinidade da hemoglobina para o oxigénio e para os protões chama-se efeito Bohr. O efeito Bohr encontra-se intimamente ligado ao transporte de  $\text{CO}_2$ . De facto, o  $\text{CO}_2$  proveniente da respiração



dos tecidos é demasiado insolúvel no plasma para ser transportado apenas como tal, pelo que grande parte dele é transformado em ácido carbónico por acção de uma enzima eritrocitária – a anidrase carbónica. O ácido carbónico dissocia-se de imediato em ião bicarbonato e um hidrogénio (reação espontânea). Esta reação é das mais rápidas reações bioquímicas conhecidas: uma só enzima pode catalisar até meio milhão de reações por segundo. Contudo, na ausência de hemoglobina seria rapidamente inibida por excesso de protões produzidos. Isso só não acontece porque a hemoglobina se encarrega de captar esses protões, processo que, via efeito Bohr, diminui a afinidade para o oxigénio e favorece a libertação deste para os tecidos. Nos pulmões o processo inverte-se: a hemoglobina capta oxigénio e liberta protões, regenerando de novo o  $\text{CO}_2$ , que é libertado para os alvéolos pulmonares. Mas a participação da hemoglobina não se esgota neste processo: uma fracção significativa do  $\text{CO}_2$  é transportada directamente ligada à hemoglobina, após combinação do  $\text{CO}_2$  com grupos amina das cadeias de globina, com formação de compostos carbamino.

Outro factor que influencia de forma significativa o comportamento da hemoglobina é o 2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG). Com efeito, desde o início dos estudos da função respiratória da hemoglobina se verificou que o comportamento desta era diferente consoante se encontrasse dentro ou fora dos glóbulos vermelhos: no interior do eritrócito a afinidade da hemoglobina para o  $\text{O}_2$  era sistematicamente menor, o que fazia prever a existência de uma substância intra-eritrocitária responsável por este efeito. Mais tarde descobriu-se que essa substância era um fosfato orgânico, posteriormente identificado como o 2,3-BPG, produzido num “desvio” da via glicolítica (via de Rappoport-Luebering). Esta substância provoca uma redução rápida na afinidade da hemoglobina para o oxigénio, sem contudo alterar o fenómeno de cooperatividade local onde o 2,3-BPG se liga parece ser uma cavidade central formada por resíduos de aminoácidos pertencentes às 4 cadeias. Essa cavidade fica acessível do exterior quando a molécula se encontra na forma T, isto é, quando é disponibilizado suficiente espaço entre as duas hélices H das cadeias  $\beta$ . Ao ligar-se neste local o 2,3-BPG estabelece pontes entre as duas cadeias  $\beta$ , o que estabiliza bastante bem a molécula na forma T.

Todos os processos de regulação acima mencionados são de extrema utilidade para a regulação do transporte de oxigénio para os tecidos, e só eles permitem que a oxigenação continue a processar-se em condições desfavoráveis, por exemplo, em situações de anemia, permanência em grandes altitudes ou em estados de  $\text{PaO}_2$  cronicamente baixa (hipoxémia crónica), de origem cardíaca ou pulmonar.

## SÍNTESE DA HEMOGLOBINA DURANTE O DESENVOLVIMENTO FETAL

*Luís Sargento*

A eritropoiese é o processo de síntese de eritrócitos. No adulto a eritropoiese ocorre na medula óssea a partir de uma célula estaminal pluripotente, que também dá origem às outras células sanguíneas. Há progressiva acumulação de hemoglobina no citoplasma da célula, ocorrendo depois a expulsão do núcleo e dos restos de organitos citoplasmáticos, formando-se o glóbulo vermelho maduro (adulto).

O glóbulo vermelho entra em circulação, onde tem um tempo médio de vida de cerca de 120 dias. As células velhas ou as células novas com defeito são captadas pelo sistema retículo-endotelial e aí degradadas.

### Abundância relativa dos diversos tipos de hemoglobina

No genoma humano existe informação para a síntese de diversos tipos de globina: alfa, beta, gama, epsilon e zeta. As três últimas, normalmente existem em muito pequena quantidade (Quadro I).

**Quadro I** – Hemoglobinas do adulto

Tipo	Constituição	Total relativo
Hb A	alfa <sup>2</sup> beta <sup>2</sup>	97 a 99%
Hb F	alfa <sup>2</sup> gama <sup>2</sup>	1 a 3%
Hb A <sub>2</sub>	alfa <sup>2</sup> delta <sup>2</sup>	vestígios

### Síntese da hemoglobina durante o desenvolvimento fetal

A eritropoiese não ocorre sempre no mesmo local. As primeiras células com hemoglobina são produzidas no saco vitelino. Segue-se a activação da eritropoiese hepática, que é a fonte principal de eritrócitos durante o desenvolvimento fetal. Mais tarde inicia-se a eritropoiese esplénica e medular.

Cada um destes órgãos tem preferência pela síntese de determinados tipos de cadeia.

Durante o desenvolvimento fetal há grande produção de globina  $\alpha$  e  $\gamma$  (com predomínio da síntese de Hb F). Progressivamente há incremento da síntese de cadeias  $\beta$  e diminuição das cadeias  $\gamma$ , o que conduz ao aumento da percentagem de Hb A (Quadro II).

**Quadro II** – Hemoglobinas produzidas durante o desenvolvimento fetal

Estádio de desenvolvimento	Tipo de hemoglobina
Embrionário	Gower1, Gower2, Portland
Fetal	F e A

A existência de um tipo diferente de hemoglobina no feto está relacionado com o facto do sangue fetal ser oxigenado a partir do sangue materno. Como aí a pressão do oxigénio é baixa, é necessária uma hemoglobina com afinidade maior para o oxigénio.

## DREPANOCITOSE

*Maria José Ferreira*

A drepanocitose, ou doença de células falciformes, foi pela primeira vez descrita em 1910 por James B. Herrick, após os ter observado num estudante negro. Este queixava-se de crises dolorosas recorrentes, febre, períodos de tosse e tonturas. Tinha anemia, úlceras de perna e estava icterico (coloração amarelada da pele por aumento de bilirrubina). Ao observar o sangue deste doente ao microscópio, Herrick verificou que alguns dos glóbulos vermelhos tinham a forma de um crescente, ou foice. Nasceu daqui a designação de “doença de células falciformes”, inspirada no aspecto morfológico dos glóbulos vermelhos.

Esta alteração dos glóbulos vermelhos é reversível e depende do conteúdo do sangue em oxigénio. Quando a concentração de oxigénio baixa, pode haver formação de células falciformes.

Verificou-se posteriormente que a base deste fenómeno era a existência de uma molécula anormal de hemoglobina, designada hemoglobina S, que migra mais lentamente do que a hemoglobina normal na electroforese. Nesta hemoglobina anormal, o ácido glutâmico da posição 6 da cadeia  $\beta$  da hemoglobina é substituído pela valina. Enquanto o ácido glutâmico tem carga negativa, a valina é neutra e hidrofóbica. Daqui resulta a tendência para as moléculas de hemoglobina S aderirem entre si, formando polímeros que originam a distorção dos eritrócitos. Esta distorção em corpúsculos com a forma de foice, menos flexíveis, está na origem de obstruções do fluxo sanguíneo nos capilares, do aumento da viscosidade do sangue e da destruição globular precoce (hemólise). A obstrução dos capilares e o aumento da viscosidade aumenta a hipóxia de algumas áreas; estando a falciformação relacionada com a baixa de oxigénio, é criado um ciclo vicioso: a falciformação agrava a hipóxia local que, por sua vez, agrava a falciformação, piora a hipóxia, e assim por diante.

A relação deste fenómeno com a oxigenação tem a ver com o facto de só existirem zonas complementares para a adesão entre moléculas de hemoglobina S na forma desoxigenada. Além do estado de oxigenação do sangue, existem outros factores que influenciam a falciformação e a respectiva gravidade: concentração de hemoglobina globular, desidratação dos glóbulos vermelhos, presença doutras variantes de hemoglobina no glóbulo (por exemplo, a hemoglobina F não participa na falciformação), pH e os níveis de 2,3-bisfosfoglicerato.

A doença de células falciformes é transmitida hereditariamente, podendo o indivíduo receber um gene (neste caso apenas 35-40% da sua hemoglobina tem a alteração característica da variante S), ou receber os dois genes (um de cada progenitor) e não ter assim qualquer produção da variante normal (hemoglobina A).

Esta doença vai apresentar múltiplas manifestações, que se podem dividir em 3 grandes grupos (Quadro III).

**Quadro III** – Tipos e manifestações clínicas da drepanocitose

Tipos	Caracterização
<u>Constitucionais</u>	Atraso de crescimento e do desenvolvimento físico; maior susceptibilidade às infecções;
<u>Vaso-oclusivas</u>	Microenfartes (que se manifestam por crises dolorosas); macroenfartes (conducentes a lesões de órgão);
<u>Anemia</u>	Hemólise intensa e crises aplásicas (deficiente produção de elementos sanguíneos por esgotamento da medula óssea, face ao aumento das necessidades após hemólise intensa, desencadeada por infecções ou por carência de factores necessários à produção de glóbulos vermelhos).

Os indivíduos com só um gene para a hemoglobina S têm menos manifestações clínicas, sendo este traço em geral detectado por análises de rotina (ou por terem crises de falciformação durante um *stress* muito intenso). No entanto, a função renal é sempre lesada por obliteração microvascular.

O diagnóstico da drepanocitose é feito por electroforese da hemoglobina. Utiliza-se também para rastreio um teste baseado na indução da falciformação (pela adição de metassulfito ao sangue, pois este composto induz desoxigenação sanguínea).

## CARBOXI-HEMOGLOBINA

*Mário Carreira*

O monóxido de carbono (CO) é um dos principais poluentes atmosféricos. É produzido na maior parte pela actividade humana, resultando 50-60% dos motores de explosão. Uma porção menor é produzida pelos vulcões,

fogos florestais, animais e plantas. Certos grupos populacionais quer pelos seus hábitos (tabagismo) ou pela sua profissão (ex: operários químicos, metalúrgicos, bombeiros, e outros) estão cronicamente expostos a níveis elevados de CO.

As causas mais graves de exposição ao CO devem-se a poluição doméstica (esquentadores, braseiras, etc.) ou a acidentes (fogos). Contudo, a maior causa de exposição crónica é o consumo de tabaco em recintos fechados.

O CO atravessa a membrana alveolar e liga-se à hemoglobina no mesmo local de ligação do O<sub>2</sub> ao ferro do heme, mas com uma afinidade 200 vezes superior à do oxigénio, formando a carboxi-hemoglobina. O CO também se liga, embora com menor afinidade, à mioglobina e à citocromo-oxidase.

A saturação parcial da hemoglobina pelo CO diminui a capacidade de transporte de oxigénio, originando um desvio da curva de dissociação da oxi-hemoglobina para a esquerda, verificado experimentalmente. A consequência deste processo é a hipóxia e, a persistir eventualmente, a anóxia e a morte.

## TALASSÉMIAS

*Maria João Costa*

As talassémias são anomalias genéticas da síntese da hemoglobina caracterizadas por uma redução da produção de um tipo específico de globina.

As cadeias proteicas, embora produzidas em menor número que o habitual, são estruturalmente normais. Trata-se, portanto, de um defeito “quantitativo” de síntese.

Cada indivíduo possui quatro genes responsáveis pela cadeias  $\alpha$ , localizados no cromosoma 16 (tendo herdado 2 de cada progenitor), enquanto possui apenas 2 genes de cadeias  $\beta$  localizados no cromosoma 11, um de cada progenitor.

Estes distúrbios, de carácter heredo-familiar, devem-se à perda da informação genética correspondente a um ou mais destes genes.

A deficiência na síntese de cadeias  $\beta$  é designada por  $\beta$ -talassémia, enquanto a redução da síntese das cadeias  $\alpha$  é referida como  $\alpha$ -talassémia.

Esta condição conduz a um largo espectro de situações clínicas que vão desde a ausência de doença até à anemia fatal.

### Epidemiologia

As talassémias são encontradas mais frequentemente no Mediterrâneo, Médio Oriente, Índia e Sudoeste Asiático. No nosso país são mais comuns no sul (Alentejo e Algarve), onde inclusivamente é descrita uma forma espe-

cífica designada por “ $\beta$ -talassémia Portuguesa”. Pensa-se que esta distribuição geográfica desigual se deve à protecção que as formas clinicamente moderadas conferem contra a malária. Assim, nas regiões onde esta é endémica, por selecção natural tornou-se extremamente comum a heterozigotia para as mutações talassémicas.

### Classificação Clínica

A anemia de Cooley corresponde à forma grave da  $\beta$ -talassémia. Manifesta-se entre o 6º e o 8º mês de vida, altura em que, na criança normal a hemoglobina F, predominante durante a vida fetal, diminui, dando progressivamente lugar à forma do adulto, a hemoglobina A. Devido à inexistência de cadeias  $\beta$  ( $\beta^0 \beta^0$ ) ou ao seu número muito reduzido ( $\beta^+ \beta^+$ ) a hemoglobina A não se forma em quantidade normal. As cadeias  $\alpha$  em excesso precipitam no interior do glóbulo vermelho e originam a sua destruição, quer no interior da medula óssea (eritropoiese ineficaz) quer no sangue periférico aquando da sua passagem pelo baço (hemólise por sequestração esplénica). Como mecanismos de compensação assiste-se à hiperplasia da série eritrocítica medular e à eritropoiese extra-medular (fígado e baço). Surge uma anemia grave hipocrómica e microcítica (os glóbulos vermelhos são pequenos e com redução percentual da sua hemoglobina), expansão medular com deformações ósseas (torricefalia, fácies de “esquilo”), osteoporose com fracturas patológicas, aumento do volume do fígado e do baço (hepato-esplenomegalia), atraso do crescimento e do desenvolvimento.

A hidropsia fetal sobrevém à ausência dos 4 genes responsáveis pela síntese de cadeias  $\alpha$  (---). Estas estão ausentes, enquanto as cadeias  $\beta$  e  $\gamma$  em excesso polimerizam com aparecimento de hemoglobinas anormais: Hb H ( $\beta_4$ ) e Hb Barts ( $\gamma_4$ ). A Hb A não é sintetizada. Esta situação leva à morte ao fim de algumas horas de vida, ou mesmo à morte “in utero”.

A doença da hemoglobina H surge quando a criança herda apenas um gene  $\alpha$

(--/- $\alpha$ ), do que resulta a formação de Hb H ( $\beta_4$ ) que constitui mais de 30% do total de hemoglobina presente nos glóbulos vermelhos. A hemoglobina H é um tetrâmero instável no eritrócito maduro. Precipita sobretudo perante “stress” oxidativo (por exemplo, com fármacos oxidativos tais como sulfonamidas) formando inclusões citoplásmicas, as quais são responsáveis por hemólise. Na fase inicial da vida do eritrócito a Hb H mantém-se solúvel, não causando eritropoiese ineficaz.

As talassémias *minor* ocorrem em indivíduos heterozigóticos, devido a uma mutação que afecta a síntese da globina,  $\alpha$  ou  $\beta$ . Caracteristicamente, os glóbulos vermelhos são microcíticos e hipocrómicos. A contagem total dos glóbulos vermelhos está aumentada (10-20% superior ao normal) sendo a anemia, quando presente, ligeira. A distinção entre o traço  $\beta$ -talassémico e o

traço  $\alpha$ -talassémico só é possível com testes laboratoriais (electroforese das hemoglobinas) que demonstram, no caso do traço  $\beta$  talassémico, um discreto aumento da Hb A<sub>2</sub> ( $\alpha_2\delta_2$ ) e da Hb F ( $\alpha_2\gamma_2$ ).

Nos portadores assintomáticos, o defeito na síntese da globina  $\alpha$  ou  $\beta$  é tão pequeno que não há alteração evidente da síntese da hemoglobina.

#### IV SEMINÁRIO

##### **Tema: OBESIDADE – da Bioquímica à Clínica**

##### **Subtemas:**

- Definição e epidemiologia
- Transporte e utilização dos lípidos corporais
- Bases bioquímicas da obesidade
- Repercussões metabólicas da obesidade
- Repercussões clínicas e complicações da obesidade
- Terapêutica da obesidade

##### **Intervenientes**

###### Docentes Convidados

- Doutor Pedro Eurico Lisboa (Chefe do Serviço de Medicina III/HSM e Prof. Aux. Conv. de Medicina III-A/FML)
- Dr<sup>a</sup>. Isabel do Carmo (Interna do Serviço de Medicina /HSM)

###### Docentes do Instituto de Bioquímica/FML

- Doutor J. Martins e Silva (Prof. Cat.)
- Dr. José Rodrigues Loureiro (Monitor do Inst. Bioquímica/FML e Interno do I. Geral/HSM)

###### Aluno

- João Paulo Janeiro (Aluno do 2º ano e monitor voluntário do Instituto de Bioquímica)

#### **DEFINIÇÃO E EPIDEMIOLOGIA**

*José Rodrigues Loureiro*

A obesidade define-se como uma situação em que há acumulação excessiva de tecido adiposo acima dos padrões normais para o sexo e idade do indivíduo. Para que se possa quantificar o grau de obesidade, foram criados vários índices ou parâmetros, dos quais um dos mais usados na prática é o Índice de Massa Corporal ou IMC = peso(Kg)/estatura (m<sup>2</sup>) (Quadro I).



**Quadro I** – Classificação do Grau de Obesidade

Grau	Classificação	IMC
Grau 0	Normal	20,0 – 24,9
Grau I	Excesso de peso	25,0 – 29,9
Grau II	Obesidade	30,0 – 39,9
Grau III	Obesidade mórbida ou super-obesidade	≥ 40,0

Relativamente à prevalência da obesidade na população portuguesa, verifica-se que a maior parte se situa no grau I, sendo raros os casos de obesidade mórbida. Há maior prevalência de obesidade entre as mulheres, as quais parecem ter formas graves de obesidade mais frequentemente do que os homens.

A obesidade pode ser classificada em:

- Primária (95% do total) em que não há causa específica identificada;
- Secundária (5% do total), em que a obesidade é sinal de uma doença conhecida p. ex., insulinoma (tumor produtor de insulina), síndrome de Cushing (excesso de produção de hormonas esteróides), hipotireoidismo (défice de hormona tiroideia, disfunções hipotalâmicas, ou outros defeitos congénitos), ou resulta de factores identificados (p. ex., por acção de alguns fármacos).

A obesidade pode também classificar-se segundo o número de adipócitos em:

- Hiperplásica – há aumento do número de adipócitos; corresponde à obesidade de início na infância ou no adulto, quando o peso excede em 70% o peso ideal;
- Hipertrófica – há aumento do volume dos adipócitos sem aumento do seu número. Corresponde à obesidade de início na idade adulta.

A obesidade é também classificada segundo a distribuição anatómica:

- Andróide – há aumento de tecido adiposo preferencialmente a nível abdominal; é a obesidade do adulto do sexo masculino;
- Ginóide – há acumulação preferencial de tecido adiposo ao nível da região glútea e pélvica; é a que se encontra normalmente nos adultos do sexo feminino;
- Universal – deposição de tecido adiposo idêntica nas metades superior e inferior do corpo; é característica da obesidade de início da infância.

## TRANSPORTE E UTILIZAÇÃO DOS LÍPIDOS CORPORAIS

*J. Martins e Silva*

### Digestão e Absorção

A digestão lipídica começa no estômago por acção de uma lipase presente no estômago e que, na maior parte, provém de glândulas localizadas na extremidade posterior da língua. Esta lipase (estável ao pH ácido próprio do estômago) converte lentamente os triacilgliceróis (que constituem cerca de 90% dos 60-100g diários de lípidos alimentares) em ácidos gordos e monoacilgliceróis.

A digestão lipídica é particularmente activa no intestino, por acção de uma lipase secretada pelo pâncreas e específica para as ligações ésteres dos carbonos alfa do glicerol. A acção enzimática é facilitada pelo efeito emulsionante e detergente dos ácidos biliares. Todavia, os ácidos biliares são inibidores da lipase. A acção enzimática é desbloqueada por um cofactor (co-lipase) de natureza proteica, também secretado pelo pâncreas que, ao remover um fragmento de dez aminoácidos da extremidade NH<sub>2</sub> da lipase, a torna plenamente activa. A par da lipase, a digestão lipídica é completada por uma esterase e fosfolipases pancreáticas com acção, respectivamente, nos ésteres de colesterol e em outros ésteres ou fosfolípidos.

Os ácidos gordos e os monoacilgliceróis são captados pelas células epiteliais do intestino delgado. Nestas células, os triacilgliceróis são re-sintetizados a partir de monoacilgliceróis e ácidos gordos de cadeia extensa (superior a 12 carbonos) absorvidos. O glicerol 3-fosfato, derivado da glicose, pode igualmente dar origem ao triacilglicerol sintetizado no epitélio intestinal.

Seguidamente, formam-se glóbulos lipídicos que contêm no interior triacilgliceróis e lípidos não-polares (p.ex., ésteres de colesterol) e são revestidos à superfície por fosfolípidos e proteínas específicas (designadas apo-proteínas). Estes glóbulos lipo-proteicos, designados *quilomicra*, entram na circulação linfática donde chegam, pelo canal torácico, à circulação venosa. Os ácidos gordos de cadeia curta (10 carbonos ou menos) atravessam as células do epitélio intestinal desde o lúmen ao pólo oposto, entrando directamente na circulação sanguínea e, pela veia porta, chegam ao fígado.

### Lipoproteínas

Os lípidos, pela sua insolubilidade em solução aquosa, circulam unidos a moléculas solubilizantes (proteínas) ou sob composição modificada.

Há 3 formas circulantes de lípidos: corpos cetónicos, complexos ácidos gordos-albumina e lipoproteínas.

As lipoproteínas são complexos de proteínas e lípidos de densidade, peso molecular, dimensões e composição química diversa. As proteínas associam-se aos lípidos das lipoproteínas por forças não covalentes, sendo fundamentalmente uma forma de transporte no plasma.

São reconhecidos cinco principais tipos de lipoproteínas:

- Quilomicra (pós-prandial)
- VLDL (lipoproteínas de densidade muito baixa)
- IDL (lipoproteínas de densidade intermédia)
- LDL (lipoproteínas de densidade baixa)
- HDL (lipoproteínas de densidade elevada)

Os 4 últimos tipos são detectados também em jejum. O destino metabólico das lipoproteínas é determinado pelas espécies de apoproteínas que as formam.

Estão identificados 7 tipos diferentes de apoproteínas (de A a G), algumas com subgrupos.

O transporte de lípidos no organismo é processado por dois mecanismos (endógeno e exógeno). O exógeno refere-se aos lípidos de origem alimentar, transportados pelos quilomicra do intestino aos órgãos não-hepáticos (músculo e tecido adiposo) que recebem ácidos gordos (por hidrólise de triacilgliceróis, mediada pela lipoproteína-lipase local). O que resta dos quilomicra (quilomicra remanescente, com colesterol e muito menor quantidade de triacilgliceróis) é captado pelo fígado, mediante receptores hepáticos que reconhecem as apoproteínas daqueles complexos. O sistema endógeno inicia-se com a síntese de VLDL no fígado, a qual transporta lípidos (sobretudo triacilgliceróis e colesterol) do fígado para os órgãos periféricos. A nível dos tecidos adiposo e muscular, em consequência da hidrólise dos triacilgliceróis pela lipoproteína-lipase endotelial, as VLDL tornam-se fornecedoras de ácidos gordos àqueles tecidos, após o que se transformam em IDL. Esta lipoproteína tem dois destinos: regressa ao fígado ou transforma-se em LDL, a qual é a principal transportadora de colesterol aos tecidos periféricos (p.ex., para a síntese de esteróides no córtex, regeneração de membranas). A LDL, reconhecida por receptores celulares periféricos, entra nas células por endocitose, em conjunto com o respectivo receptor membranar. Seguidamente, dá-se a separação de receptores, apoproteínas e colesterol livre e ésteres de colesterol. Em geral, os dois primeiros regressam à superfície celular, sendo reaproveitados no novo ciclo, enquanto a utilização do colesterol depende das necessidades intracelulares no momento.

## BASES BIOQUÍMICAS DA OBESIDADE

*José Rodrigues Loureiro*

Vamos referir apenas à obesidade primária que corresponde à grande maioria dos casos.

Para que se origine uma acumulação de tecido adiposo é condição necessária que exista discrepância entre a ingestão calórica e os gastos energéticos.

Classicamente considerava-se que o obeso era um indivíduo com ingestão alimentar excessiva relativamente às suas necessidades. Esta é de facto uma condição necessária mas não é por si suficiente. Com efeito, sabe-se que indivíduos com padrões de comportamento alimentar idênticos e com estados de actividade física semelhantes têm evoluções ponderais diferentes. Portanto, existirão outros factores e, recentemente, têm surgido algumas pistas que apontam para a existência de disfunções metabólicas.

O comportamento alimentar de um indivíduo é controlado por estruturas hipotalâmicas que influenciam o córtex cerebral, sede dos nossos actos voluntários. Existem mecanismos de indução da saciedade identificados, nomeadamente a distensão gástrica, o aumento dos níveis de glicose, insulina e aminoácidos no sangue, responsáveis por uma regulação a curto prazo da ingestão alimentar. Há autores que defendem a teoria da existência de um “ponderostato” comandado pela massa de tecido adiposo corporal (através de mediadores como o glicerol, por exemplo) que alterariam o comportamento alimentar do indivíduo de modo a mantê-lo em torno de um determinado peso fixo. A forma como se estabelece esse “set-point” é desconhecida, podendo ser um factor hereditário. Assim sendo, os obesos (ou certos obesos) mais não seriam que vítimas do seu património genético.

Os mecanismos de indução da saciedade alimentar são muito complexos e encontram-se ainda longe de serem totalmente compreendidos. Algumas alterações têm sido encontradas na obesidade que podem justificar a ingestão calórica excessiva. Como exemplos, cito a diminuição dos níveis de certos péptidos – as “sacietinas” – que parecem induzir a saciedade alimentar e o bloqueio do efeito anorexizante da serotonina por diminuição da sua síntese a nível do SNC.

Relativamente ao consumo energético, verifica-se que, na obesidade estabelecida há um aumento do consumo total de energia. O consumo total de energia depende de três componentes:

- Metabolismo basal: está aumentado nos obesos, que é consequência do aumento da massa não adiposa.
- Energia dispendida durante a actividade física: é idêntica ou superior nos obesos em relação aos normais, que tem a ver com o esforço acrescido de movimentar massa corporal maior.

- Termogénese da dieta (consiste na energia dispendida na assimilação e metabolismo dos nutrientes): têm sido descritos níveis diminuídos em certos obesos.

Poderá ser um factor etiológico/predisponente para a obesidade ou pode ser uma consequência. Contudo, o facto de a termogénese da dieta não normalizar após a regularização do peso sugere tratar-se de um factor etiológico, possivelmente genético, que pode ser responsável por aumentos de peso da ordem dos 10 – 15 Kg. Aumentos superiores não podem ser explicados só por este factor, requerendo também a existência de ingestão calórica aumentada.

A hipótese de uma alteração da actividade da lipoproteína-lipase (enzima que actua na captação pelo adipócito dos triacilgliceróis circulantes) desempenhar um papel no aparecimento da obesidade, tem sido amplamente investigada. Foram descritos níveis aumentados desta enzima em alguns obesos, favorecendo assim o armazenamento lipídico. Estes níveis mantêm-se aumentados após a redução ponderal, o que reforça a ideia de se tratar de um factor causal e explica a tendência para a regressão ao peso inicial. A lipoproteína-lipase do tecido adiposo da região glúteo-femural da mulher é particularmente sensível à estimulação pelas hormonas sexuais femininas, assim se explicando a distribuição particular da obesidade na mulher. O facto de ser favorecida a formação destes depósitos lipídicos pela estimulação por progestagénios e estrogénios (estes provavelmente potenciando a acção dos anteriores) em situações de elevada necessidade energética, como a gravidez e a lactação, parece ter importância biológica como fonte adicional de energia.

O papel das várias alterações bioquímicas descritas isoladamente, com implicações na génese da obesidade, carece ainda, na sua maioria, de comprovação e enquadramento na grande diversidade de factores (sociais, culturais, psicológicos) que influenciam o comportamento alimentar e o padrão de actividade de cada indivíduo.

## **REPERCUSSÕES METABÓLICAS DA OBESIDADE**

*João Paulo Janeiro*

A obesidade, caracterizada por acumulação de triacilgliceróis no tecido adiposo, é acompanhada de diversas alterações a nível do metabolismo dos hidratos de carbono, lípidos, aminoácidos e, ainda, de modificações de ordem hormonal e hemorreológica.

### **Metabolismo dos Hidratos de Carbono**

A abundância de combustíveis suplementares presentes na obesidade vai reduzir o consumo de glicose, efeito este que pode ainda ser potenciado pelo facto do aumento de volume da célula adiposa, só por si, diminuir a entrada de glicose nesta célula. Gera-se assim hiperglicémia que, actuando ao nível do pâncreas, estimula a secreção de insulina, tendendo a causar uma situação de hiperinsulinémia; esta por sua vez, vai aumentar a síntese de ácidos gordos, constituindo-se assim um ciclo vicioso obesidade-hiperinsulinismo.

Em estudos feitos em ratos verificou-se que, ao longo do tempo, os ratos obesos apresentavam primeiro hiperinsulinémia e, depois, aumentavam os valores de glicemia com regresso da insulinémia ao normal. O metabolismo da glicose na célula adiposa diminui nos obesos, excepto na fase de hiperinsulinémia. Isto atribui-se à reacção de resistência a insulina no obeso, em que o número de receptores celulares para a insulina está diminuído. Este efeito é agravado por defeitos do mecanismo pós-receptor de acção da insulina, também presentes no obeso.

A diminuição da ligação da insulina a receptores, aliada à diminuição da sua degradação hepática (por aumento dos níveis de ácidos gordos livres), acentua a tendência para níveis elevados de insulina.

### **Metabolismo dos Lípidos e Lipoproteínas**

Os triacilgliceróis armazenados são formados a partir de ácidos gordos provenientes da dieta ou síntese hepática. A síntese lipídica no adipócito é estimulada na fase hiperinsulinémica. O excesso de insulina também aumenta o anabolismo hepático, havendo hiperprodução de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) que transportam lípidos endógenos. Por outro lado, as HDL têm composição profundamente alterada, com diminuição do conteúdo em colesterol em oposição ao aumento da quantidade de triacilgliceróis. No entanto, a quantidade plasmática das apoproteínas A-I e A-II constituintes das HDL mantém-se constante. No conjunto, vai aumentar a quantidade de triacilgliceróis no plasma. O aumento da produção de colesterol acompanha-se de grande quantidade excretada pela bÍlis, com transformação em ácidos biliares.

### **Metabolismo dos Aminoácidos**

Na obesidade observa-se aumento plasmático de aminoácidos de cadeia ramificada (valina, leucina, isoleucina), possivelmente devido à diminuição da sua captação (mediada pela insulina) nos tecidos periféricos, por insensibilidade destes à insulina. A hiperamoniemia funciona também como sinal para a libertação de insulina nas células beta do pâncreas.

No homem obeso diminui o nível de testosterona total e elevam-se os níveis de estrogénios, diminuindo também as globulinas de ligação das hormonas sexuais. Porém, os valores de testosterona livre são normais, não havendo assim manifestações clínicas.

No obeso surgem ainda alterações hemorreológicas, ou seja, alterações da fluidez sanguínea quando sujeito a forças externas. Há aumento da viscosidade do sangue e diminuição da actividade fibrinolítica. O plasminogénio (uma proteína do plasma), quando activado, transforma-se em plasmina, que tem propriedades fibrinolíticas, digerindo os filamentos de fibrina do coágulo. A elevação do nível de insulina tende a impedir essa activação.

### **Obesidades Andróide e Ginóide**

Existem dois padrões de distribuição de gordura:

- Andróide: deposição de gordura na porção alta do corpo
- Ginóide: em que a gordura predomina nas regiões mais baixas do corpo.

Estas diferentes distribuições parecem estar relacionadas com a maior actividade da lipoproteína-lipase nas regiões inferiores (glútea e femoral) na mulher, e diferenças metabólicas; na obesidade andróide as alterações (como a hiperlipidemia e resistência à insulina) são muito mais graves. As repercussões metabólicas da obesidade estão na base das complicações clínicas subsequentes.

## **TERAPÊUTICA DA OBESIDADE – FÁRMACOS E CIRURGIA**

*Isabel do Carmo*

### **Tratamento Farmacológico da Obesidade**

O tratamento farmacológico a usar na obesidade poderá ser constituído por tranquilizantes ou anorexizantes.

- Tranquilizantes – Usam-se sempre que há uma situação de ansiedade, associada à obesidade ou causadora de aumento do apetite. Nesse caso usam-se as benzodiazepinas, se possível em baixas doses. Devem evitar-se os anti-depressivos, visto que fazem aumentar o peso, seja porque aumentam o apetite seja porque diminuem o metabolismo basal.
- Anorexizantes – só devem ser usados no grau II de obesidade segundo Garrow (peso/altura<sup>2</sup> entre 30 e 40) e quando se constata que os doentes não conseguem aderir a um regime alimentar que terá que ser restritivo sob ponto de vista calórico. Os anorexizantes actuais dividem-se em:

- *Simpaticomiméticos* – muito usados em época recente, estão cada vez a ser mais abandonados, por causa dos efeitos secundários e da reversibilidade dos resultados conseguidos. Devem ser proibidos antes dos 18 anos.
- *Serotoninérgicos* – actuam como terapêutica de substituição daquilo que se considera o efeito serotoninérgico dos hidratos de carbono, diminuindo por isso a ingestão compulsiva deste nutriente. De entre estes são usados actualmente a dextrofenfluramina e a fluoxetina, mas há outros em investigação. Os serotoninérgicos promovem a diminuição das compulsões alimentares para os hidratos de carbono, com conservação do apetite para uma alimentação equilibrada.

### Tratamento Cirúrgico da Obesidade

O tratamento cirúrgico da obesidade deve ser encarado nos casos graves de obesidade grau III (peso/altura<sup>2</sup> maior que 40) ou de grau II extremo.

A intervenção cirúrgica pode ser correctiva ou plástica e destinada a impedir a ingestão exagerada de alimentos. A cirurgia plástica destina-se a fazer a ablação de grandes massas adiposas, como os aventais abdominais, ou a corrigir pequenas zonas, com a lipoaspiração. A cirurgia destinada a diminuir a ingestão exagerada pode ser feita através de fixação dos maxilares ou através de intervenção gástrica, seja por “by-pass”, seja por gastroplastia.

### REPERCUSSÕES CLÍNICAS E COMPLICAÇÕES DA OBESIDADE

*Pedro Eurico Lisboa*

**Quadro I**

CLASSIFICAÇÃO DA OBESIDADE		
Obesidade	Início infantil (“hiperplástica”)	
	Início no adulto	
Obesidade	Dinâmica	Aguda
		Crónica
	Estática	
Obesidade	Moderada	
	Intensa	
	Extrema	
	Letal (em regra $\geq 150\text{Kg}$ )	
	Harmónica	
Obesidade	Desarmónica	Predomínio inferior
		Centrípeta, etc





### Quadro VI

#### ETIOPATOGENIA DA OBESIDADE IDIOPÁTICA DINÂMICA AGUDA

Balanco calórico intensamente positivo durante:

O *período pós-matrimonial*, nos homens  
(redução dos “gastos” + aumento das “entradas”)

A *gravidez*, especialmente durante os primeiros meses  
(aumento das “entradas”)

A *abstenção tabágica*  
(aumento das “entradas”)

A *convalescença de Tuberculose Pulmonar* e de outras doentes como Febre Reumática, Insuficiência Cardíaca, etc.  
(aumento das “entradas” ± redução dos “gastos”)

As *férias*  
(redução dos “gastos”)

Períodos de *interrupção dos exercícios*, nos atletas  
(redução dos “gastos”)

*Mudança de profissão* e/ou de *regime de vida*  
(redução dos “gastos” e/ou das “entradas”)

- Promoção do operário a capataz
- 2<sup>a</sup> Casamento de mãe viúva
- início de trabalho servil, doméstico
- mudança de empregado para patrão

### Quadro VII

#### ETIOPATOGENIA DA OBESIDADE IDIOPÁTICA DINÂMICA CRÓNICA

Balanco calórico ligeiro e constantemente positivo durante:

o ENVELHECER (redução dos gastos)  
a mais importante de todas as obesidades moderadas....

as PROFISSÕES hiperfágicas (aumento das “entradas”)

- cozinheiras
- taberneiros....

**Quadro VIII**

<u>DIAGNÓSTICO DA OBESIDADE IDIOPÁTICA</u>	
1º	Exclusão das obesidades sintomáticas (Cushing!...)
2º	História da obesidade, com identificação das causas de balanço positivo
3º	Exclusão ou tratamento de doenças agraváveis pelo emagrecimento:
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tuberculose</li> <li>• Psiconeurose ansiosa</li> </ul>

**Quadro IX**

<u>HISTÓRIA DA NUTRIÇÃO</u>		
0	anos	3,8Kg
		↓
2/4	anos	“gordinha como todas”
		↓
7/12	anos	“era magrinha”, talvez abaixo da média
		↓
16	anos	56Kg peso certo, “era forte, mas não gorda”
		↓
18/22	anos	50/53Kg, casamento
		↓
23/24	anos	52/53Kg
		↓
25	anos	62Kg
		↓
± 40	anos	70Kg
		↓
± 44	anos	74Kg, peso máximo certo
		↓
45/47	anos	72/73Kg, diagnóstico de diabetes
		↓
49/50	anos	70/72Kg

1º filho: 3,8Kg	pet
2º filho: 4,6Kg	pet
0/+ .... comprimidos vários	
0/+ .... clorprop. 1-0-0	

**Quadro X**

Dietas hipocalóricas artificiais ou cumpridas pela acção de anorexígenicos  
*Não curam* a obesidade  
 A recidiva seguirá, inevitavelmente, a sua suspensão com a retoma dos antigos maus hábitos alimentares

**Quadro XI**

Só a rejeição, definitiva, dos maus hábitos alimentares e a aquisição de hábitos de restrição calórica adequada de grau individualizado para cada caso, permitem a *cura* da obesidade

**Quadro XII**

Educação, é o ensino de um pensamento e de uma acção  
 e, depois, é o exemplo do mestre e a sua vigilância disciplinadora do comportamento até à criação do hábito

**Quadro XIII**

MECANISMO DA SACIEDADE  
 (antes e além da regulação hipotalâmica do apetite)

- 1º Estádio – Psicológico  
 “Apresentação” dos alimentos (mesa “posta”, com toalha, talheres, travessa “composta”)  
Sequência dos pratos, com o “ritual” de se servir da travessa para o prato  
Convívio à refeição  
 (refeição de “família”, ritual da refeição partilhada...)  
 “Ritual de encerramento” (condicionamento reflexo da saciedade)  
 pela sobremesa e, principalmente, pelo café ou chá
- 2º Estádio – Bucal  
 Demora e mastigação
- 3º Estádio – Gástrico  
 Repleção gástrica
- 4º Estádio – Humoral  
 Elevação da concentração sanguínea dos nutrientes (e/ou “factores humorais”)

**Quadro XIV***MAUS HÁBITOS alimentares causadores da OBESIDADE*

- Comer depressa
- Alimentos mal mastigados, devorados
- Comer até “encher a barriga”
- Alimentos mal escolhidos; preferência pelo hipercalóricos
- Jejuns prolongados (jejum matinal até ao almoço, uma só refeição diária “de talher”....)

Apetite saciado, ao nível humoral, pelo jejuns prolongados (cetose e/ou elevação dos ácidos gordos livres?....), despertado pelo início da refeição e, progressivamente, exaltado por devorar os alimentos, em ciclo vicioso, só terminado pela saciedade do enfartamento, da total repleção gástrica (“carnívoro caçador” ou, melhor, “jibóia”...)

**Quadro XV***Cura da OBESIDADE pela EDUCAÇÃO ALIMENTAR*

É pela repleção gástrica que, em regra, os obesos saciam o apetite. A sua *Educação Alimentar* tem como objectivo principal transferir a saciedade da repleção gástrica para os outros três estádios, terminando a refeição sempre antes da sensação de repleção.

**Quadro XVI***Cura da OBESIDADE pela EDUCAÇÃO ALIMENTAR*

Rejeição dos maus hábitos alimentares e aquisição dos bons hábitos, seus opostos:

- Comer *devagar*
- Alimentos *bem mastigados*
- Alimentos *bem escolhidos*
- Alimentos *divididos por “toda a hora”*
- Sem nunca “*encher o estômago*”

Apetite saciado ao nível psicológico e bucal e, saltando o gástrico, também ao nível humoral (“herbívoro” ou, melhor, “macaco”...)

**Quadro XVII**

Vigilância e terapêutica complementar da  
*DIETA DE EMAGRECIMENTO*

---

- Registo sinóptico de peso, número de refeições, medidas corporais e ocorrências significativas
- Vigilância médica de 3/3 semanas  
(alternadamente, consulta ou telefonema)
- Anorexiante em dose sub(!)anorexiante  
(1/4 a 1/6 de comprimido, 1 a 2 ×/dia!)  
Só depois e enquanto perder peso
- Exercício! ou, no seu impedimento, anabolizantes....
- Psicoterapia de apoio  
(felicitações e repreensões, “notas” de 0 a 19 valores  
“20 valores” só 2 anos após a cura ...)
- Vigilância atenuada após a cura, de 3/3 meses,  
Durante 1-2 anos de peso adequado estável

**Quadro XVIII**

Ser gordo é ser mal educado

Má educação não a tem só quem fala mal mas, também, quem come mal e o gordo come, certamente, muito mal.

Curar a obesidade é educar o obeso, que come mal, a comer bem para o resto da sua vida

**Quadro XIX**

Classificação da *MAGREZA*

---

Magreza	<p><i>Magreza</i> propriamente dita</p> <p><i>Emaciação</i> – atrofia muscular</p> <p><i>Extrema magreza</i> – desaparecimento do pâncreo adiposo (no homem compatível com a saúde, na mulher precedida de emaciação)</p> <p><i>Caquexia</i> – extrema magreza + emaciação (estigmas: espáduas aladas, costelas visíveis à inspiração, cristas ilíacas visíveis e salientes, espaço entre-coxas)</p>
---------	--

## V SEMINÁRIO

**Tema: RESPOSTA IMUNITÁRIA – PERSPECTIVAS BIOQUÍMICAS, FISIOPATOLÓGICAS E CLÍNICAS**

### Subtemas:

- Imunidade e disfunção do sistema imunitário
- Bases bioquímicas da resposta imunitária
  - I – Imunoglobulinas
  - II – Linfócitos B e T
- Alterações da imunidade celular

### Intervenientes

Docentes Convidados

- Dr. Manuel Barbosa (Assistente de Medicina I/FML)
- Dr. Luís Tavares (Interno do Serviço de Doenças Infecciosas/HSM)

Docentes do Instituto de Bioquímica/FML

- Dra. Yolanda Pinto (Assistente Estagiária)
- Dr. José Rodrigues Loureiro (Monitor do Instituto de Bioquímica e Interno do Internato Geral/HSM)

**RESPOSTA IMUNITÁRIA NORMAL. DISFUNÇÕES DO SISTEMA IMUNITÁRIO – doença alérgica, doença auto-imune**

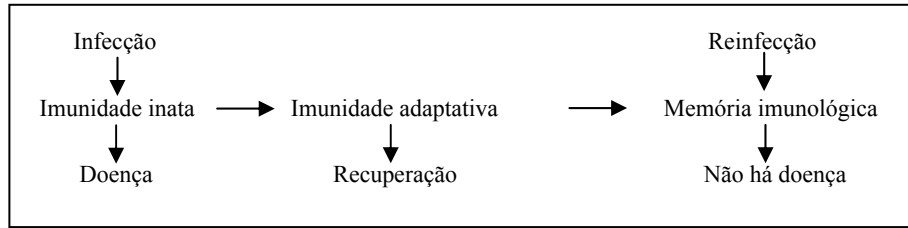
*Manuel Barbosa*

### Introdução

Etimologicamente, o termo imune significa “isento de”. Imunes eram os patrícios romanos porque estavam “isentos” de pagar impostos. Extrapolando, poder-se-á dizer que, para estarmos isentos de doença, temos que ter um sistema “imune” que nos defenda da agressão *latu sensu* considerada (bactérias, vírus, células neoplásicas, parasitas, etc.).

A evolução das espécies permitiu o aperfeiçoamento deste sistema de defesa que, sumariamente, podemos dividir em “inato” (sem especificidade) e “adaptativo” (com especificidade e memória). O sistema imune vigia ainda o “desvio” das células do “self”, ou seja, reconhece o que é “próprio” do que é estranho ou, do que sendo “próprio”, se encontra alterado.

Em circunstâncias normais o equilíbrio entre a agressão e a resposta evita a doença, mas este equilíbrio pode romper-se porque o sistema falha, sendo incapaz de controlar o processo de agressão, ou porque o sistema perde capacidade de resposta (imunodeficiência), ou porque o sistema exagera a resposta (doença auto-imune, doença alérgica):



### Sistema Imune Inato:

Factores solúveis – Lizosima, complemento, proteínas de fase aguda, interferão, etc.

Células – Fagocitos, células “natural killer” (N.K).

### Sistema Imune Adaptativo:

Anticorpos – Linfócitos B – Imunidade humoral

Linfócitos – Imunidade celular

### Sistema Imune Inato:

- Defesas exteriores
  - Mucosas
  - Células ciliadas do aparelho respiratório
  - Secreções ácidas do estômago
  - Glândulas sebáceas
  - Lizosimas
  - Organismos comensais do tubo digestivo e vagina
- Fagocitos e N.K.
  - Fagocitos da linha monocito/macrofágica
  - N.K. citotoxicidade
- Proteínas de fase aguda e interferões – Proteína-C-reactiva
  - Complemento, opsonização
  - Interferões

### Imunidade adaptativa

A especificidade da resposta imune é baseada na especificidade dos anticorpos e linfócitos:



Não “self” Antigénio	resposta não adaptativa	“self” resposta adaptativa
↓ primeiro contacto	+	+
segundo contacto	+ (sem memória)	++++ (memória)

**Disfunções do sistema imunitário:**

Diminuição da resposta

- imunodeficiências primárias
- imunodeficiências secundárias

Exagero da resposta

- doenças auto-ímmunes
- doenças alérgicas

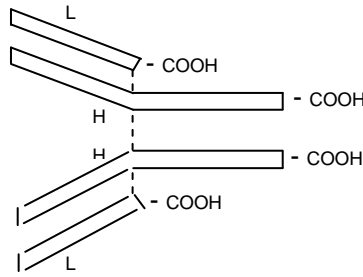
**BASES BIOQUÍMICAS DE RESPOSTA IMUNITÁRIA. I – Imunoglobulinas**

*Yolanda Pinto*

As imunoglobulinas são proteínas (globulinas) com pesos moleculares variáveis entre 150.000 a 900.000 daltons, constituindo cerca de 20% das proteínas plasmáticas. Também conhecidas por anticorpos, são produzidas pelo organismo em resposta à presença de substâncias estranhas (antigénios). O anticorpo associa-se ao antigénio de forma não-covalente, iniciando o processo de destruição funcional do antigénio.

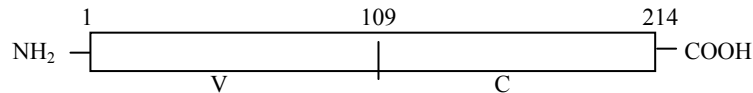
A unidade básica de todas as imunoglobulinas consiste em quatro cadeias polipeptídicas unidas por ligações bissulfito (Fig. 1). Existem duas cadeias pesadas (cadeias H) e duas cadeias leves (cadeias L) distintas entre si pelo número sequência de aminoácidos. Também existem resíduos de carboidratos ligados à cadeia H pelo que as imunoglobulinas podem ser classificadas como glicoproteínas. Os resíduos de carboidratos identificados incluem D-manose, D-galactose, L-frutose, glicosamina e ácido D-acetilneuramínico.

A cadeia L de uma imunoglobulina (Fig. 2) consiste numa região variável – V (resíduos de aminoácidos 1 a 108) e numa região constante – C (resíduos de aminoácidos 109 a 214) que contém, respectivamente, as extremidades amina (NH<sub>2</sub>) e carboxilo (COOH). Existem dois tipos principais de cadeias L: κ e λ. Ambas apresentam um resíduo cisteína na extremidade carboxilo, que irá formar a ligação bissulfito com a cadeia H na molécula de imunoglobulina. Todas as κ têm a mesma região constante com



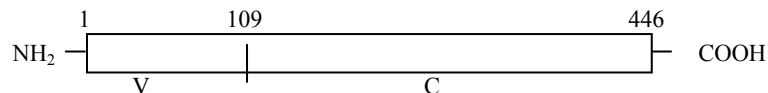
**Fig. 1** – Estrutura básica de uma imunoglobulina, em que L e H representam respectivamente cadeias leves e pesadas. O tracejado indica ligações bissulfito.

excepção do resíduo de aminoácido 191, que pode ser a leucina ou a valina. As cadeias  $\lambda$  apresentam variabilidade apenas na posição 191, que pode ser a lisina ou a arginina. Existe um predomínio do tipo  $\kappa$  sobre o tipo  $\lambda$ , de tal modo que aproximadamente cerca de 70% das imunoglobulinas humanas possuem cadeias leves  $\kappa$  e 30% cadeias do tipo  $\lambda$ . Cada tipo de cadeia L pode estar associada com qualquer uma das classes de cadeia pesada.



**Fig. 2** – Representação esquemática da cadeia leve de uma imunoglobulina, em que V e C representam respectivamente as regiões variável e constante.

A cadeia H é constituída por 446 resíduos de aminoácidos, apresentando, tal como a cadeia leve, uma região variável e uma constante (Fig. 3). Todas as diferenças na sequência peptídica localizam-se no resíduo do aminoácido 108. A região variável da cadeia H apresenta igual comprimento à da cadeia L, mas a região constante é cerca de três vezes maior



**Fig. 3** – Representação esquemática da cadeia pesada de uma imunoglobulina, em que V e C representam respectivamente as regiões variável e constante.

As diversas proporções ou domínios (regiões constante e variável) da molécula permitem a classificação das imunoglobulinas e induzem propriedades características.

Existem cinco classes de imunoglobulinas (IgA, IgD, IgE, IgG, IgM) cujas características químicas e estruturais são conhecidas (Quadro I). A

cada classe corresponde determinado tipo de cadeia pesada:  $\alpha$  para a IgA,  $\delta$  para a IgD,  $\epsilon$  para IgE,  $\gamma$  para a IgG e  $\mu$  para a IgM. Na mesma imunoglobulina existe sempre um par de cadeias pesadas do mesmo tipo. A fórmula molecular de cada imunoglobulina é representada pela associação das cadeias L e H. Como exemplo, descrevem-se a IgA por  $\alpha_2\kappa_2$ ,  $\alpha_2\lambda_2$ , e a IgG por  $\gamma_2\kappa_2$ ,  $\gamma_2\lambda_2$ .

Variações na estrutura molecular da cadeia pesada dentro de uma classe originam diferentes subclasses. Para a IgG humana descrevem-se quatro subclasses – IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> e IgG<sub>4</sub> – cujas cadeias pesadas se designam respectivamente por  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$ ,  $\gamma_3$ ,  $\gamma_4$ .

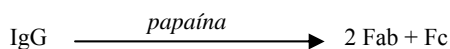
A imunoglobulina IgM, em geral, forma um pentâmero de cinco monômeros de L<sub>2</sub>H<sub>2</sub>.

O polímero da IgA plasmática corresponde às formas de monômero, dímero ou trímero, em que para além das duas cadeias L e duas cadeias H se encontra ainda uma cadeia J, ou de junção, que une as outras (esta também existe na IgM).

Enzimas, como a papaína e a pepsina, permitem a clivagem das cadeias de imunoglobulinas em fragmentos com propriedades imunológicas e funcionais distintas.

A papaína cliva as cadeias H na extremidade carboxilo próximo da ligação bissulfito que une as cadeias H e L. O fragmento Fab resultante é composto pela cadeia L inteira e pelo domínio da cadeia H que contém a extremidade amina, enquanto o Fc engloba os segmentos de ambas as cadeias H em que estão as extremidades carboxilo.

A papaína cliva a IgG em três fragmentos: dois Fab (PM=52.000) e um Fc (PM=48.000):



**Quadro I:** Características químicas e estruturais das classes de imunoglobulinas

Classe	Peso molecular × 10 <sup>3</sup> (daltons)	Tipo de cadeias		Estrutura molecular	Carboidratos %
		(L)	(H)		
IgA	180-500	$\kappa$ ou $\lambda$	$\alpha$	(L <sub>2</sub> H <sub>2</sub> )n*	7-12
IgD	175	$\kappa$ ou $\lambda$	$\delta$	L <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	–
IgE	190	$\kappa$ ou $\lambda$	$\epsilon$	L <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	10-12
IgG	140-170	$\kappa$ ou $\lambda$	$\gamma$	L <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	2-4
IgM	950	$\kappa$ ou $\lambda$	$\mu$	L <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	10-12

\* n = 1, 2 ou 3

Os fragmentos Fab contêm todos os centros de ligação dos anticorpos ao antigénio. Apenas porções restritas das moléculas antigénicas estão

envolvidas na ligação efectiva ao anticorpo. Essas áreas são determinantes antigénicos (ou epitopo) e responsáveis pela especificidade das reacções antigénio-anticorpo.

O Fc não está envolvido na especificidade do anticorpo ao antigénio, mas exerce funções de effector, tais como a fixação a proteínas do sistema de complemento.

Existem três tipos de variantes genéticas para os anticorpos: isotípicas, alotípicas e idiotípicas. A primeira corresponde às diferentes classes e subclasses de imunoglobulinas. A variante alotípica ocorre principalmente na região constante das cadeias pesadas, enquanto a idiotípica existe apenas nos domínios variáveis.

Os idiotipos são específicos para cada molécula de anticorpo, o que lhe permite reagir apenas com uma substância antigénica.

## **BASES BIOQUÍMICAS DE RESPOSTA IMUNITÁRIA. II – Linfocitos B e T**

*José Rodrigues Loureiro*

Quando no organismo humano há introdução de antigénios (substâncias capazes de desencadear a síntese de anticorpos), ocorre uma série de fenómenos que consistem no reconhecimento dessa substância como estranha e no seu processamento e apresentação a células imunocompetentes, capazes de desencadear reacções conducentes à neutralização e/ou eliminação desse antigénio.

Essas reacções podem ser mediadas por anticorpos (produzidos pelos plasmócitos que são células derivadas dos linfocitos B) – imunidade humoral – ou por células, entre as quais os linfócitos T desempenham funções importantes – imunidade celular.

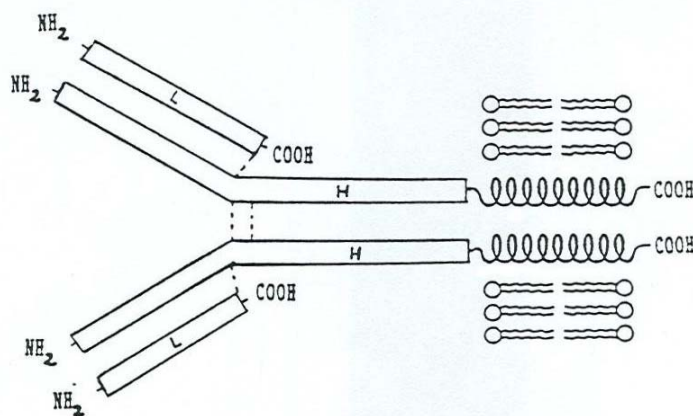
### **Reconhecimento do antigénio pelo linfócito B**

Anticorpos específicos para determinado antigénio são detectáveis no soro pouco tempo depois da exposição do organismo a um determinante antigénio estranho. Para explicar este facto, foram propostas diferentes teorias. Em 1940 Pauling propunha que a molécula de antigénio actuaría como padrão, segundo o que uma cadeia primitiva de anticorpo seria “moldada” de modo a expor os locais de combinação que lhe confeririam especificidade para esse antigénio. Mais tarde (1950), M. Burnet, N. Jerne, D. Talmage e J. Ledelberg defendiam uma teoria radicalmente diferente – teoria da selecção clonal. Esta teoria, com forte sustentação experimental, é hoje firmemente aceite e caracteriza-se por:

- Cada célula produtora de anticorpos sintetiza um só tipo específico de anticorpos;

- A função de síntese de um tipo específico de anticorpo é-lhe atribuída antes da exposição ao antígeno;
- A especificidade do anticorpo é determinada pela sua sequência de aminoácidos;
- A sequência de aminoácidos das cadeias de imunoglobulina é determinada pelo código genético da célula que as produz;
- Uma célula produtora de anticorpos é activada quando fixa o antígeno para o qual tem especificidade, ou seja, inicia a produção de grandes quantidades de anticorpos e é estimulada a dividir-se, constituindo um clone (conjunto de células derivadas de uma mesma célula-mãe, possuindo o mesmo código genético e produzindo portanto moléculas – anticorpos – com a mesma especificidade);
- O clone tende a persistir após o desaparecimento do antígeno e as células que o constituem mantêm a capacidade de serem estimuladas pelo antígeno se este reaparecer, o que permite dotar o organismo de uma memória imunológica e uma resposta rápida a uma eventual re-infecção – esta é a base da vacinação.

O linfócito B, como qualquer célula, é separado do meio exterior por uma membrana organizada segundo o modelo do mosaico fluido. No caso do linfócito B, sabe-se que as alterações induzidas pelo antígeno se processam através de receptores para esses antígenos que estão situados ao nível da membrana celular; esses receptores não são mais do que moléculas de imunoglobulinas. Os anticorpos ligados à membrana têm a mesma especificidade que os anticorpos solúveis que serão lançados para o meio exterior pela célula, uma vez activada. Os anticorpos ligados à membrana têm a mesma constituição em aminoácidos que as formas livres, com excepção da extremidade carboxilo terminal das cadeias pesadas onde se encontra ligada uma sequência hidrofóbica que é responsável pela fixação de moléculas à membrana (Fig. 4).



**Fig. 4** – Representação esquemática da estrutura de uma imunoglobulina ligada à membrana.

O linfócito B é, portanto, activado pela ligação do antígeno à imunoglobulina de membrana. Os processos moleculares responsáveis pela transdução do sinal, resultante da ligação do antígeno, não são ainda completamente compreendidos, mas a activação da fosfolipase C (enzima ligada à membrana que hidrolisa o fosfatidilinositolpirofosfato (PIP<sub>2</sub>)) parece participar nesse mecanismo. A activação do linfócito B traduz-se na proliferação do retículo endoplasmático rugoso, estimulação da síntese de anticorpos e multiplicação celular.

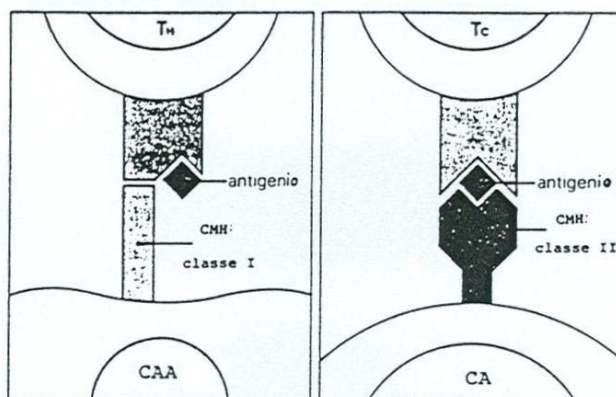
### Reconhecimento do antígeno pelo linfócito T

A resposta imune humoral (linfócitos B/anticorpos) é mais eficaz no combate a bactérias e vírus em meio extracelular. A resposta imune celular, pelo contrário, destrói principalmente células infectadas por vírus, parasitas e células anormais, nomeadamente as cancerosas.

Existem vários sub-tipos de linfócito T. De entre estes, destacam-se os T auxiliares (ou T helper) e os T citotóxicos. Os primeiros interactuam com os linfócitos B, estimulando-os, e os segundos destroem directamente as células estranhas ou anormais (Fig. 5).

Tal como os linfócitos B, também os T estão dotados de receptores de membrana capazes de reconhecerem moléculas estranhas na superfície de outras células. Os receptores de células T são também proteínas de estrutura idêntica à molécula de anticorpo, embora com algumas diferenças importantes:

- Não são segregados, encontrando-se exclusivamente à superfície da membrana do linfócito;
- Não reconhecem as macromoléculas inteiras mas sim fragmentos os quais devem estar à superfície da célula (célula-alvo ou célula apresentadora do antígeno) que tem que expressar também uma proteína do complexo *major* de histocompatibilidade. O complexo *major* de histocompatibilidade (CMH) é uma zona cromossómica que codifica proteínas transmembrana. Essas proteínas constituem como que um marcador das células que pertencem ao organismo. São estas proteínas que estão envolvidas no desencadear de processos de rejeição de órgão, quando um órgão ou tecido de um organismo é transplantado para outro com um código genético diferente ao nível do CMH. Dividem-se em três classes, das quais se destacam aqui duas:
- Classe I – encontram-se em quase todas as células do organismo e são determinantes na apresentação de moléculas estranhas às células citotóxicas;
- Classe II – encontram-se apenas nas células do sistema imunitário e nas células dotadas de capacidade fagocítica.



**Fig. 5** – Representação esquemática da ligação entre os linfócitos T auxiliares (TH) e as células apresentadoras de antígenos (CAA) e entre os linfócitos T citotóxicos (Tc) e as células alvo (CA).

(adaptado de Roitt, Immunology, 1989)

Estas proteínas de classe I e II, tal como os receptores das células T, ligam péptidos derivados de proteínas estranhas e não as próprias proteínas integrais. O processo desenrola-se nas seguintes fases:

- A célula contém no seu interior proteínas estranhas resultantes (i) da fagocitose (é o caso de algumas células apresentadoras de antígenos), (ii) da infecção por vírus que sintetizam as suas próprias proteínas no interior da célula que parasitam, (iii) de alterações do metabolismo, com síntese de proteínas anormais (é o caso das células cancerosas);
- As proteínas estranhas ou anormais são hidrolisadas a nível dos lisossomas
- Alguns dos péptidos resultantes da hidrólise são transportados para a membrana plasmática em associação com proteínas de classe I ou II, ocorrendo então a ligação com o linfócito T.

Existem várias células com funções de apresentação de antígenos, como, por exemplo, os macrófagos (que se distribuem por todo o organismo e que têm capacidade de fagocitose e apresentação do antígeno aos linfócitos T e B) e as células de Langerhans (que se localizam na pele, não são fagocíticas e apresentam o antígeno aos linfócitos T). A activação dos linfócitos não passa só pela ligação mediada por receptores, acima descrita, envolvendo também a transmissão de sinais através de mediadores químicos designados genericamente por interleucinas (tipo de citocinas – ver mais à frente).

A activação dos linfócitos T desencadeia reacções diversas. No caso dos T citotóxicos vários mecanismos podem levar à destruição da célula alvo:

- A célula T possui grânulos que contêm perforina, a proteína monomérica que, juntamente com várias enzimas, é libertada junto à membra-

na celular da célula alvo; na presença de cálcio, as enzimas catalisam a polimerização da perforina que se liga à célula alvo, constituindo canais transmembrana; seguidamente enzimas lisossómicas da célula citotóxica são lançadas no espaço extracelular, penetrando na célula-alvo através dos poros pré-formados. A célula citotóxica parece estar protegida da acção da perforina por proteoglicanos dos grânulos, que se podem ligar à perforina;

- A célula citotóxica pode segregar mediadores químicos que, actuando localmente sobre receptores da célula alvo, vão alterar o seu metabolismo causando lesão celular.

A activação dos linfócitos T auxiliares desencadeia a produção de mediadores que vão actuar sobre outros elementos do sistema imunológico. Estes mediadores designam-se por linfocinas e, embora possam também ser produzidas por linfócitos B, são principalmente sintetizados pelo T.

As linfocinas, juntamente com mediadores semelhantes produzidos pelos macrófagos e outras células não pertencentes ao sistema imune, constituem o grupo das citocinas. Actuam sobre os linfócitos B e T, sobre os macrófagos, sobre células precursoras de células do sangue, sobre células do fígado, do osso, do músculo, do endotélio, activando, estimulando a divisão e a diferenciação celular, induzindo a expressão de proteínas do complexo *major* de histocompatibilidade.

As linfocinas são proteínas com 100 a 200 aminoácidos, entre os quais se incluem resíduos de cisteína que formam ligações bissulfito intramoleculares, importantes para as acções fisiológicas. As linfocinas actuam sobre as células-alvo através de receptores. Estes receptores, que estão habitualmente ausentes ou presentes em pequenas quantidades nas células, aumentam de número durante a activação celular, voltando depois aos valores basais. Vários estudos apontam para que o mecanismo de acção sobre a célula-alvo envolva a endocitose do complexo linfocina-receptor.

O sistema imunitário engloba ainda outros elementos celulares, outros mediadores, outros tipos de reacções. É um sistema altamente complexo em que todos os elementos se interrelacionam, completando-se, potenciando-se e suprimindo-se, na tentativa de cumprir a função de defesa do organismo contra os agentes infecciosos.

## **ALTERAÇÕES DA IMUNIDADE CELULAR**

*Luís Tavares*

As doenças que causam imunodeficiência podem envolver primariamente qualquer (ou vários, simultaneamente) componentes do sistema imunitário, incluindo os linfócitos, as células fagocitárias e os factores do complemento.



Apesar de alguns progressos no conhecimento do mecanismo íntimo e etiologia de algumas imunodeficiências, existem ainda várias lacunas em áreas de estudo das alterações, quer a nível celular quer a nível molecular.

Existem múltiplas síndromas de imunodeficiência, correspondentes a alterações mais acentuadas ao nível da imunidade celular (linfócitos T).

Podem classificar-se como síndromas de imunodeficiência (celular) primária, as seguintes: S. DiGeorge, S. Wiskott-Aldrich, Ataxia-telangiectasia e a imunodeficiência associada a timoma. Estas doenças são congénitas (daí a designação de primária) e muito raras.

As imunodeficiências adquiridas são, pelo contrário, muito frequentes. Na verdade, a quase totalidade dos fármacos imunoimunossupressores utilizados no tratamento de diversas doenças, pode conduzir a graus variáveis de imunodeficiência por alteração da imunidade humoral e, sobretudo, da imunidade celular.

A síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA) constituiu o paradigma das imunodeficiências por alteração da imunidade celular, razão pela qual pode constituir um bom modelo para ilustrar as alterações imunológicas de tipo celular.

A SIDA é causada por um vírus RNA (retroviridae) designado HIV\*. Este vírus infecta primariamente as células do grupo CD4-positivo, ou seja, a maioria dos linfócitos T e alguns monocitos. Os linfócitos CD4+, aqueles que possuem na sua superfície um receptor (é o próprio CD4) para o HIV, são na quase totalidade os também designados T helper.

Muito embora estejam esclarecidos poucos dados em relação à patogénese da infecção pelo HIV é um facto que existe, ao longo do curso de doença, uma diminuição gradual dos linfócitos CD4 (ou T helper).

Foram propostos, como veremos mais pormenorizadamente, diversos mecanismos que conduzem à depleção (diminuição) do número de linfócitos T4.

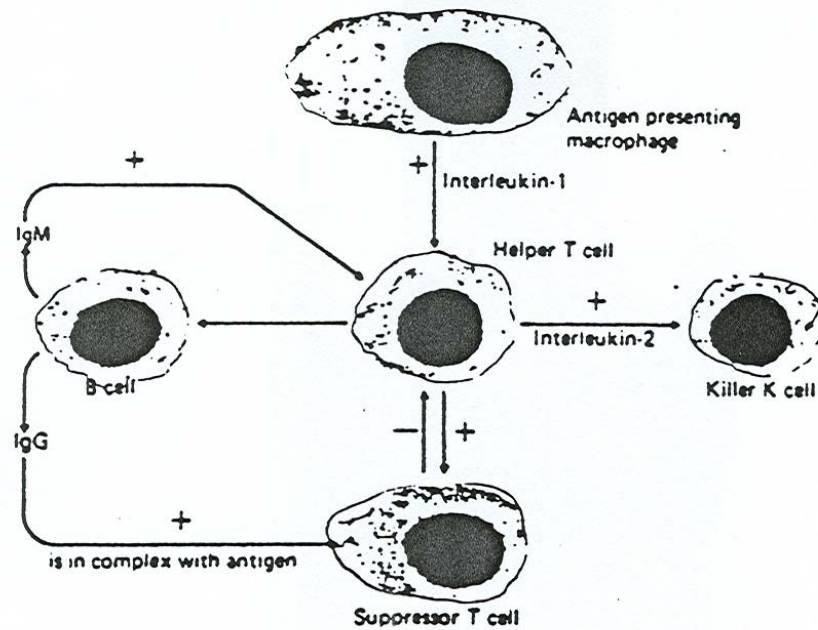
A Figura 6 ilustra o papel dos linfócitos T helper. Não é difícil admitir que a infecção pelo HIV se traduza por alteração acentuada na regulação do sistema imunitário a vários níveis.

Os linfócitos T helper também produzem factores que activam os macrófagos e a respectiva acção fagocitária. Os linfócitos T helper estimulam a multiplicação e a diferenciação dos linfócitos B, os quais são responsáveis pela produção de imunoglobulinas (anticorpos).

Estes factos conduzem a uma diminuição das defesas imunitárias em relação a algumas infecções. A consequência mais visível da infecção pelo HIV (e talvez a mais importante, pois é responsável pela evolução) é a ocorrência de múltiplas infecções “tornadas” possíveis dada a grave perturbação, sobretudo, da imunidade celular.

---

\* HIV é o acrónimo da designação anglosaxónica Human Immunodeficiency Virus



**Fig. 6** – Relações celulares do sistema imunitário  
(adaptado de Wigzell H. 1988)

#### Bibliografia específica

- Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology. Churchill Livingstone, 1989
- Hamblin AS. Lymphokines. IRL Press, 1988
- Mitchinson NA. T cell recognition and interaction in the immune system. In: Receptors, Antibodies and Disease, Ciba Foundation Symposium, 1982
- Stryer L. Biochemistry. WH Freeman and Company, 1987
- Devlin TM. Textbook of Biochemistry. John Wiley & Sons, 1986

## VI SEMINÁRIO

### **Tema: RECEPTORES DE ACETILCOLINA E PATOLOGIAS ASSOCIADAS**

#### **Subtemas:**

- Propagação de impulso nervoso
- Transmissão de impulso nervoso na junção neuromuscular
- Receptores e resposta neuromuscular
- Aspectos fisiopatológicos da transmissão neuromuscular
- Miastenia Gravis

#### **Intervenientes**

##### Docentes Convidados

- Dr. Fernando Morgado (Interno Graduado, Serviço de Neurologia/HSM)
- Dr. Alexandre Mendonça (Centro de Estudos Egas Moniz, FML)

##### Docentes do Instituto de Bioquímica/ FML

- Dra. Manuela Nunes (Assist. Estagiária)
- Dr. João P. Guimarães (Monitor do Instituto de Bioquímica e Interno do Internato Geral/HSM)

##### Alunos, monitores voluntários do Instituto de Bioquímica/FML

- Gabriela Pereira (Aluna do 4<sup>o</sup> ano)
- Maria João Gomes (Aluna do 4<sup>o</sup> ano)

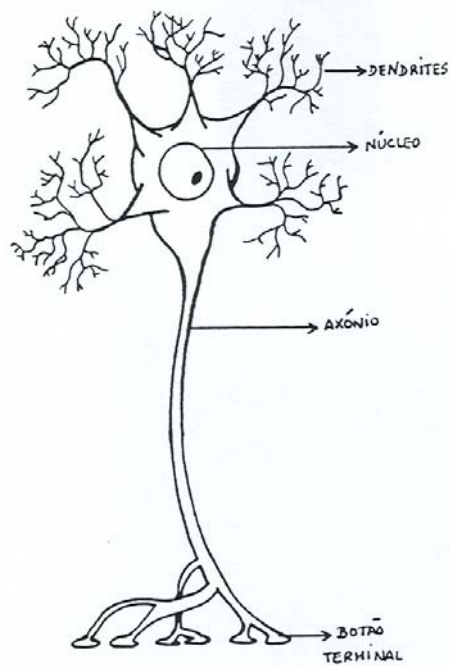
### **PROPAGAÇÃO DO IMPULSO NERVOSO**

*Gabriela Pereira*

*Maria João Gomes*

Os potenciais eléctricos existem nas membranas de praticamente todas as células do organismo.

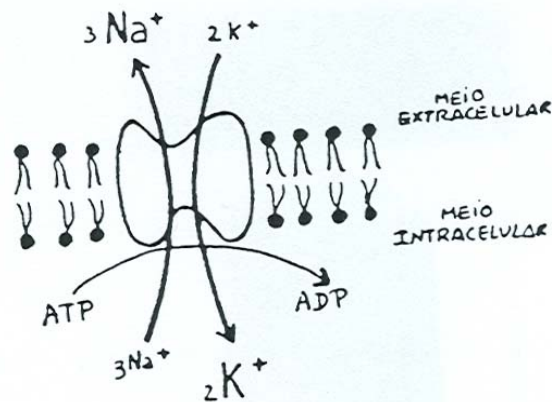
Algumas células, como os neurónios (Fig. 1) e as células musculares, são “excitáveis”, i.e., capazes de gerarem impulsos electroquímicos e de os conduzirem.



**Fig. 1** – Neurônio (representação esquemática)

A transmissão do impulso nervoso é um fenómeno bioquímico que se passa ao nível de membranas celulares com permeabilidade selectiva, de tal forma que se criam gradientes de concentração e gradientes eléctricos. Em repouso, estes gradientes são mantidos por bombas electrogénicas.

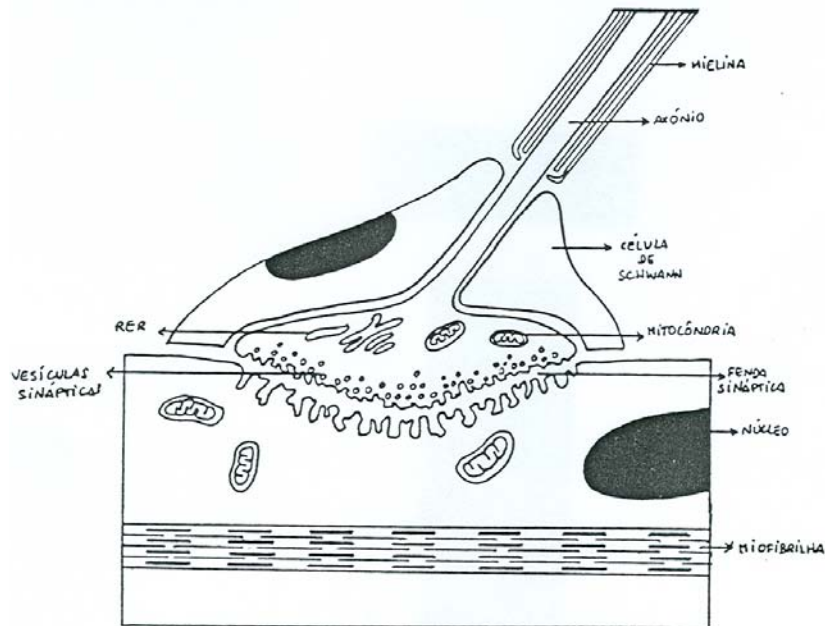
A bomba de sódio-potássio (Fig. 2), ao transportar estes iões contra o seu gradiente, torna o meio interior negativo em relação ao meio exterior, gerando potencial de repouso.



**Fig. 2** – Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase

As células nervosas e musculares, quando excitadas por um estímulo mecânico, eléctrico ou químico, modificam o seu potencial de membrana e rapidamente despolarizam-se, invertendo o potencial. Isto ocorre porque, à medida que a célula se despolariza, abrem os canais iónicos (dependentes de voltagem ou dependentes da ligação a substâncias químicas) e a despolarização, inicialmente local, propaga-se ao longo de toda a membrana celular. Diz-se então que foi gerado um potencial de acção.

Após propagação ao longo da fibra nervosa, o impulso atinge uma estrutura especializada – a sinapse – que é constituída pela terminação nervosa (elemento pré-sináptico) e pela membrana da célula que recebe o novo estímulo (elemento pós-sináptico), separadas entre si por um espaço, a fenda sináptica (Fig. 3).



**Fig. 3** – Junção neuromuscular

### TRANSMISSÃO DO IMPULSO NERVOSO NA JUNÇÃO NEUROMUSCULAR

*Maria Manuela Nunes*

O impulso nervoso propaga-se através das fibras nervosas por meio de trocas iónicas que se processam ao longo da célula, a diferentes velocidades.

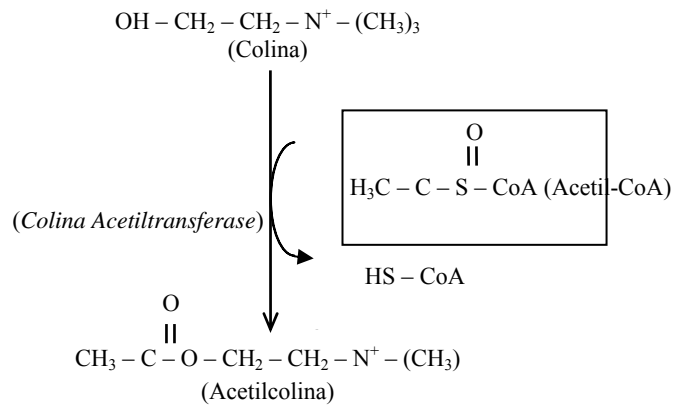
A amplitude dos sinais que atravessam o axónio é fixa e as alterações na actividade dos neurónios são o reflexo de modificações na frequência dos impulsos.

Em 1970 eram conhecidas apenas dez substâncias como estando envolvidas na transmissão química (acetilcolina, alguns aminoácidos e monoaminas). Actualmente este número excede cinquenta, com a descoberta nas células nervosas de numerosos péptidos com função potencial de mensageiros químicos.

A transferência da informação ocorre entre neurónios e o órgão efector por meio de junções especializadas, denominadas sinapses. O estímulo ultrapassa a fenda sináptica por mediação química, com substâncias denominadas neurotransmissores.

Os neurotransmissores são moléculas formadas no interior do neurónio e armazenadas em vesículas localizadas próximo das terminações do axónio. O número de moléculas do neurotransmissor libertado é função da quantidade presente na terminação nervosa e da frequência de impulsos que atingem a zona terminal.

A acetilcolina é uma das substâncias neurotransmissoras presente nas terminações dos nervos simpáticos ou parassimpáticos. A acetilcolina é sintetizada no axoplasma das terminações nervosas das fibras colinérgicas, segundo a seguinte reacção:



### Processo de Transmissão Sináptica

Katz (1966) estabeleceu os passos fundamentais da transmissão química a nível da junção neuromuscular, os quais são comuns para todas as sinapses.

O potencial de acção que se propaga ao longo do axónio despolariza o terminal pré-sináptico, originando a abertura de canais de cálcio e a entrada destes iões no terminal, com libertação subsequente do mediador químico na fenda sináptica, por exocitose.

O cálcio desempenha um papel crucial na transmissão sináptica e os mecanismos que controlam o cálcio livre estão ligados às vias metabólicas celulares.

Quando as moléculas de neurotransmissor se ligam ao receptor na membrana pós-sináptica inicia-se o processo de transdução do sinal que conduzirá a uma resposta do órgão efector.

O mecanismo de funcionamento do receptor baseia-se numa primeira ligação da substância neurotransmissora ao receptor, causando modificações na estrutura molecular da unidade proteica. Uma vez que o receptor é parte integrante da membrana, uma alteração de estrutura induz aumento da permeabilidade da membrana a diferentes iões: por um lado, um rápido influxo de iões  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  e  $\text{Ca}^{2+}$  e, por outro, o efluxo de iões potássio. Os canais iónicos formados são chamados “independentes de voltagem” ou “insensíveis à voltagem”.

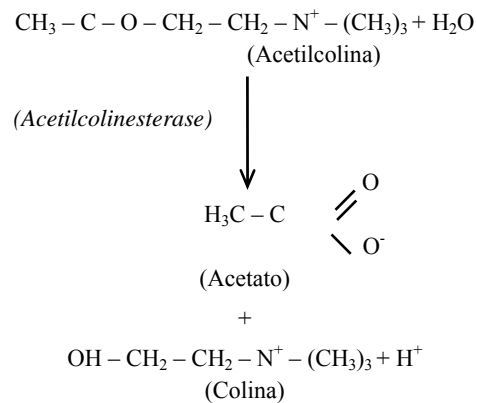
As alterações de carga que modificam o potencial de membrana podem corresponder a potenciais de acção (como ocorre no músculo esquelético). Os iões podem também exercer efeito directo sobre as células receptoras, como seja o caso do efeito dos iões cálcio na contracção do músculo esquelético.

Se o potencial de membrana se mover na mesma direcção do potencial de acção, a acção sináptica é designada “excitatória”. Se o potencial de membrana for contrário, a acção é “inibitória”.

A transmissão sináptica envolve o movimento contínuo de iões e de mensageiros químicos entre o corpo celular e o terminal (pré-sináptico, sináptico e pós-sináptico).

### Acetilcolinesterase

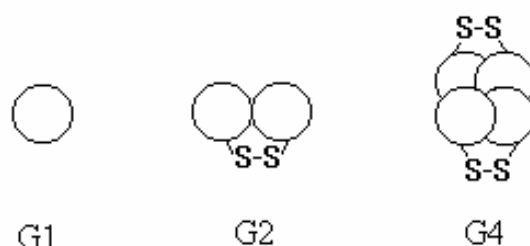
Um processo de remover o neurotransmissor é promover a sua clivagem química. A acetilcolina, neurotransmissor do sistema nervoso autónomo, é cataliticamente hidrolisada em colina e acetato pela acetilcolinesterase (AChE), enzima presente nas terminações nervosas e na superfície dos órgãos receptores. A reacção de hidrólise pode ser esquematizada da seguinte maneira:



A colina que se forma na reacção de hidrólise é recaptada pelas terminações nervosas, sendo reutilizada na síntese de acetilcolina.

A acetilcolinesterase, enzima hidrolítica do grupo das esterases, apresenta acção catalítica do tipo ácido-base. O mecanismo de acção pode ser descrito em duas fases: (i) a acetilcolina reage com um resíduo específico de serina localizado no centro catalítico da acetilcolinesterase, forma-se um intermediário acetilado e liberta-se simultaneamente uma molécula de colina; (ii) a enzima acilada reage com a água, de que resulta um ião acetato e a molécula de acetilcolinesterase livre.

A acetilcolinesterase é uma glicoproteína descrita como estando presente em diferentes espécies associada às membranas excitáveis. São conhecidas diferentes formas moleculares em que estão presentes um, dois ou quatro monómeros globulares, designados respectivamente por  $G_1$ ,  $G_2$ , e  $G_4$  (Fig. 4).



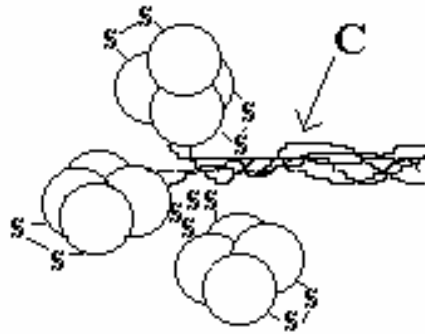
**Fig. 4** – Representação esquemática de diferentes formas globulares da AChE.  
 $G_1$  – forma monomérica,  $G_2$  – forma dimérica,  $G_4$  – forma tetramérica.

Existem nos tecidos excitáveis de algumas espécies formas de associação dos tetrâmeros que apresentam uma “cauda” e são classificadas como formas assimétricas  $A_4$ ,  $A_8$  e  $A_{12}$  (dependendo do número de tetrâmeros presentes).

A forma molecular de AChE mais abundante no cérebro e sistema nervoso autónomo dos mamíferos é a  $G_4$  (4 monómeros globulares estabilizados por forças de Van der Waals). Nos mamíferos surgem todas as formas moleculares de acetilcolinesterase sendo, no entanto, de considerar variações referentes aos diferentes tipos de fibras musculares. Nos nervos motores do Homem existem formas moleculares do tipo  $A_{12}$  (Fig. 5).

A acetilcolinesterase revela especificidade para a acetilcolina e apresenta inibição pelo substrato. A actividade enzimática da acetilcolinesterase pode ser influenciada por diferentes moléculas ou iões, com variações individuais relativamente às várias formas que apresenta. Substâncias como a fisostigmina, neostigmina, gás de mostarda ou insecticidas organofosforados, ao inibirem irreversivelmente a actividade da acetilcolinesterase, provocam intoxicação por acumulação de acetilcolina.





**Fig. 5** – Representação esquemática da forma assimétrica da acetilcolinesterase. As unidades globulares encontram-se ligadas a uma “cauda” de colágeno (C).

## RECEPTORES E RESPOSTA NEUROMUSCULAR

*Alexandre Mendonça*

O conhecimento da morfologia e da fisiologia da junção neuromuscular é fundamental na compreensão de diversas entidades clínicas neurológicas. Além disso, o estudo da junção neuromuscular tem fornecido importante informação acerca da natureza da transmissão em geral, com relevância para o funcionamento do sistema nervoso central.

Consideremos os passos mais importantes na transmissão neuromuscular, abordando a forma como a sua perturbação está envolvida em algumas entidades clínicas.

### Síntese de Neurotransmissor e seu armazenamento em Vesículas Pré-sinápticas

A acetilcolina é formada nas terminações nervosas a partir da colina e do acetil-CoA, por acção da enzima colina-acetiltransferase, sendo transportada e concentrada em vesículas pré-sinápticas. Este processo parece estar alterado numa das formas de miastenia congénita.

### Libertação de Neurotransmissor

A libertação da acetilcolina é um processo dependente da presença de cálcio extracelular, e da sua entrada na célula através de canais de cálcio dependentes da voltagem. No síndrome miasténico de Eaton-Lambert, mais frequentemente causado pelo carcinoma do pulmão, a existência de anticorpos IgG altera a estrutura e a função destes canais de cálcio, diminuindo a libertação de neurotransmissor. Também no botulismo, a existência da toxina botulínica, produzida pelo *Clostridium botulinum*, e quase sempre ingeri-

da em alimentos contaminados, interfere de uma forma não totalmente esclarecida com a libertação de neurotransmissor.

### **Ligação de Neurotransmissor aos Receptores Pós-sinápticos**

A acetilcolina libertada difunde na fenda sináptica e liga-se aos receptores colinérgicos nicotínicos (AChR) pós-sinápticos, induzindo alterações de conformação do receptor, abertura de canal iónico, e despolarização da membrana pós-sináptica, constituindo o potencial de placa motora. A *Miastenia Gravis* é uma doença relativamente frequente, em que existem alterações estruturais da região pós-sináptica e diminuição do número de AChR pós-sinápticos. Na maioria dos casos, estas alterações estão em relação com a presença de anticorpos anti-AChR. Está descrita uma forma de miastenia congénita em que o defeito parece ser ao nível dos canais de iões activados pela acetilcolina, com aumento do tempo de abertura destes canais.

### **Inactivação de Neurotransmissor**

A acetilcolina é hidrolisada na fenda sináptica por acção da acetilcolinesterase. A intoxicação com organofosforados induz manifestações clínicas colinérgicas muito graves, por inibição irreversível da acetilcolinesterase. Existe também uma forma de miastenia congénita por défice de acetilcolinesterase.

## **ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DA TRANSMISSÃO NEUROMUSCULAR**

*João Paulo Guimarães*

O processo de transmissão dos estímulos nervosos até às fibras musculares é complexo. O bom funcionamento de todo o sistema implica que todos os fenómenos atrás descritos ocorram sequencial e coordenadamente. Daí que qualquer alteração (por pequena que seja) de um dos componentes provoque a falha do sistema e cause perturbações mais ou menos graves em todo o processo.

*Grosso modo*, as alterações podem-se classificar como sendo ao nível da fenda sináptica, ou pré ou pós-sinápticas (consoante a localização pré ou pós-sináptica do defeito), permanentes ou transitórias, ou ainda com base na origem (que pode, por exemplo, ser química ou imunológica, entre outras causas).

### Causas Pré-Sinápticas

Correspondem a alterações que levam à falha de libertação do mediador. Podem ter origem, por exemplo, em defeitos no revestimento de mielina dos neurónios causado por degenerescência, que ocorre com frequência em conjunto com destruição das terminações dos nervos motores.

Um outro tipo de alterações possíveis pode ser causado por (i) medicamentos que dificultam ou impedem a libertação das vesículas de acetilcolina para a fenda sináptica (por exemplo: fenitoína, clorpromazina, ou antibióticos, tais como a clindamicina, lincomicina, neomicina, estreptomicina ou kanamicina), (ii) toxinas libertadas por bactérias como o *Clostridium botulinum*, ou até (iii) intoxicações por substâncias tão simples como o ião magnésio (que, em alguns locais, compete com o cálcio e altera os mecanismos de libertação de acetilcolina).

Se for inibido o transporte activo de colina para o interior da terminação nervosa pré-sináptica, a reutilização da colina para a síntese de acetilcolina é dificultada e há, conseqüentemente, depleção do mediador das terminações nervosas (a reserpina, fármaco ainda usado no tratamento da hipertensão, tem este efeito).

É igualmente possível que sejam produzidos anticorpos contra constituintes da terminação nervosa (é o que acontece, por exemplo, no síndrome de Eaton-Lambert, no qual o processo de autoimunidade é, em geral, desencadeado por um tumor do pulmão).

### Alterações da Fenda Sináptica

Podem ocorrer sempre que há inibição da acetilcolinesterase, (i) por medicamentos como a piridostigmina, neostigmina, fisostigmina, ambenónio, demecário (carbamatos e derivados) ou edrofónio (álcool), ou (ii) por intoxicações resultantes de organofosforados (presentes em muitos insecticidas e pesticidas). O E-605 Forte, que é um pesticida utilizado contra o escaravelho da batateira, contém paratião (organofosforado), que é regra geral mortal se ingerido, embora também seja absorvido através da pele. O malatião, outro organofosforado, existe em alguns insecticidas.

### Causas Pós-Sinápticas

A *Miastenia Gravis* clássica é um exemplo relativamente frequente de uma doença cuja origem está na membrana pós-sináptica (falta de receptores). Contudo, também a membrana pós-sináptica é susceptível a agressões por substâncias químicas como a nicotina ou pela D-tubocurarina (alcalóide extraído da *Condodendrum tomentosum*), o princípio activo do curare. A nicotina é um composto extremamente tóxico. De facto, bastam 40 mg para provocar a morte, ou seja a quantidade existente numa gota de solução pura

(ou o equivalente à quantidade existente em dois cigarros). Felizmente que grande parte desta nicotina é destruída pelo calor (enquanto o cigarro arde) e outra parte é dispersada pelo fumo que não é inalado. Por vezes as crianças ingerem cigarros, em vez de os fumarem, mas como a nicotina provoca o vômito acabam por não absorver o suficiente para provocar uma intoxicação letal, embora possa acontecer. Drogas análogas ao curare são muito utilizadas em anestesia geral, para relaxar os músculos do doente que está a ser operado. É o caso do pancurónio, succinilcolina, metocurina (dimetilcurarina), galamina, vecurónio ou atracurónio. A succinilcolina, muito utilizada, tem a particularidade de ser degradada por uma colinesterase do soro (pseudocolinesterase ou butirilcolinesterase), por isso tem uma vida média relativamente breve em circulação e tem curta acção. Contudo, em certos doentes com défice de butirilcolinesterase, ela é degradada muito lentamente e os anestesistas têm grandes dificuldades em reanimar o doente e reverter a cura-rização.

Existem outras alterações possíveis, mas as referidas são as que ocorrem com maior frequência. Certas doenças não se enquadram bem nesta classificação, por exemplo, por envolverem simultaneamente mais do que um processo. É o caso de uma forma particular de miastenia, a chamada *Miastenia Congénita*, na qual foram descritas alterações pré-sinápticas (perturbações da re-síntese de acetilcolina na terminação nervosa), da fenda sináptica (ausência de acetilcolinesterase) e deficiências no funcionamento da membrana pós-sináptica (canais iónicos).

Da mesma forma, algumas das substâncias acima mencionadas podem actuar em mais do que um local. A neostigmina é uma dessas substâncias: além de inibir a acetilcolinesterase também se liga aos receptores de acetilcolina da membrana pós-sináptica e provoca uma despolarização prolongada desta, com conseqüente bloqueio da transmissão neuromuscular.

## **MIASTENIA GRAVIS – ALGUMAS QUESTÕES**

*Fernando Morgado*

### **O que é a Miastenia Gravis?**

A *Miastenia Gravis* é uma doença crónica que causa fraqueza e fadiga anormalmente rápida dos músculos voluntários. A fraqueza é causada por um defeito na transmissão dos impulsos dos nervos para os músculos. A doença é raramente fatal, mas pode ameaçar a vida quando a fraqueza atinge os músculos da deglutição e da respiração.

O tratamento adequado confere à maioria dos doentes uma apreciável melhoria dos sintomas e muitos deles podem levar uma vida normal e produtiva.

**Quais são os sintomas da *Miastenia Gravis*?**

O início da *Miastenia Gravis* pode ser súbito, com fraqueza muscular severa e generalizada mas, mais frequentemente, os sintomas iniciais são variáveis e subtis, tornando o diagnóstico da doença difícil.

O primeiro sintoma, frequentemente verificado, é a fraqueza dos músculos dos olhos. A doença pode permanecer ou progredir para os músculos da deglutição, fonação, mastigação ou dos membros. Os sintomas variam de doente para doente, mas podem incluir a queda de uma ou de ambas as pálpebras (ptose), desdobramento das imagens ou visão dupla (diplopia), fraqueza dos músculos que mobilizam os globos oculares (estrabismo), dificuldade em engolir com regurgitação dos líquidos pelo nariz (disfagia), dificuldade em falar, com voz nasalada (disfonia), fraqueza nos músculos da mastigação (com tendência para ter a boca aberta), fraqueza do músculo do pescoço (com queda da cabeça para diante, fraqueza dos músculos dos membros, com dificuldade para subir degraus e andar, ou elevar os braços para pentear, barbear ou escrever e, por fim, fraqueza dos músculos respiratórios, o que representa um perigo significativo para o doente.

A fraqueza muscular pode desenvolver-se durante dias ou semanas, ou manter-se ao mesmo nível durante longos períodos.

A severidade da doença varia de doente para doente e, no mesmo doente, pode variar ao longo do dia. A fraqueza tende a agravar-se com o exercício e para o fim do dia e, em geral, melhora parcialmente com o repouso.

**Quem adoece com *Miastenia Gravis*?**

A doença pode afectar doentes de todas as idades de ambos os sexos mas é duas vezes mais comum na mulher. Não é contagiosa e não é hereditária; se bem que haja alguma controvérsia sobre isto, nenhum dos nossos doentes, cerca de cem, tem outros casos conhecidos na família.

**O que é a causa da *Miastenia Gravis*?**

Os sintomas da *Miastenia Gravis* são causados por um defeito de transmissão dos impulsos dos nervos para os músculos, podendo estes permanecer normais.

A transmissão dos impulsos dos nervos para os músculos é normalmente feita por uma substância, a acetilcolina, na junção neuromuscular, provocando uma contração do músculo.

Na *Miastenia Gravis* o número de receptores da acetilcolina ou sítios nos quais a substância pode ser recebida, encontram-se reduzidos, e isto devido a uma agressão dos receptores da acetilcolina por anticorpos, produzidos pelo sistema imunitário do próprio indivíduo. Este é o sistema normalmente envolvido na luta contra as infecções. A *Miastenia Gravis* é assim

designada por doença autoimune porque o sistema imunitário do indivíduo começa a produzir anticorpos que atacam os seus próprios tecidos. A investigação tem mostrado que, na maioria dos doentes com *Miastenia Gravis*, há a circular no sangue anticorpos contra os receptores da acetilcolina; numerosos cientistas encontram-se empenhados na investigação das causas que provocam o início da produção destes anticorpos pelo sistema imunitário dos doentes, desencadeando esta agressão autoimune. Há alguma evidência que a doença se inicia no timo, que é uma massa de tecido linfóide que se encontra no tórax por detrás do esterno.

### **Qual o papel do Timo na *Miastenia Gravis*?**

As células que formam o timo fazem parte do sistema imunitário de um indivíduo normal. O timo é normalmente grande na infância, diminuindo de tamanho com a idade, de tal modo que apenas restam vestígios na idade adulta.

Nos miasténicos adultos, no entanto, o timo pode estar aumentado ou apresentar alterações microscópicas. Alguns (10 a 15%) têm tumores (timomas) benignos.

Se bem que a relação do timo com a *Miastenia Gravis* não esteja totalmente esclarecida, parece que o timo está ligado à produção de anticorpos anti-receptores da acetilcolina ou de outras substâncias que interferem com a transmissão neuromuscular.

### **Como pode ser tratada a *Miastenia Gravis*?**

O uso de medicamentos e da cirurgia do timo, isolados ou em conjunto são razoavelmente eficazes no tratamento da *Miastenia Gravis*.

O tratamento de primeira linha é um medicamento designado anticolinesterase, que facilita a transmissão neuromuscular. Embora não trate a deficiência base dos receptores da acetilcolina, prolonga o efeito da acetilcolina até produzir contracção do músculo.

O tratamento com anticolinesterásicos é benéfico, mas em muitos doentes não é suficiente para levarem uma vida normalmente activa.

A timectomia ou remoção do timo é muitas vezes o passo seguinte. Cerca de 50% dos doentes podem ter a remissão ou melhoras significativas com a timectomia.

A terapêutica com esteróides é por vezes necessária nos doentes mais graves. Os esteróides e outros imunossuppressores, como a azatioprina, são bastante eficazes, produzindo remissão dos sintomas e estão particularmente indicados quando são afectados os músculos da deglutição e da respiração. O seu efeito faz-se sentir no sistema imunitário deprimindo a produção de anticorpos. Infelizmente o seu uso tem de ser prolongado e provocam, por vezes, acções colaterais indesejáveis.

O método de tratamento designado plasmaferese é usado quando os doentes entram na chamada crise miasténica, durante a qual necessitam de respiração assistida.

A plasmaferese consiste na substituição do plasma do doente, é uma espécie de lavagem ao sangue para remoção dos anticorpos que estão a bloquear a transmissão neuromuscular.

### **O que é uma crise miasténica?**

A crise ocorre quando um doente com *Miastenia Gravis* começa com dificuldade em respirar que não responde à medicação, e necessita ser hospitalizado para assistência respiratória, em geral mecânica.

A crise pode ser desencadeada pelo stress emocional, infecção, actividade física, menstruação, gravidez, reacção adversa a certos medicamentos, acidentes, etc.

### **Que investigação está a ser feita?**

Nestes últimos anos esta doença tem sido alvo de extraordinário interesse por parte de investigadores de todo o mundo, especialmente nos E.U.A. com o apoio da Associação de Distrofia Muscular Americana. Inúmeros trabalhos estão a ser levados a cabo sobre a imunologia da *Miastenia Gravis*, sobre a bioquímica dos receptores da acetilcolina, etc., a fim de se encontrar resposta para as perguntas que ainda não estão bem esclarecidas, em busca do tratamento que possa curar a doença.

## VII SEMINÁRIO

### Tema: DIABETES

#### Subtemas:

- Insulina – estrutura, produção e secreção
- Metabolismo e acção da insulina
- Diabetes – manifestações clínicas
  - complicações agudas
  - complicações tardias
  - terapêutica

#### Intervenientes

Docentes do Instituto de Bioquímica/FML:

- Dr. Carlos Moreira (Assistente convidado)
- Dra. Teresa Quintão (Assistente convidada)

Docentes convidados

- Dr. Fernando Martos Gonçalves (Interno do Internato Complementar de Medicina Interna /HSM)
- Dra. Maria I. Pires de Miranda (Especialista de Medicina Interna/HSM)
- Dra. Luísa Sagreira (Assistente Hospitalar/HSM)

Aluno

- Isabel Goulão (Aluna do 2º ano, monitora voluntária do Instituto de Bioquímica/FML)

### INSULINA – ESTRUTURA, PRODUÇÃO E SECREÇÃO

*Isabel Goulão*

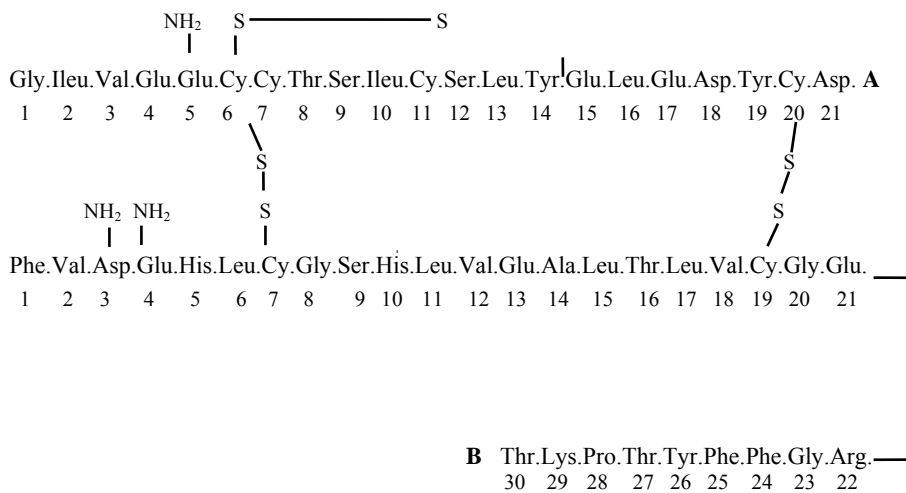
Em 1921, Banting e Best isolaram a insulina e a sequência de aminoácidos foi demonstrada por Sanger 35 anos mais tarde. Esta foi a primeira proteína cuja estrutura foi elucidada e este feito levou à análise de muitos outros polipéptidos e proteínas biologicamente activos.



A insulina (Fig. 1) é um dipéptido de PM 6.000 dalton composto por dois péptidos A e B com a seguinte composição:

- A – 21 aminoácidos (cadeia ácida)
- B – 30 aminoácidos (cadeia básica)

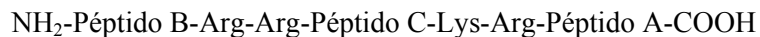
Tem três ligações bissulfito que se estabelecem entre: (i) CISTEÍNAS A6 e A11, formando um anel de seis aminoácidos virado para o exterior, (ii) A7 e B7; (iii) A20 e B19.



**Fig. 1** – Sequência de aminoácidos da insulina humana.

No seu conjunto, a insulina é uma proteína globular tendo aminoácidos hidrofílicos à superfície e hidrofóbicos no interior. A cadeia A é mais exposta ao exterior. A forma cristalina de insulina é um hexâmero esférico de seis unidades de insulina, estabilizadas por dois iões  $Zn^{2+}$ .

Em 1967, Steiner demonstrou que a insulina é formada a partir do precursor PROINSULINA, formado por um único péptido de PM 9000 daltons, contendo ligações bissulfito, e no qual se podem distinguir as zonas correspondentes aos péptidos A e B unidos por um péptido C, através de dois pares de aminoácidos, formando no conjunto o seguinte arranjo:



O péptido C, de ligação, contém resíduos ácidos: prolina, lisina, alanina, valina e leucina mas não contém nem resíduos aromáticos, básicos, nem aminoácidos com enxofre. As extremidades do péptido C são hidrofílicas, no entanto, a porção central da molécula é mais flexível e pode ser

dobrada por interações das cadeias não polares para produzir uma “bolsa” hidrofóbica. Esta distribuição pode ajudar a manter as regiões hidrofílicas no exterior da molécula, onde possam ser acessíveis às enzimas na clivagem proteolítica para converter proinsulina.

A síntese da insulina ocorre nas células  $\beta$  do pâncreas. O gene da insulina tem uma mensagem para a proteína maior que a proinsulina, a pré-proinsulina, que é clivada em proinsulina no retículo endoplasmático rugoso. A conversão de proinsulina em insulina (processo activo) ocorre por clivagem proteolítica no aparelho de Golgi. A insulina é depois armazenada em grânulos rodeados por membrana bem individualizada. Nestes grânulos existe proinsulina, insulina-Zn<sup>2+</sup>, péptido C e dopamina (cuja função parece ser a de impedir a libertação do conteúdo do grânulo). O número de grânulos é variável, e depende do balanço entre a síntese e a degradação de insulina. Calcula-se que o pâncreas humano contenha cerca de 250 unidades de insulina e que liberte cerca de 50 unidades por dia. O aumento da glicémia é o principal estímulo para a síntese de insulina e para a sua libertação.

A secreção de insulina dá-se por um processo de exocitose, que consiste na marginalização dos grânulos seguida da fusão do saco com a membrana celular, após o que se dá a libertação do seu conteúdo para o espaço extracelular. Com o desaparecimento do grânulo, restam projecções citoplasmáticas (as microvilosidades) que se estendem desde a superfície da célula  $\beta$  até ao espaço extracelular. A superfície celular adicional produzida, é eventualmente endocitada por microvesículas, recicladas pelo aparelho de Golgi para reutilização ou degradadas pelos lisossomas.

Existem numerosos activadores de secreção de insulina, sendo a glicose o principal. Quando o pâncreas é estimulado por um súbito aumento da concentração de glicose, a secreção de insulina segue um processo bifásico. A insulina está localizada em dois compartimentos separados. Um compartimento pequeno está disponível para libertação imediata e é responsável pela primeira fase de secreção. A segunda fase é mais longa, os grânulos do interior da célula são transportados para a periferia através dos microtúbulos, após o que o seu conteúdo é lançado para o exterior.

A glicose é o regulador primário da célula  $\beta$ . O seu mecanismo de acção não está completamente esclarecido. Pensa-se que a glicose se une a receptores da membrana celular e gera potenciais de acção proporcionais à sua concentração, de que resulta a entrada de cálcio para o interior da célula  $\beta$  o qual provoca um processo contractil no qual os microtúbulos facilitam o movimento dos grânulos do interior da célula para a superfície celular. Outro regulador bioquímico na libertação de insulina é o AMPc intracelular. Foi sugerido que o AMPc aumenta o cálcio intracelular pela mobilização de cálcio das reservas intracelulares (mitocôndrias, grânulos e retículo endoplasmático). Haveria, portanto, dois mecanismos para aumentar o cálcio intracelular e estimular a secreção de insulina: um pela entrada directa de cálcio na célula e outro pelo aumento de cálcio intracelular mediado por AMPc.

A acção reguladora da glicose medeia três processos:

1. União ao glicoreceptor, com formação de AMPc;
2. Metabolização da glicose, formando intermediários como o fosfoenolpiruvato (PEP). Este impede a captação de cálcio pelas mitocôndrias, de que resulta o aumento da sua concentração citosólica;
3. Formação de energia e de potencial redutor pela via das fosfopentoses; o glutatião reduzido é necessário para a redução dos grupos sulfidrílicos dos receptores. A entrada de cálcio requer uma relação NADPH/NADP elevada. A formação de fosfopentoses é essencial para produzir ácidos nucleicos para a síntese de insulina. Todos estes processos requerem ATP.

Aminoácidos, tais como arginina e leucina tendem a estimular a secreção de insulina. Hormonas de tubo digestivo, tais como a gastrina, pancreatozimina-colescistocinina, secretina e entero-glicagina, potenciam a activação pela glicose. Por esta razão a glicose ingerida por via oral é mais eficiente na estimulação da secreção da insulina, do que a administrada por via intravenosa. A glicagina, hormona secretada pelas células A do pâncreas, quando em concentrações elevadas promove a secreção da insulina. A acetilcolina induz a abertura dos canais para a entrada de cálcio. Diversas hormonas hiperglicemiantes aumentam a resistência periférica à insulina: são elas a hormona adrenocorticotrópica (ACTH), a hormona estimuladora da tiroideia (TSH), a hormona de crescimento (GH), cortisol, progesterona e estrogénios.

## O METABOLISMO E A ACÇÃO DA INSULINA

*Teresa Luísa Quintão*

A acção da insulina é desencadeada pela ligação desta a um receptor existente nas membranas celular e intracelulares (retículo endoplásmico e núcleo). O receptor da insulina é uma glicoproteína constituída por duas subunidades  $\alpha$  e duas subunidades  $\beta$  ligadas entre si por pontes bissulfito. A ligação da insulina ao receptor é caracterizada por uma cooperatividade negativa. O receptor da insulina tem actividade de tirosina cinase, catalisando a fosforilação de proteínas da célula.

A insulina induz acções metabólicas variadas. É uma proteína essencial ao equilíbrio e funcionamento celular. Tem o papel de facilitar a entrada de glicose nas células musculares esqueléticas e nas células adiposas. Algumas células, como é o caso das células cerebrais, da retina, tubulares renais, intestinais, germinativas e do eritrócito não necessitam de insulina.

Por outro lado, a nível hepático a insulina promove a libertação de glicose e acelera o seu metabolismo. No entanto, se a glicose existe em excesso é promovido o seu armazenamento sob a forma de glicogénio.

A falta de insulina tem como consequência um aumento da glicose no sangue (hiperglicémia) e, quando em excesso, uma diminuição desta (hipoglicémia). A glicémia depende directamente da glicose ingerida, da gliconeogénese e da glicogenólise.

A insulina conduz a um aumento das vias anabólicas. Quando a insulina está em falta surge um predomínio das vias catabólicas.

A insulina promove a síntese de glicogénio aumentando a actividade e induzindo a síntese da sintetase do glicogénio. Induz também a síntese da glicocinase.

A via das fosfopentoses é estimulada por activação da desidrogenase da glicose-6-fosfato e da desidrogenase do 6-fosfogliconato.

A glicólise é favorecida pela activação da fosfofrutocinase e da piruvato cinase.

Todas estas vias são prejudiciais quando há falta de insulina; adicionalmente, a glicose é convertida em sorbitol e causa glicosilação não-enzimática de proteínas.

A nível do metabolismo lipídico a insulina activa a produção de glicerol, triacilgliceróis, acetil-CoA e malonil-CoA. Este último inibe a carnitina aciltransferase.

A ausência desta hormona leva ao aumento dos ácidos gordos livres e aumento da  $\beta$ -oxidação por aumento da actividade da carnitina aciltransferase. A produção de malonil-CoA é reduzida e surge um aumento de acetoacetato e  $\beta$ -hidroxibutirato, que têm comportamento de ácido.

O metabolismo proteico tem a sua síntese favorecida pela facilitação da entrada na célula de nucleósidos e aminoácidos pela insulina. Os processos de transcrição e tradução são estimulados. A insulina promove também o aumento de ATP porque inibe a formação de AMPc a partir daquele e aumenta a eficácia da fosforilação oxidativa. Na falta de insulina será a degradação de proteínas que predomina.

A glicagina, sintetizada pelas células  $\alpha$  do pâncreas, intervém nos processos metabólicos de uma forma aproximadamente oposta à da insulina.

A diabetes mellitus é uma doença em que há falta ou má utilização da insulina. Pode ser classificada em tipo I (ou diabetes insulino-dependente) e tipo II (ou diabetes não-insulino-dependente).

Na diabetes insulino-dependente o pâncreas do indivíduo é incapaz de produzir insulina. É uma doença causada por um distúrbio auto-imune altamente selectivo para as células produtoras de insulina do pâncreas (células  $\beta$ ), que atinge sobretudo os jovens.

Na diabetes não-insulino-dependente há alguma produção de insulina embora não seja em concentração adequada, o seu mecanismo fisiopatológico ainda está mal compreendido, surgindo geralmente em obesos depois dos 40 anos de idade.

## DIABETES – MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

*Maria I. Pires de Miranda*

### Definição Clínica

Doença do metabolismo dos hidratos de carbono com múltiplos factores etiológicos (genéticos, virais, imunológicos, etc.), que condicionam deficiência absoluta ou relativa de insulina, resistência à sua utilização ou ambas, causando persistência de níveis elevados de glicose no sangue (*hiperglicémia*) – *principais características*. É uma doença crónica, cuja importância clínica resulta essencialmente das suas graves complicações, quer *agudas* (cetoacidose diabética, coma hiperosmolar não cetótico, hipoglicémia), quer *crónicas*, provocando a longo prazo lesões de diversos órgãos, particularmente nos rins, olhos, vasos sanguíneos e nervos.

### CrITÉRIOS de DiagnÓstico

São adoptados habitualmente os critérios propostos pelo *National Diabetes Data Group of the National Institutes of Health* (EUA) em 1979, utilizados também pela OMS:

1. *Jejum*: concentrações de glicose no plasma venoso  $\geq 140\text{mg/dL}$  em pelo menos duas determinações ou,

2. *Teste de Tolerância à Sobrecarga Oral de Glucose Padronizado* (ingestão de 75g de glicose): concentração de glicose no plasma venoso  $\geq 200\text{mg/dL}$  aos 120 min. (2 horas após ingestão) e pelo menos numa outra determinação (30, 60 ou 90 minutos).

3. *IGT (impaired glucose tolerance)*

– em jejum glicémia  $< 140\text{mg/dL}$

e

– teste de tolerância à sobrecarga oral de glicose

com glicémia: – 120 min  $> 140$  e  $< 200\text{mg/dL}$

uma outra determinação  $> 200\text{mg/dL}$  (30, 60 ou 90 min)

Apesar dos indivíduos incluídos neste grupo (IGT) serem teoricamente considerados um grupo com maior risco de vir a desenvolver diabetes sintomática ou as suas complicações, a verdade é que na prática grande parte deles (75%) nunca evidenciará diabetes “clínica” e o teste não permite “prever” em quais isso acontecerá. Saliente-se que o teste de tolerância à sobrecarga oral de glicose tem vários e frequentes factores de erro, “fisiológicos”, que causam alterações do metabolismo da glicose e dos valores encontrados,

independentemente de haver ou não diabetes mellitus; são exemplos o “stress”, o teor em hidratos de carbono na dieta que o doente fazia previamente, o envelhecimento, várias drogas, etc. Por este motivo, a sua utilização na prática clínica está hoje limitada, embora possa ser útil em estudos epidemiológicos e investigação clínica.

### **Classificação (National Diabetes Data Group/OMS – 1979)**

1. Diabetes Insulino-dependente ou tipo I (juvenil, cetogénica)
2. Diabetes não-insulino-dependente ou tipo II (do adulto, não cetogénica)
  - a) do obeso (80%)
  - b) do não obeso (20%)
3. Diabetes secundária
  - a) doença pancreática (pancreatectomia, insuficiência pancreática, hemocromatose, etc).
  - b) hormonal (excesso de hormonas anti-insulina: síndrome de Cushing, acromegália, feocromocitoma).
  - c) drogas (corticosteróides, diuréticos, etc).
  - d) associada a síndromes genéticas específicos (lipodistrofia, distrofia miotónica, ataxia-telangiectasia).
4. IGT (“Impaired Glucose Tolerance”) ou diabetes “química”, “latente”, subclínica”.
5. Diabetes gravídica (intolerância à glicose que se instala durante a gravidez).

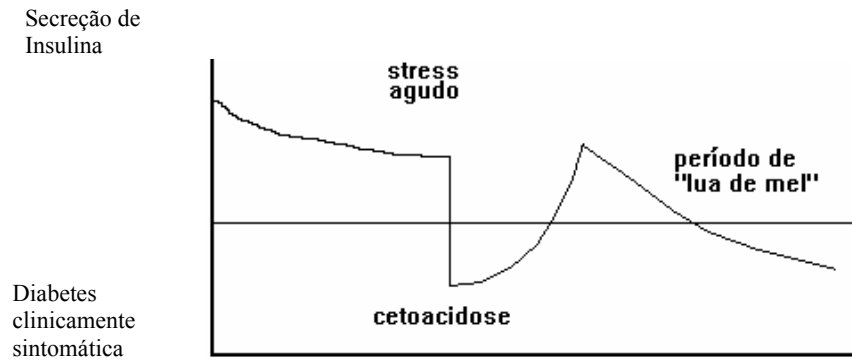
### **Manifestações Clínicas**

As manifestações clínicas da diabetes mellitus estão fundamentalmente relacionadas com dois factores:

- Hiperglicémia (poder osmótico)
- Relação insulina/glicagina (efeito da deficiência relativa ou absoluta de insulina e excesso relativo ou absoluto de glicagina).

#### 1. Diabetes tipo I (insulino-dependente)

- Surge habitualmente em indivíduos com menos de 40 anos
- Pico de incidência: 11-13 anos (há um pico menos acentuado aos 6-8 anos)
- Não há insulina (hormona anabólica), o que implica: hiperglicémia, predomínio de metabolismo catabólico e tendência cetogénica.
- Início de sintomas relativamente súbito, (dias/semanas), frequentemente após “stress” agudo (infecção, acidente, cirurgia).



– SINTOMAS principais:

- *Poliúria* (efeito osmótico da hiperglicémia)
- *Polidipsia* (sede aumentada) – efeito da poliúria e hiperglicemia – desidratação
- *Polifagia* – predomínio de metabolismo catabólico
- *Emagrecimento* – idem
- *Fadiga* – idem
- Principal complicação aguda: *cetoacidose* (por diminuição da insulina e aumento da glicagina). A cetoacidose pode ser a manifestação inaugural da diabetes.
- *Dependência* da terapêutica com insulina exógena para sobrevivência (excepto durante o período de “lua de mel”).

## 2. Diabetes tipo II (não-insulino-dependente)

- Surge habitualmente após os 40 anos.
- Doentes obesos em 70 a 90% dos casos.
- Está mantida a capacidade de secreção endógena de insulina, havendo apenas défice relativo e resistência à sua utilização periférica (mecanismos fisiopatológicos não completamente esclarecidos)
- Muitas vezes *assintomáticos*, sendo o diagnóstico feito por análises de rotina ou efectuadas por motivo não relacionado com a diabetes.
- Sintomas geralmente *arrastados* (semanas/meses):
  - os mais frequentes – poliúria, polidipsia, polifagia
  - mas igualmente – fadiga, tonturas
 Raramente pode manifestar-se pelas complicações tardias (diminuição da visão, insuficiência renal, neuropatia ou angiopatia).
- Principal *complicação aguda*: coma hiperosmolar (não cetótico), com *desidratação*.
- Raramente dependem da terapêutica com insulina exógena.

**Quadro I** – Comparação das características principais dos dois tipos de diabetes mellitus

	Diabetes insulino-dependente	Diabetes não-insulino-dependente
Prevalência	0,2 – 0,3%	2 -4 %
Idade	< 40 anos	> 40 anos
Tipo constitucional	Normal a emagrecido	Obeso (80%)
Insulina plasmática	Diminuída ou zero	Normal ou aumentada
Glicagina plasmática	Aumentada (suprimível com insulina)	Aumentada (não suprimível com insulina)
Complicações agudas	Cetoacidose	Coma hiperosmolar
Terapêutica com insulina	Sempre necessária	Geralmente não necessária
Sulfonilureias	Resistente	Resposta

#### Alterações laboratoriais

- Hiperglicémia
- Glicosúria (glicose na urina)
- Cetonúria (corpos cetônicos na urina)
- Hiperosmolaridade plasmática – Hemodiluição posterior (por chamada de água em relação com o aumento da osmolaridade no sangue circulante, e que se traduz frequentemente por diminuição da concentração de sódio no plasma – Hiponatrémia).
- Hemoglobina glicosada (Hb A1c) – Traduz o grau de hiperglicémia persistente nas semanas precedentes à determinação, não sendo afetada por alterações recentes (agudas) da glicémia. Permite ter uma ideia dos valores médios de glicémia dos doentes nos dois meses anteriores e, conseqüentemente, da eficácia ou necessidade de terapêutica.

## DIABETES, COMPLICAÇÕES AGUDAS

*Carlos Santos Moreira*

A diabetes mellitus caracteriza-se por hiperglicémia devido a deficiência de secreção de insulina (diabetes mellitus insulino dependente, tipo I) ou redução do seu efeito biológico (diabetes não insulino dependente, tipo II). O conhecimento dos diferentes mecanismos patogênicos permite adaptar a terapêutica a cada tipo de diabetes, obtendo assim um equilíbrio metabólico.

As descompensações diabéticas, constituindo verdadeiras emergências médicas, podem ser a manifestação inicial da hiperglicémia ou aparecer na evolução da doença já conhecida, umas vezes por negligência terapêutica ou desajustes alimentares, outras por doenças intercorrentes (enfartes, infec-



ções) que provocam carências inesperadas de insulina, ao interferir no metabolismo geral do organismo.

#### Situações de Emergência

- I Hipoglicémia
- II Hiperglicémia
  - a – Cetoacidose
  - b – Hiperosmolar
- III Acidose láctica

O tipo de diabetes, a etiologia da descompensação, doenças concomitantes (insuficiência hepática ou renal) e o tempo que decorre entre o início do desequilíbrio e a observação do doente, são os factores determinantes das diferentes “constelações” bioquímicas detectadas.

Sai fora do âmbito desta exposição a aplicação da terapêutica nestas situações, mas importa realçar que a compreensão da evolução das alterações bioquímicas é essencial à adequada instituição de medidas que podem reverter o quadro. A intervenção tardia pode levar a alterações irreversíveis e à morte, pela interferência de mecanismos fisiopatológicos de “compensação”, perpetuando a hipoglicemia e impedindo a eficácia terapêutica (elevação de corticoesteróides, hormona de crescimento e lipólise). Por outro lado, terapêuticas intempestivas podem ser deletérias, com desequilíbrios hidroelectrolíticos secundários, por vezes mais importantes que os iniciais.

#### **I. Hipoglicemia**

Os episódios de hipoglicemia são relativamente frequentes na população diabética (1 em cada 3 diabéticos tem pelo menos um episódio durante a vida e 3% dos diabéticos têm episódios de repetição), decorrendo com uma gravidade superior aos episódios de hiperglicémia.

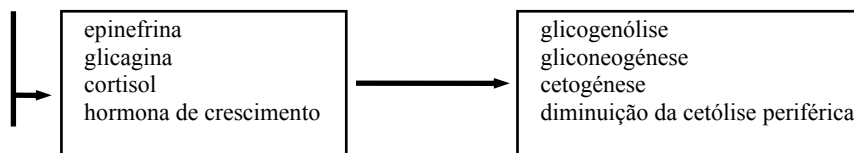
No diabético não insulino dependente, a ingestão de álcool (a que pode associar-se além da hipoglicémia, quadro de acidose láctica), a insuficiência hepática ou renal crónica, e a ingestão de fármacos, podem desencadear o quadro clínico.

O principal órgão-alvo é o sistema nervoso central, pois ao contrário da maioria dos órgãos que podem utilizar no seu metabolismo energético ácidos gordos livres, a célula nervosa apenas utiliza glicose ou corpos cetónicos. Estes últimos só existem em quantidades apreciáveis em determinadas situações, não podendo por isso ser normalmente utilizados em situações de resposta aguda.

Os sintomas desencadeados pela hipoglicémia podem dividir-se em dois grupos:

- a – Os relacionados com o aumento de secreção de adrenalina – sudoreção, tremor, taquicardia, ansiedade – que podem não existir no caso de polineuropatia grave.
- b – Os devidos a disfunção do sistema nervoso central – cefaleias, alterações de consciência, confusão, coma).

glicémia < 40mg/dl com tríade de Whipple



### IIa – Hiperglicémia com Cetoacidose

Normalmente é devida à diminuição da concentração de insulina, acompanhada secundariamente por um aumento de concentração de glicagina.

O aumento desta última hormona, vai implicar uma activação da gliconeogénese, secundária à estimulação da concentração intracelular de frutose-2,6-bisfosfato, com diminuição da fosfofrutocinase. Este quadro cursa com hiperglicémia que, devido a ultrapassar o limite de reabsorção renal de glicose, vai levar à existência de diurese osmótica, com a consequente desidratação extra e intracelular, o que agravará o défice de insulina por diminuição da sua produção.

A glicagina irá, a nível do tecido adiposo, induzir a formação de ácidos gordos livres (ao activar a hidrólise dos triacilgliceróis); a nível do hepatócito a glicagina induz indirectamente o aumento da captação dos ácidos gordos pela estimulação do sistema carnitina (responsável pelo transporte de ácidos gordos para o interior da matriz mitocondrial).

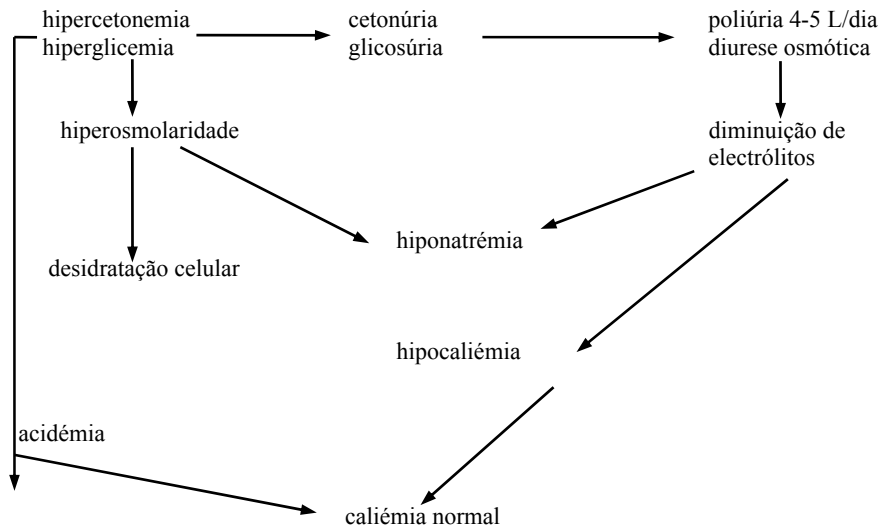
A estimulação do sistema de transporte de ácidos gordos livres pela carnitina decorre da actuação conjunta de dois mecanismos:

- Diminuição da produção de malonil-CoA e aumento da concentração intracelular do transportador, a carnitina;
- Aumento de captação de ácidos gordos livres pelo hepatócito.

Decorre uma produção crescente de corpos cetónicos, contribuindo assim para a elevação da concentração destes compostos para valores críticos a nível sérico. Acompanhando este aumento, e ao contrário do que seria de esperar, existe uma diminuição da captação periférica, o que contribui para o agravamento do quadro clínico de cetoacidose.

A mortalidade desta síndrome é relativamente elevada (superior a 10%), sendo principalmente devida às complicações decorrentes, nomeadamente,

edema cerebral, enfarte agudo do miocárdio, síndrome de dificuldade respiratória do adulto e trombose vascular.



### IIIb – Hiperglicémia Hiperosmolar

Esta complicação está normalmente associada a diabetes não insulino dependente. O quadro clínico cursa com uma desidratação muito marcada e as populações mais atingidas são os doentes idosos, acamados, com dificuldade na ingestão de líquidos (com sequelas de acidentes vasculares cerebrais, etc.), podendo igualmente estar associada à ingestão de drogas (fenitoína, esteróides ou agentes imunossupressores).

Desconhece-se o mecanismo pelo qual não há produção de corpos cetónicos, mas uma das hipóteses é que a baixa concentração de ácidos gordos livres limita a formação de corpos cetónicos, sendo este facto acompanhado por uma insulinémia mais elevada, o que previne a activação completa do sistema da carnitina hepática. Uma outra hipótese é a existência de resistência à glicagina, com manutenção de uma concentração elevada de malonil-CoA.

Este tipo de situação clínica é muito grave, estando associada uma mortalidade superior a 50%.

### III – Acidose Láctica

Presume-se que a deficiência de insulina, com inibição da oxidação do piruvato, seja o factor mais importante para o desenvolvimento da acidose láctica no diabético mal controlado; contudo o mecanismo exacto está mal esclarecido.

O quadro clínico cursa com acidose metabólica (diminuição de pH com diminuição de bicarbonatos) e um elevado hiato aniónico (superior a 15mEq/l). Este hiato verifica-se pela diminuição de concentração de bicarbonato ser acompanhada pelo aumento de aniões (lactato). Se se dosear o lactato sérico verificamos que o valor é superior a 7 mmol/L (normal < 1mmol/L), contudo raramente dispomos de capacidade laboratorial que nos permita realizar esta análise.

#### *Bibliografia*

- Reach G – Complications métaboliques aigues du diabète. Rev Prat 1990, 40: 12-16
- Watkins PJ – Diabetic autonomic neuropathy. N Engl J Med 1990, 12: 1078-79
- Boyle PJ et al – Plasma glucose concentrations at the onset of hypoglycemic symptoms in patient with poorly controlled diabetes and in nondiabetics. N Engl J Med 1988, 318: 1487-90
- Malouf R, Burst JCM – Hypoglycemia: causes, neurological manifestations, and outcome. Ann Neurol 1985, 17: 421-32

## **COMPLICAÇÕES TARDIAS DA DIABETES MELLITUS**

*Fernando Martos Gonçalves*

A diabetes é uma das doenças metabólicas mais frequentes, com uma prevalência calculada entre 2 e 4% da população, constituindo um grave problema de saúde pública.

Caracteriza-se por uma série de alterações metabólicas, sendo a mais chamativa a hiperglicémia, e a sua evolução é “marcada” por uma série de complicações.

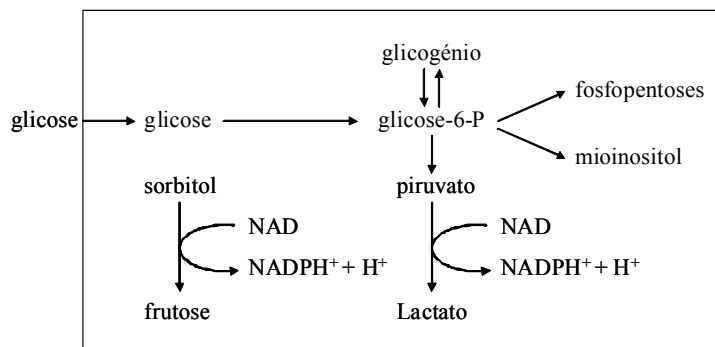
Genericamente podemos dividi-las em:

- I. Vasculares
  - a – microangiopatia: nefropatia e retinopatia
  - b – macroangiopatia: aterosclerose
- II. Não vasculares
  - a – neuropatia
  - b – catarata
  - c – outras: dermatopatias, úlceras do pé, infecções, etc.

A sua patogenia é desconhecida e parece ser multifactorial (factores genéticos, metabólicos, imunológicos e infecciosos). Alguns doentes nunca apresentam aquelas complicações, enquanto outros, inclusivé com um bom controlo de glicémia, têm-nas.

As grandes dúvidas residem em considerar estas complicações como secundárias às alterações metabólicas da diabetes (hiperglicémia, deficiência de insulina) ou como alteração metabólica primária herdada de forma independente do déficit insulínico. Cada vez mais as complicações parecem estar relacionadas com a hiperglicémia. Assim, o excesso de glicose intracelular canalizaria a mesma para a via dos polióis, resultando na acumulação de sorbitol dentro das células, aumento de glicosilação não enzimática das proteínas e diminuição do mioinositol intracelular.

*Células insulino-dependentes*  
(retina, cristalino, medula renal, célula muscular lisa, eritrócito)



A acumulação de sorbitol aumenta a osmolaridade intracelular (com o conseqüente edema celular), leva à acumulação de lactato e à diminuição da síntese de mioinositol. A glicosilação não enzimática das proteínas altera a função e estrutura das proteínas. A diminuição do mioinositol intracelular leva a uma alteração da composição das membranas celulares e à diminuição da velocidade de condução nervosa.

### **Microangiopatia Diabética**

Caracteriza-se pelo espessamento da membrana basal dos capilares e arteríolas e considera-se específica da diabetes. Clinicamente, manifesta-se pela retinopatia e pela nefropatia diabética.

### **Retinopatia Diabética**

É uma das principais causas de cegueira nos países desenvolvidos. A sua presença e gravidade tem relação com a duração da diabetes e surge raramente antes da puberdade. Manifesta-se inicialmente por microaneuris-

mas retinianos, exsudados duros e moles, edema da mácula e hemorragias da retina. Uma pequena percentagem de diabéticos evolui desta fase não-proliferativa para a fase proliferativa, com a formação de novos vasos e de tecido fibroso, o que compromete seriamente a visão. Existem várias teorias que tentam explicar a sua patogenia, estando implicada a hiperglicémia (sorbitol, hormona do crescimento, glicosilação não-enzimática....) que levam ao espessamento da membrana basal, alteração das células endoteliais e à perda de pericitos.

Não há tratamento médico conhecido eficaz para a prevenção ou retardamento da progressão da doença. No entanto, é recomendável o controlo da glicémia logo após o diagnóstico da diabetes; há estudos em curso com ácido acetilsalicílico (antipirético e analgésico, com acção antiagregante plaquetária) e inibidores da aldose redutase que não são conclusivos. Nas fases mais avançadas utiliza-se a fotocoagulação com laser e a vitrectomia quando surgem hemorragias do vítreo.

### **Nefropatia Diabética**

Aparece habitualmente entre 15 e 20 anos após o diagnóstico da diabetes em aproximadamente 50% dos diabéticos insulino-dependentes, sendo mais rara nos não insulino-dependentes. Na sua história natural, reconhecem-se várias fases: hiperfiltração e hipertrofia renal, nefropatia diabética incipiente (microalbuminúria), proteinúria persistente e finalmente insuficiência renal terminal com urémia. A progressão da doença renal é acelerada pela hipertensão arterial. Não há tratamento específico para a nefropatia diabética. O controlo metuculoso da glicémia pode, em alguns doentes, reverter a microalbuminúria. Deve controlar-se a hipertensão arterial e a dieta deverá ser hipoproteica. Na fase terminal unicamente podemos oferecer a hemodiálise e o transplante renal.

### **Neuropatia Diabética**

Pode afectar qualquer parte do sistema nervoso, com a possível excepção do cérebro. Os principais quadros clínicos são a polineuropatia periférica, a mononeuropatia, a neuropatia autónoma e a neuropatia amiotrófica. As causas são múltiplas e não são iguais em todos os tipos de neuropatia. Estão descritas várias alterações bioquímicas a nível do nervo, que são comuns às alterações atrás expostas para a microangiopatia diabética.

### **Aterosclerose**

É a maior causa de morte nos diabéticos. Não é diferente da aterosclerose dos não-diabéticos, mas surge mais precocemente e é mais extensa. Aten-

dendo a que a hiperglicémia é um factor de risco, deve prestar-se especial cuidado no seu controlo e tratar ou controlar os outros factores de risco presentes (hipertensão arterial, tabagismo, hiperlipidémia, obesidade).

A hiperglicémia agrava a lesão endotelial devido à hipóxia secundária, ao aumento de sorbitol e de HbA1c, e à diminuição de 2,3-BPG e de fosfatos. Actua também sobre as plaquetas, fibrinólise, colagénio e lípidos.

### **Catarata Diabética**

Inicialmente, surgem vacúolos na região equatorial do cristalino e posteriormente a opacificação do núcleo do cristalino. A causa principal parece ser o aumento do sorbitol intracelular e também a alteração das proteínas secundária à glicosilação não-enzimática pela glicose.

#### *Bibliografia*

- Foster DW – Diabetes Mellitus. *In*: Harrison's Principles of Internal Medicine. 11<sup>th</sup> ed., 1988, 1778-1796
- Diabetes Mellitus. *In*: Cecil's Essentials of Medicine. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia, WB Saunders Co. 1990, 496-505
- Azevedo MS – Complicações tardias da Diabetes. *Acta Med Port* 1986, 7: 1-15
- Rizza RA, Greene DA – Diabetes Mellitus. *Med Clin N Amer* 1988, 72: 6

## **TERAPÊUTICA DA DIABETES**

*Luísa Sagreira*

### **Pequeno relance histórico – Educação do Diabético**

No século passado, Bouchardat (1806-1886), Professor da Universidade de Paris e “pai” da Diabetologia Clínica actual, definiu como medidas terapêuticas fundamentais da diabetes: a *dieta* e o *exercício físico*, regulados pela *autovigilância das glicosúrias* pesquisadas diariamente, e pela evolução do *peso corporal*. Pela primeira vez são recomendadas dietas individualizadas aos doentes, prescreve-se o exercício físico e chama-se a atenção para a *educação* do diabético.

Este conceito da necessidade da educação do diabético perdeu-se, resurgindo na clínica Joslin, em Boston, em 1922, com o advento da insulino-terapia, que o doente educado deveria saber manejar.

Foi o Dr. Ernesto Roma, que aí trabalhava na altura, que ao regressar a Portugal a pratica agora pela primeira vez na Europa, tornando-se um pioneiro na Educação do diabético e fundador da 1<sup>a</sup>. Associação mundial de diabéticos.

Só nos anos 70 é que nos outros países da Europa a educação do diabético começa a despertar maior interesse, sendo hoje considerada por todos como uma condição básica indispensável para se atingirem os objectivos terapêuticos.

### **Objectivos Terapêuticos**

- Dar ao diabético uma sensação de bem-estar físico e psíquico com plena recuperação do rendimento físico e intelectual.
- Corrigir o desequilíbrio metabólico.
- Normalizar o estado de nutrição.
- Evitar as complicações agudas da diabetes e da sua terapêutica (hipoglicemia, cetoacidose e coma hiperosmolar).
- Prevenir as complicações tardias da diabetes.
- Conseguir uma boa recuperação.

### **Abordagem Terapêutica**

Faz parte da abordagem terapêutica o ensino de determinadas noções e técnicas que o doente tem que conhecer e praticar correctamente, para assim se atingirem os objectivos terapêuticos.

Nesta fase inicial da *educação do diabético* faz-se:

- psicoterapia para *aceitação da doença*, particularmente difícil em jovens, crianças e seus familiares, gerando por vezes situações de revolta, ansiedade e rejeição;
- ensino de noções gerais de *fisiopatologia* da doença e sua *terapêutica* (o que é a diabetes? o que é a insulina?);
- ensino de *técnicas de autovigilância* (glicosúria, cetonúria e glicemia);
- ensino de *dietoterapia*;
- ensino de *noções gerais de higiene* (pele, boca, genitais);
- aconselhamento da prática de *exercício físico*;
- ensino das técnicas de insulino-terapia quando indicadas.

A *terapêutica propriamente* dita assenta na conjugação de três elementos essenciais:

- *dieta*;
- *exercício físico*;
- *insulina e/ou antidiabéticos orais*.

A terapêutica é permanente e perpétua, sempre variável, em função de múltiplos factores que ocorrem na vida do diabético e que interferem uns com os outros e com o seu equilíbrio metabólico.



De forma esquemática pode dizer-se que a dieta e o exercício físico estão indicados em todos os tipos de diabetes, e que, além disso, os antidiabéticos orais estão indicados na diabetes do tipo II e a insulina na diabetes do tipo I (ambos de uso muito recente na clínica – a insulina desde 1922 e os antidiabéticos orais desde 1955).

### **Dieta**

A dieta é individualizada, embora haja regras gerais de alimentação comuns a todos os diabéticos:

- abolição dos açúcares livres;
- dar preferência aos glícidos de molécula complexa, principalmente os ricos em fibras vegetais;
- diminuir o aporte de gordura animal, rica em ácidos gordos saturados, preferindo a gordura de origem vegetal ou de peixe, em que predominam os ácidos gordos mono e poli-insaturados, menos aterogénicos;
- ração proteica ligeira (0,8-1g/Kg de peso/dia);
- redução do sal;
- fraccionamento da dieta.

No caso de se tratar de um diabético obeso a dieta deve ser hipocalórica para correcção da obesidade.

### **Antidiabéticos Orais**

Subdividem-se em 2 grupos principais, com mecanismos de acção diferentes:

*Sulfonilureias* – actuam a vários níveis:

- Pancreático – efeito beta-citotrópico de estimulação da secreção de insulina;
- Hepático – redução da produção de glicose a esse nível;
- Periférico – a nível dos receptores celulares de insulina e a nível pós-receptor, potenciando aí a acção da insulina.

*Biguanidas* – actuam por:

- Redução da absorção intestinal de glicose;
- Aumento da sua utilização celular;
- Inibição da gliconeogénese hepática;
- Estimulação da glicólise anaeróbia;
- Redução ponderal por efeito anorexígeno;
- Potenciação da acção da insulina a nível receptor e/ou pós-receptor celular.

## **Insulina**

A insulina, isolada em 1921, foi uma verdadeira revolução na história da diabetologia. Até aí todos os diabéticos do tipo I estavam condenados à morte em coma diabético, pouco tempo após o diagnóstico. Na sua curta sobrevivência apenas dispunham, como medida terapêutica, de uma dieta de “fome” até à caquexia, morrendo todos estes jovens e crianças como se num campo de concentração se encontrassem, principalmente os mais bem tratados.

O progresso foi enorme e hoje dispõe-se de *insulina “humana”*, altamente purificada, obtida por engenharia genética (programação de *E.coli* ou levedura) ou obtida a partir de insulina de porco modificada, por processos enzimáticos complexos, com troca do aminoácido B30 (a alanina por treonina), ficando assim com uma sequência exactamente igual à humana, o que a torna menos imunogénica.

Como a insulina é destruída por via oral, é obrigatório o uso da via parentérica. Após a injeção subcutânea a insulina é absorvida para a corrente sanguínea, chegando às células, onde se liga aos receptores específicos, desenvolvendo a sua actividade. A sua degradação dá-se no fígado e no rim.

O diabético educado auto-injecta-se e decide as doses de insulina que diariamente, por várias vezes (2 a 4), tem que administrar para a obtenção de um bom equilíbrio metabólico.

Há vários métodos de administração:

- Convencional – seringas “disposable”;
- “Canetas” de administração de insulina;
- Bombas de infusão contínua de insulina por via s.c.;
- Bombas de infusão de insulina implantadas;  
programadas/não programadas  
via peritoneal/via intravenosa
- Via alternativa – nasal (em estudo)

## **Tentativas de Tratamento Curativo na Diabetes do Tipo I**

- Transplante
- Implantação de ilhéus de Langerhans
- Imunoterapia

Tentativas de cura altamente sedutoras pela normalização metabólica a que conduzem e pela melhoria das complicações degenerativas já existentes, são o transplante pancreático (total ou de um segmento) e a implantação de ilhéus de Langerhans (injectados, sob anestesia local, na veia umbilical, vão alojar-se no fígado e produzir insulina...).

Na prática a indicação destas medidas terapêuticas ainda é muito restrita, por graves e importantes problemas ainda não inteiramente resolvidos, um dos quais é o da imunossupressão a que obriga, e que faz com que o

transplante seja exclusivamente indicado a casos altamente seleccionados, por exemplo, doentes que em virtude de um transplante renal tenham por esse motivo que fazer imunossupressão.

A imunoterapia é outra tentativa de cura que apenas tem levado a remissões temporárias, quando praticada muito precocemente (nas primeiras semanas após o diagnóstico da diabetes tipo I); esta que é uma doença autoimune que, nessa fase, apresenta altas taxas de anticorpos anticélula beta circulantes.

*Abreviaturas utilizadas:*

AMPc – adenosina monofosfato cíclico

ATP – adenosina trifosfato

NADP – nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (oxidado)

NADPH – nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (reduzido)

*Palavras-chave*

Acidose láctica, biguanidas, bomba infusora, cetoacidose, classificação, complicações agudas, complicações tardias, diabetes, diagnóstico, educação do diabético, exocitose, hiperosmolar, hipoglicemia, hormonas, imunoterapia, insulina, ligação bissulfito, macroangiopatia diabética, manifestações clínicas, mecanismo de acção da insulina, metabolismo, microangiopatia diabética, pré-proinsulina, pró-insulina, sulfonilureias, transplante pancreático.

## VIII SEMINÁRIO

### Tema: ASPECTOS BIOQUÍMICOS E CLÍNICOS DA FENILCETONÚRIA

#### Subtemas:

- Fenilalanina hidroxilase/biopterina
- Repercursos bioquímicos da hiperfenilalaninémia e fenilcetonúria
- Fenilcetonúria clássica

#### Intervenientes

Docentes do Instituto de Bioquímica/FML:

- Doutora Carlota Saldanha (Prof<sup>a</sup>. Auxiliar)
- Doutor J. Martins e Silva (Prof. Cat.)

Docente convidado

- Dr. Aguinaldo Cabral (Especialista de Pediatria, HSM, Assist. Conv. Pediatria/FML)

### FENILALANINA HIDROXILASE/BIOPTERINA

*Carlota Saldanha*

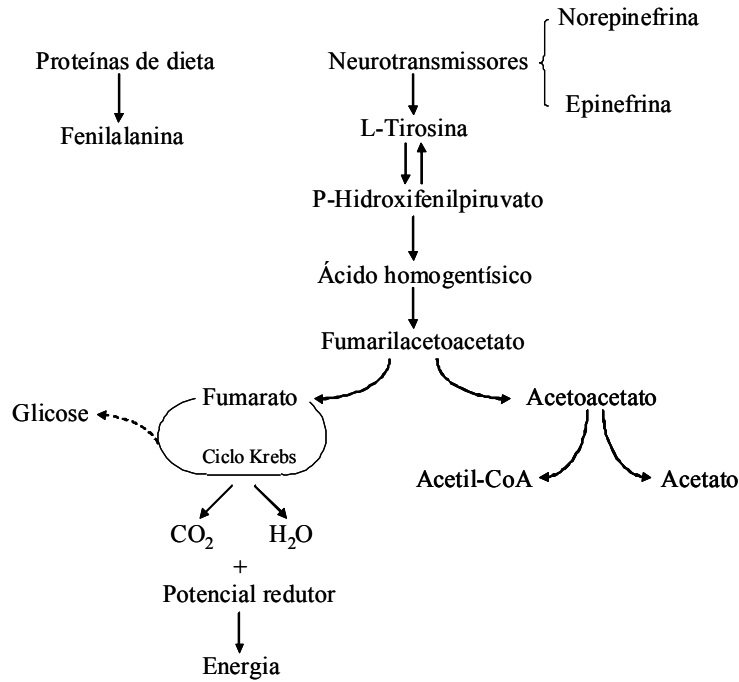
Após a descrição sumária do catabolismo de fenilalanina é apresentada a acção enzimática da fenilalanina hidroxilase (fenilalanina-4-mono-oxigenase E.C. 1.14.16.1), a função do cofactor tetrahydrobiopterina e as respectivas contribuições na homeostasia da fenilalanina.

#### Catabolismo da Fenilalanina

Dos vinte L-aminoácidos constituintes das proteínas oito são essenciais, isto é, devem fazer parte da dieta porque o organismo humano não tem capacidade de os sintetizar.

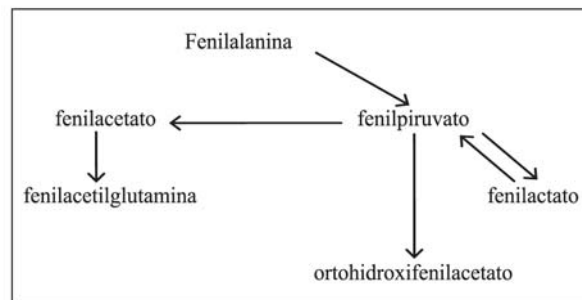
Considerando como exemplo a fenilalanina, obtém-se por hidroxilação deste aminoácido essencial outro não-essencial, a tirosina (Figura 1).

Posteriormente a transformação catabólica da tirosina (Figura 1) conduz à formação de fumarato, de acetato, da glicose “de novo” ou à obtenção de energia. A fenilalanina e a tirosina incluem-se no grupo dos aminoácidos cetogénicos e gliconeogénicos. A tirosina, após hidroxilação (Figura 1), pode originar mediadores químicos não proteicos com funções de neurotransmissor, as catecolaminas (dopamina, norepinefrina e epinefrina).



**Fig. 1** – Esquema do catabolismo da fenilalanina e da tirosina (aminoácidos cetogénicos e gliconeogénicos).

Sequências catabólicas (Figura 2) alternativas à da hidroxilação da fenilalanina, originam compostos fenilcetonúricos (fenilpiruvato, fenilacetato, fenilactato e ou fenilacetilglutamina), cujos valores de concentração elevada na urina (fenilcetonúria) contribuem para a suspeita de hiperfenilalaninémia (valores acima do normal de concentração de fenilalanina no plasma).

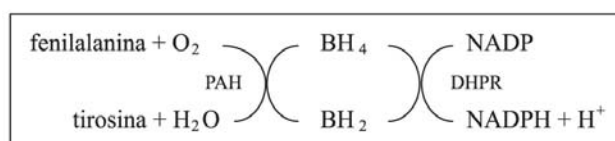


**Fig. 2** – Esquema dos derivados cetoácidos obtidos nas vias catabólicas alternativas à hidroxilação da fenilalanina

### Hidroxilação da Fenilalanina

A interconversão irreversível do aminoácido essencial fenilalanina no aminoácido (não-essencial) tirosina (Figura 3) ocorre na célula hepática na presença de:

- fenilalanina hidroxilase (PAH)
- tetrahidrobiopterina ( $BH_4$ )
- oxigénio ( $O_2$ )
- dihidrobiopterina redutase (DHPR)
- nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato-reduzido (NADPH)



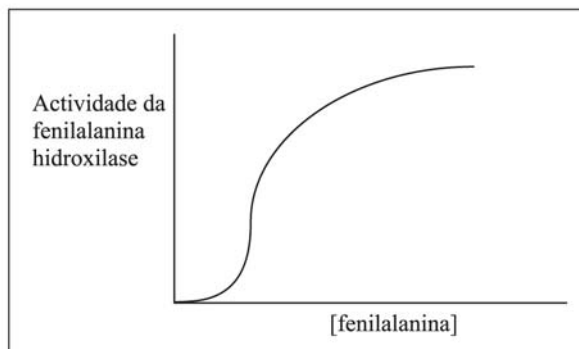
**Fig. 3** – Representação esquemática da hidroxilação da fenilalanina.

Para a homeostasia da fenilalanina (manutenção dos valores normais) é necessário:

- regeneração de  $BH_4$  por redução de dihidrobiopterina ( $BH_2$ ) formada
- normal processamento da síntese de  $BH_4$
- ausência de mutação das enzimas DAH e DHPR e das enzimas intervenientes na síntese de  $BH_4$
- ausência de actividade deficiente das enzimas PAH e DHPR

A fenilalanina-hidroxilase (fenilalanina-4-monoxigenase, EC. 1.14.16.1; hepatocito humano) é uma metaloenzima (Fe) tetramérica, alostérica, com funções reguladoras, que apresenta cooperatividade para alguns efectores dependentes, ou não, de acção hormonal.

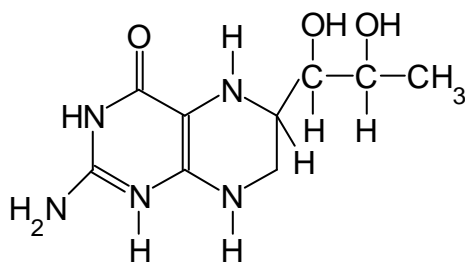
A regulação homotrópica positiva da actividade enzimática da PAH exercida pela fenilalanina (Figura 4) (i) mantém a concentração deste aminoácido essencial em valores fisiológicos, (ii) actua em sinergismo com a fosforilação das subunidades e (iii) induz alterações conformacionais na enzima conducentes a um estado activo.



**Fig. 4** – Representação do perfil sigmóide da variação da actividade enzimática da fenilalanina hidroxilase em função da concentração de fenilalanina.

### Síntese da Tetrahydrobiopterina

O cofactor  $BH_4$  reduz o  $Fe^{3+}$  de cada sub-unidade de PAH a  $Fe^{2+}$ ; é uma pterina não-conjugada (Figura 5) sintetizada no organismo a partir da hidrólise da guanosina-trifosfato (GTP) pela acção da GTP-ciclohidrolase (enzima regulada, por “feed-back”, pela concentração de  $BH_4$ ) (Figura 6).

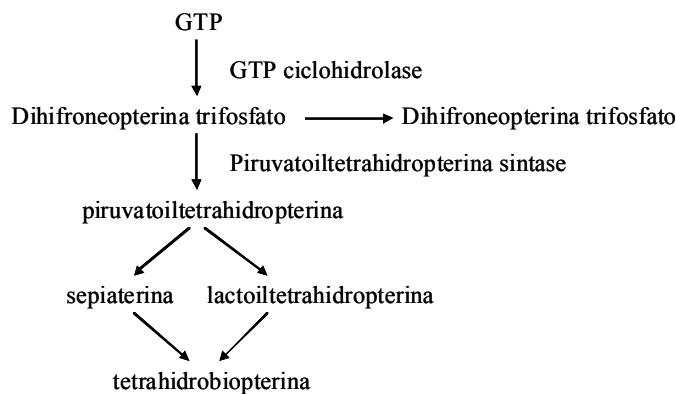


**Fig. 5** – Estrutura da tetrahydrobiopterina ( $BH_4$ ) 2-amino-4-hidroxi-6-(L eritro 1',2'-dihidroxi-propil)-tetrahydropteridina.

A oxidação não enzimática da dihydroneopterin trifosfato origina neopterin quando do déficit de piruviltetrahydropterina-sintase. Como consequência, a ausência de síntese de  $BH_4$  aumenta a concentração de fenilalanina no plasma.

A ocorrência de hiperfenilalaninemia associada à inibição da síntese de  $BH_4$  pode ainda resultar de deficiente acção enzimática da GTP ciclohidrolase; nesta situação não se forma neopterin.

No mecanismo de regeneração de  $BH_4$  a partir de  $BH_2$ , se não existir NADPH e/ou actividade catalítica (por mutação) de DHPR há acumulação de fenilalanina plasmática.



**Fig. 6** – Representação em esquema da síntese da tetrahydrobiopterina

A acrescentar a estas diferentes situações de hiperfenilalaninémia podem ocorrer alterações na síntese de fenilalanina hidroxilase ou a enzima apresentar actividade enzimática deficiente.

## REPERCUSSÕES BIOQUÍMICAS DA HIPERFENILALANINÉMIA E FENILCETONÚRIA

*J. Martins e Silva*

A fenilalanina é um dos aminoácidos (AA) essenciais e, como tal deverá ser fornecido na dieta alimentar. Havendo deficiência alimentar em fenilalanina (ou qualquer dos outros nove AA essenciais, Quadro I) há balanço azotado negativo, isto é, o total proteico degradado excede o total sintetizado ou alimentar. Em condições normais, há equilíbrio entre o catabolismo e anabolismo proteicos.

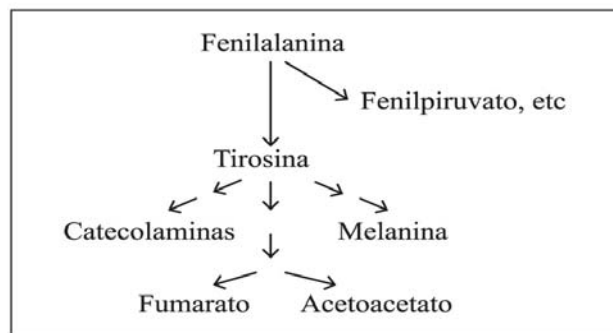
**Quadro I** – Aminoácidos fundamentais (n = 20)

Essenciais (n = 9)	Não essenciais (n = 11)
histidina	alanina
isoleucina	arginina
leucina	asparagina
lisina	aspartato
metionina	cisteína
fenilalanina	glutamato
treonina	glutamina
triptofano	glicina
valina	prolina
	serina
	tirosina



A via catabólica da fenilalanina termina na formação de fumarato (intermediário do ciclo de Krebs) e do acetoacetato (um dos corpos cetônicos). Na primeira etapa, a fenilalanina é convertida em tirosina (também um aminoácido aromático) por uma mono-oxigenase (a fenilalanina-hidroxilase), na presença de oxigênio molecular e um redutor, a tetra-hidropterina. Em situação de deficiência total ou parcial daquela enzima ou de biopterina, a fenilalanina tende a acumular-se no sangue e em outros líquidos orgânicos, a par da escassa ou nula conversão em tirosina e subseqüentes produtos.

O bloqueio daquela etapa enzimática é detectado na infância. A não conversão da fenilalanina ou tirosina acompanha-se de manifestações clínicas diversas, com destaque para o atraso mental, perturbações neurológicas, descoloração da pele e pêlos, e eczema cutâneo. Estas repercussões clínicas resultam decerto da acumulação no organismo da fenilalanina e dos seus derivados em excesso, e da potencial diminuição dos produtos de degradação da tirosina (Figura 7):

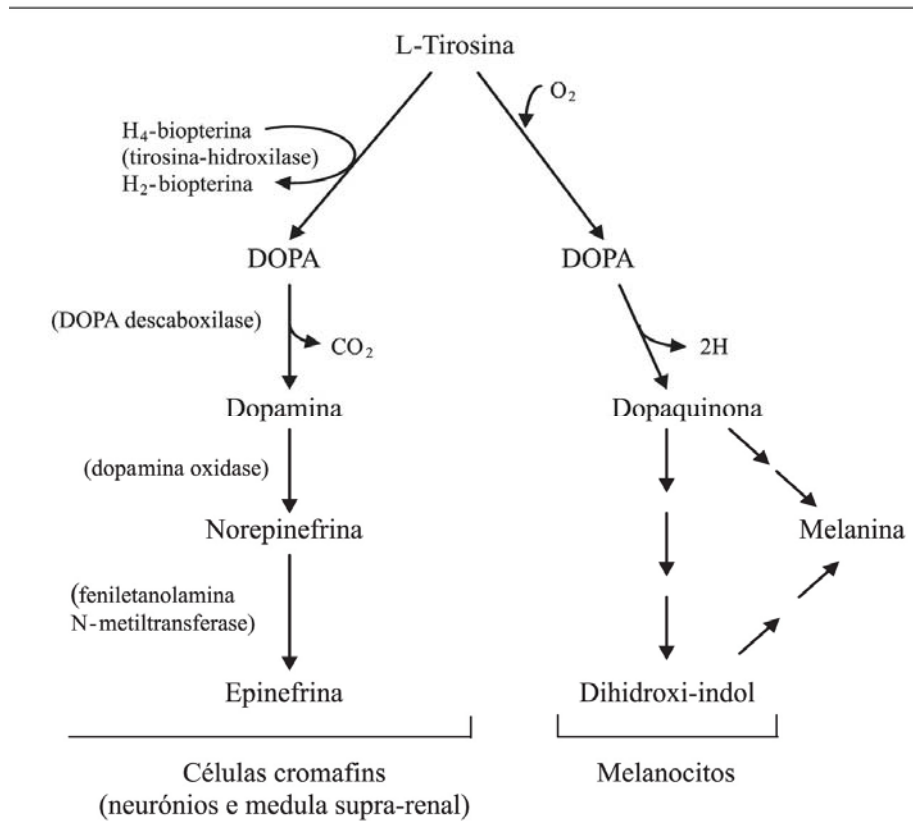


**Fig. 7** – Principais derivados metabólicos e catabolismo da fenilalanina

Não está esclarecida a base bioquímica do atraso mental. A gravidade desta situação acentua-se com a demora na administração de uma dieta com baixo teor em fenilalanina. Entre outras causas potenciais o atraso mental poderá ser atribuído a efeitos tóxicos da fenilalanina, ao interferir no transporte e metabolismo de outros aminoácidos aromáticos (por exemplo: tirosina) pelo cérebro. A fenilalanina em excesso é convertida por transaminação em fenilpiruvato (que é uma fenilcetona, que confere a designação à doença) e deste em fenil-lactato, fenilacetato (e fenilacetilglutamina) e o orto-hidroxilfenilacetato (Figura 8):

A eliminação das fenilcetonas em excesso pela urina está na origem do odor característico e (desagradável) a mofô que provém dos doentes e seus pertences.

A descoloração dos tegumentos e pêlos está relacionada com a menor formação de melanina. Esta substância é um pigmento negro que se acumula em grânulos nos melanosomas cutâneos (e também nas vísceras). A melanina é o produto final de uma das seqüências enzimáticas secundárias da tirosina, iniciada pela respectiva conversão em dopa por uma oxidase. Esta reação é inibida competitivamente pelo excesso de fenilalanina nos fenilcetonúricos. Em alternativa, a dopa é descarboxilada em dopamina num processo sequencial que conduz à formação das catecolaminas (Figura 8):



**Fig. 8** – Formação das catecolaminas e melanina a partir da L-tirosina

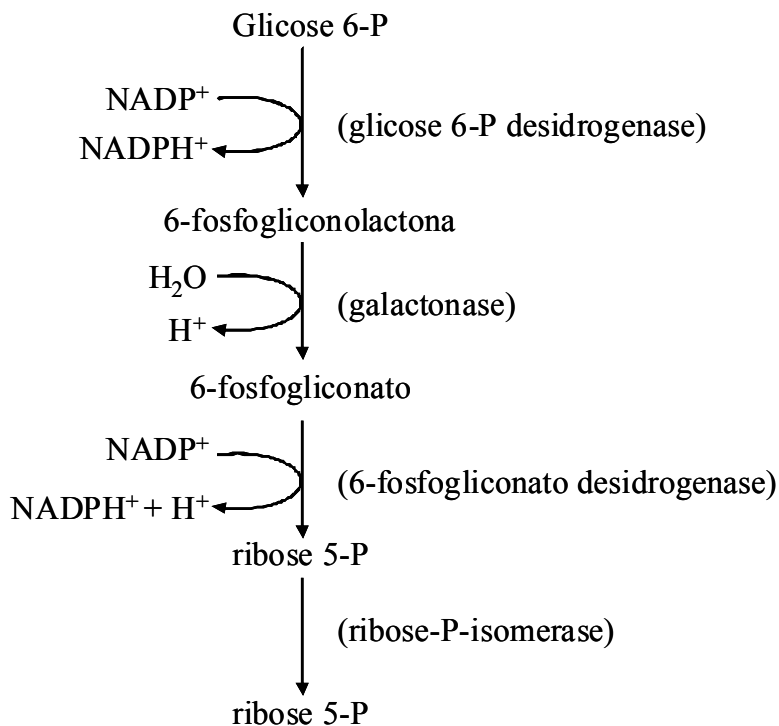
## FENILCETONÚRIA CLÁSSICA

*Aguinaldo Cabral*

É apresentada a experiência da Unidade de Doenças Metabólicas (Clínica Universitária de Pediatria, HSM/FML) em perto de seis dezenas de doentes PKU, diagnosticados e tratados entre 1972 e 1991.

São apresentados muitos casos clínicos, sua evolução ao longo de anos, sua avaliação mental e nutricional.

A fenilcetonúria clássica (PKU) é uma doença metabólica hereditária autossómica recessiva, devida a deficiência da fenilalanina-hidroxilase (PAH) hepática, enzima que catalisa a reacção irreversível fenilalanina (Phe) → tirosina (Tyr), em presença de um cofactor natural, a tetrahydrobiopterina (BH<sub>4</sub>). É uma doença do metabolismo dos aminoácidos (AA), concretamente do catabolismo do AA aromático, a fenilalanina, que é essencial para os humanos e está presente em todas as proteínas naturais (4-6% do seu peso). A hidroxilação da Phe em Tyr constitui a via metabólica principal (Fig. 9). A deficiência enzimática determina um bloqueio com acumulação a montante de Phe (hiperfenilalaninémia), e depleção de Tyr a jusante.



**Fig. 9** – Interações metabólicas e derivados da fenilalanina

Contudo, hiperfenilalaninemia não é sinónimo de fenilcetonúria, pois pode ser provocada também por deficiência da síntese e regeneração da  $BH_4$ , doenças hepáticas graves, drogas, excessivo aporte proteico, etc. A  $BH_4$  é simultaneamente cofactor fundamental da hidroxilação da tirosina e do triptofano (Figura 10).

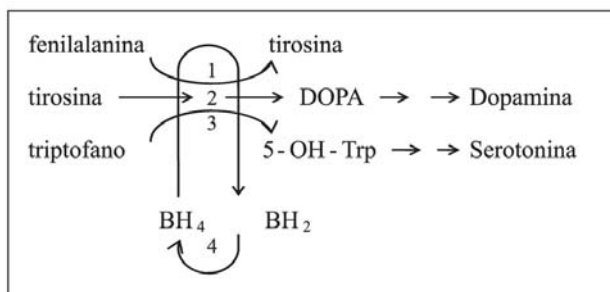


Fig. 10 – Participação das biopterinas na hidroxilação da tirosina e do triptofano.

Diferentes mutações no gene que codifica a PAH explicam os diferentes fenótipos da doença. Na realidade, a deficiência de PAH pode ser mais ou menos profunda, cabendo a definição de PKU clássica ao defeito profundo (<1% da actividade normal) da PAH.

Se não for diagnosticada e tratada precocemente a doença origina grave e progressivo atraso mental. O diagnóstico precoce é possível há várias décadas, estando em marcha técnicas mais simplificadas para detecção de heterozigotos e diagnóstico pré-natal.

A incidência da PKU é aproximadamente de 1/10.000 nascimentos, na Europa. Em Portugal é de 1/15.700.

### Notas Históricas

- 1934 – Asbjörn Folling: primeiros casos da doença a que chama “oligofrenia fenilpirúvica”.
- 1937 – Penrose e Quastel: designação actual de fenilcetonúria.
- 1953 – Udenfriend e Cooper: descrição do sistema enzimático da hidroxilação da Phe.
- 1953 – Jervis: deficiência de PAH no fígado dos doentes.
- 1951-54 – Bickel: dieta restritiva em Phe como tratamento da PKU.
- 1957 – Kaufman:  $BH_4$  como cofactor fundamental da PAH.
- 1961-63 – Guthrie e Susi: teste de inibição microbiológica na detecção precoce da PKU (entre nós chamado Teste do pezinho).

- 1977-78 – Cabalska; Smith: possibilidade de deterioração mental após interrupção da dieta entre 4-8 anos de idade.
- 1978-79 – Mabry; Isabel Smith: embrio-fetopatia provocada pela hiperfenilalaninémia nas mães PKU não tratadas.
- 1978/79/80 – Danks; Curtius; Kaufman: hiperfenilalaninémias malignas por deficiência de BH<sub>4</sub>.
- 1986 – Woo e cols.: biologia molecular da PKU.
- 1986 – Simpósio Internacional (Bruxelas): sugerida a importância da dieta para toda a vida.
- 1986-87 – Woo e cols.: correlação entre os haplótipos DNA polimórficos no locus da PAH e os fenótipos clínicos da PKU. Importância para o aconselhamento genético, diagnóstico pré-natal e detecção de heterozigotos.

### **Em Portugal**

- 1975 – ML Levy, MJ Feijó, R Portela, H Gonçalves, MT Nunes, V Rebocho, A Guilherme: publicação dos primeiros casos portugueses.
- 1975 – Criação da Unidade de Doenças Metabólicas no Serviço de Pediatria no HSM. Unidade pioneira no diagnóstico e tratamento das doenças do metabolismo.
- 1975 – Oficialização do Centro de Metabolismo e Genética da Faculdade de Farmácia de Lisboa.
- 1979 – Criação do Instituto de Genética Médica (Porto) por Jacinto de Magalhães.
- 1979-80 – Introdução em Portugal de misturas de AA isentas de Phe.
- 1981 – Implantação do Diagnóstico Precoce (teste do pezinho).
- 1981-83 – A Cabral, R Portela, ML Levy, T Tasco, C Formozinho, C Silveira, A Guilherme: primeiro estudo retrospectivo sobre os defeitos da dieta prolongada nas crianças PKU.
- 1988 – Introdução em Portugal de produtos hipoproteicos acessíveis aos PKU.
- 1990-91 – A Cabral, R Portela, T Tasso, F Eusébio, IT Almeida, PP Leandro, FP Vieira, I Fernandes, C Silveira: primeiros casos de hiperfenilalaninémias malignas diagnosticadas em Portugal.

### **Patogénese**

A deficiência de PAH determina um bloqueio na via metabólica principal do catabolismo da Phe, com acumulação a montante de Phe e seus metabolitos nos fluidos e tecidos orgânicos (incluindo o SNC), e moderada defi-

ciência de Tyr a jusante. A hiperfenilalaninémia persistentemente mantida pode lesar de modo irreversível o cérebro humano, devido às profundas alterações do metabolismo cerebral, extremamente nocivas para este órgão do RN e lactente em curso de crescimento, desenvolvimento e mielinização. A hiperfenilalaninémia inibe a acção da PAH e condiciona, por interacção competitiva nos mecanismos de transporte de aminoácidos através da barreira hematoencefálica, um balanço negativo de determinados aminoácidos (valina, isoleucina, leucina, tirosina, triptofano) ao nível das células nervosas. Como consequência há diminuição da síntese proteica e lipoproteica cerebral, da síntese de neurotransmissores, da arborização dendrítica, da sinaptogénese e da mielinização. A inibição do transporte e entrada no cérebro de Tyr e Trp leva a deficiente síntese de dopamina e serotonina. A Phe e seus metabolitos acumulados (fenilpiruvato, fenil-lactato, fenilacetato, fenilacetil-glutamina, feniletilamina) podem ser detectados no sangue, urina e LCR. O papel patogénico dos referidos metabolitos no SNC ainda se discute. O envolvimento cerebral é seguramente multifactorial, parecendo contudo ser a Phe, *per se*, o “tóxico” principal em causa.

### **Clínica**

Nos doentes não tratados, o atraso mental é inevitável (98% terão  $QI < 50$ ), surgindo ainda: alterações graves do comportamento (agitação, agressividade, autismo, psicose), tremor e tiques, alterações do EEG (78-96%), convulsões (37-50%), eczema (25%), microcefalia, atraso de crescimento, hipertonia muscular, odor particular (a bafio, a rato), hipopigmentação da pele, cabelo e olhos.

Nos doentes diagnosticados e tratados tardiamente, tal facto não é sempre sinónimo de idiopatia fenilpirúvica, tudo dependendo da idade de início do tratamento, da actividade enzimática residual/ $QI$  inicial e da qualidade do controlo dietético. Os que à partida têm um  $QI < 40$ , não chegam nunca à escola normal, são atrasados profundos, com personalidade psicótica, autismo gravíssimo, instáveis e agitados. Nestes doentes, a dieta e o apoio médico-psico-pedagógico melhoram apenas (mas importante) o comportamento, o autismo e a comunicação global com o exterior. Os que à partida têm  $QI > 40$ , vão tendo maiores possibilidades de chegar à escola normal; o tratamento determina progressos importantes (chegando alguns a ter  $QI$  normal), manifestando, contudo, frequentemente perturbações psicóticas, alterações da psicomotricidade, atraso da linguagem, ansiedade, dependência. São crianças que necessitam de apoio médico-psico-pedagógico e, por vezes, de apoios mais especializados: ortofónico e de psicomotricidade.

Quanto aos doentes diagnosticados e tratados precocemente (com menos de 120 dias de vida), chegam à escola normal e a um desenvolvimento mental normal desde que a dieta seja cumprida correctamente. Contudo,

por vezes, sem correlação aparente com o QI, manifestam perturbações da organização temporo-espacial e da psicomotricidade fina, do grafismo e verbal. Têm frequentemente uma personalidade de fundo ansioso, por vezes com sintomas neuróticos; a oralidade pode estar perturbada. Com o tratamento continuado e correcto esta vulnerabilidade psico-afectiva atenua-se.

Os doentes que interrompem a dieta, na sua maioria sofrem deterioração intelectual e comportamental e anomalias de EEG, mostrando grande resistência à reintrodução e aceitação do regime, especialmente se o interregno for dilatado.

### **Detecção Precoce. Diagnóstico**

O diagnóstico precoce da PKU é imperativo, um “rastreo” neonatal é pois fundamental. Este existe em Portugal desde 1981, sendo a taxa de cobertura actual de 94%. O “teste do pezinho”, como é conhecido entre nós, é um procedimento essencial na prevenção do atraso mental, por permitir rastrear situações de hiperfenilalaninémia e de hipotiroidismo.

Entre 5<sup>o</sup>-10<sup>o</sup> dia de vida, colhe-se sangue a todos os recém nascidos (RN) para um cartão (Cartão Guthrie), que é enviado para o Instituto de Genética Médica no Porto, onde, por método de inibição microbiológico (Teste de Guthrie), se referenciam os RN com hiperfenilalaninémia (Phe>2mg/dL). Nestes casos, o teste é repetido e, se novamente positivo, é a criança enviada à nossa Unidade de Doenças Metabólicas (HSM), se for da Zona Sul ou das Ilhas. Nesta Unidade, em internamento, faz-se um cuidadoso diagnóstico diferencial das hiperfenilalaninémias, procurando separar as PKU das deficiências de BH<sub>4</sub> (hiperfenilalaninémias malignas) bem mais graves do que a PKU.

O diagnóstico bioquímico da PKU baseia-se no doseamento da Phe e Tyr plasmáticas por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC), em regime de dieta normal. Esta determinação é executada no Departamento de Bioquímica do Centro de Metabolismo e Genética (Faculdade de Farmácia de Lisboa). Na PKU clássica é habitual valores de Phe plasmática igual ou superiores a 20mg/dL, com tirosinémias inferiores a 5mg/dL.

Feito o diagnóstico de PKU, o doente é submetido de imediato ao tratamento, seguindo um protocolo rigoroso de avaliação bioquímica, neurológica, mental e nutricional.

### **Tratamento**

Consiste num regime dietético, controlado, restritivo em Phe, de modo a fazer baixar o mais rapidamente possível os valores elevados, “tóxicos”, de Phe plasmática, mantendo-os inferiores a 8 mg/dL, se possível entre 2-4mg/dL, pelo menos até aos 10 anos de idade. Após essa idade, a dieta é

liberalizada, nunca interrompida, procurando manter a Phe plasmática entre 10-12mg/dL até aos 15 anos, e entre 15-19,8mg/dL acima dos 15 anos. É fundamental evitar tanto os excessos de aporte como situações de carência desde AA essencial.

As necessidades de Phe são fornecidas por alimentos naturais (leite, vegetais, frutos, produtos hipoproteicos), sendo o restante aporte proteico e calórico fornecido por misturas de aminoácidos isentas de Phe, hidratos de carbono, lípidos, vitaminas, fluor, ácido fólico e ferro.

O tratamento dietético deve ser mantido durante toda a vida.

### **Evolução. Prognóstico**

Os factores preditivos fundamentais do desenvolvimento mental são: idade de início do tratamento, actividade enzimática residual, qualidade do controlo dietético, nível sócio-económico dos pais, QI dos pais (particularmente da mãe). Quanto mais precoce for o diagnóstico e tratamento, melhor o prognóstico. Se o controlo dietético for rigoroso, particularmente durante os primeiros 10 anos de vida, as crianças e adolescentes atingirão um desenvolvimento intelectual normal, muito embora, e apesar de QI altos, poderem manifestar por vezes pequenas perturbações da organização temporo-espacial e da psicomotricidade fina, regredíveis.

Como toda a doença crónica a PKU tem repercussões psicológicas importantes sobre a família e doentes, sendo a adolescência o período mais crítico. O perigo de interrupção do regime, por inconformismo, é de temer no adolescente.

### **O problema das mães PKU**

O cérebro humano em desenvolvimento é altamente sensível a danos estruturais, quando exposto *in utero* a níveis elevados e mantidos de Phe plasmática, como acontece nas mães PKU não tratadas. A hiperfenilalaninémia determina uma embriofetopatia precoce que compromete o crescimento do feto, origina malformações congénitas, microcefalia e atraso mental em mais de 90% dos seus filhos.

Assim, antes da concepção, deve a dieta ser seguida ou retomada, com muito maior rigor e vigilância, e mantida durante toda gravidez. Só deste modo poderão nascer crianças normais.

### **Genética**

Os estudos clássicos de populações mostrou ser a PKU herdada de modo mendeliano (autossómico recessiva).

O gene da PAH está presente no cromossoma 12 (12q22 – q24).

O diagnóstico pré-natal é possível por várias combinações de análise do DNA.



## IX SEMINÁRIO

### Tema: ASPECTOS BIOQUÍMICOS E CLÍNICOS DA MALÁRIA

#### Subtemas:

- Malária: agentes, vectores, inflamação humana e ciclo evolutivo  
alterações hemorreológicas  
parasitação dos eritrocitos  
epidemiologia e clínica  
diagnóstico laboratorial
- Via das fosfopentoses, desidrogenases e drogas oxidantes
- Alterações da membrana eritrocitária
- Alterações da hemoglobina e da permeabilidade eritrocitária

#### Intervenientes

Docentes do Instituto de Bioquímica/FML:

- Dra. Yolanda Pinto (Assist. estagiária)
- Dra. Manuela Nunes (Assist. estagiária)
- Dr. Carlos Moreira (Assist. convidado)

Docentes convidados

- Doutor J. Melo Cristino (Prof. Auxiliar de Bacteriologia FML/Instituto Câmara Pestana)
- Dra. Rosa Estrela B. Inácio (Especialista Lab. Hemat.HSM, Assist. Conv. Inst. Higiene e Medicina Tropical)
- Doutor Francisco Antunes (Prof. Auxiliar, Clínica Univ. Doenças Infecciosas, FML/Inst. Higiene e Medicina Tropical)

Aluna

- Gabriela Pereira

### MALÁRIA: AGENTES, VECTORES, INFECÇÃO HUMANA E CICLO EVOLUTIVO

*J. Melo Cristino*

A malária é uma doença infecciosa causada por protozoários do género *Plasmodium*. Quatro espécies atingem o homem: *P.malariae*, *P. ovale*, *P.vivax* e *P. falciparum*.

O homem adquire a doença através da picada de um artrópode vector, o mosquito do género *Anopheles*. Só as fêmeas são vectores da doença porque só elas são hematófagas. Necessitam de fazer uma refeição de sangue para obterem os nutrientes necessários ao desenvolvimento e maturação dos ovos.

Há mais de 60 espécies de *Anopheles* transmissores de malária. As principais características necessárias para que uma espécie seja boa transmissora incluem a longevidade, a domesticidade, a antropofilia, a hora de alimentação, a susceptibilidade aos plasmódios, os tipos de criadouros e a densidade populacional.

A infecção no homem inicia-se com a picada do mosquito, que inocula o parasita sob a forma de esporozoíto.

Os esporozoítos são transportados para as células parenquimatosas do fígado onde ocorre uma fase de reprodução assexuada chamada ciclo exo-eritrocitário. A sua duração é de uma a duas semanas.

Algumas espécies de *Plasmodium* (*P.vivax* e *P.ovale*) podem dar origem a uma forma hepática latente, o hipnozoíto, na qual o parasita não se divide. Estas formas são as responsáveis pelas recaídas da malária, que podem ocorrer meses a anos após a doença inicial.

Os hepatocitos parasitados rompem-se e libertam os parasitas sob a forma de merozoítos que se irão ligar a receptores específicos da superfície dos eritrocitos, dando início ao ciclo eritrocitário.

A reprodução assexuada continua nos eritrocitos formando-se sucessivamente trofozoítos e esquizontes contendo merozoítos que, após rotura do eritrocito parasitado, se libertam e iniciam novo ciclo eritrocitário.

A lise dos eritrocitos é acompanhada de acesso febril. Este ocorre com uma periodicidade de 48 horas nas infecções por *P.falciparum*, *P.vivax* e *P.ovale* e de 72 horas nas infecções por *P.malariae*.

Alguns merozoítos evoluem para gametocitos masculinos e femininos que permanecem em circulação quatro a cinco semanas. Quando uma fêmea do mosquito *Anopheles* faz a sua refeição de sangue e se infecta pela ingestão das formas sexuadas, inicia-se o ciclo sexuado.

O gametocito masculino, após exflagelação, origina oito formas flageladas, os gâmetas masculinos, que irão fertilizar o gâmeta feminino. A fecundação dá-se no prazo de 20 minutos e forma-se o zigoto no interior do estômago do mosquito. Este evolui para uma forma alongada móvel, o oocineto, que perfura a parede externa do estômago, onde enquista sob a forma de oocisto.

Dentro dos oocistos dá-se a esporogonia, originando-se numerosos esporozoítos. Após rotura do oocisto, os esporozoítos migram para as glândulas salivares do mosquito, que fica apto a infectar o homem.

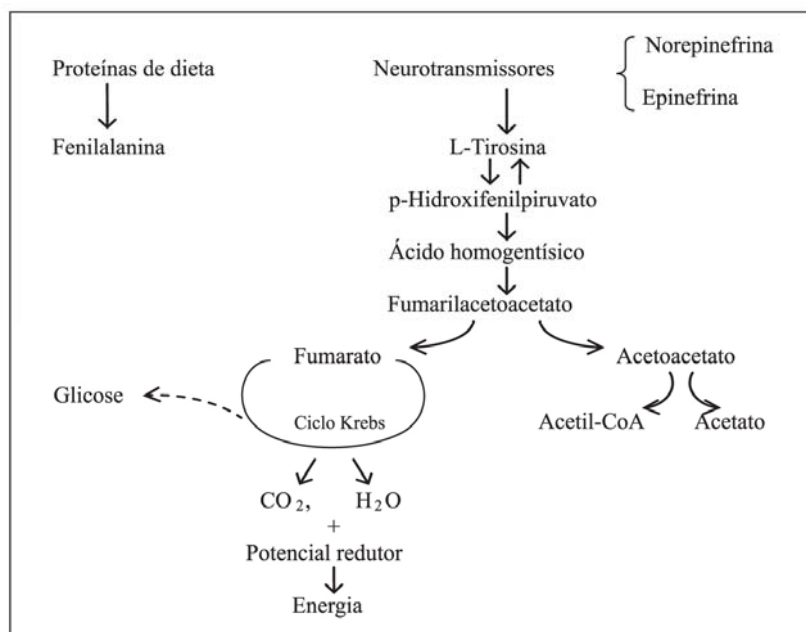
O ciclo sexuado no mosquito dura cerca de duas semanas nas regiões tropicais e três ou mais semanas nas regiões temperadas ou nas terras altas dos trópicos.

**VIA DAS FOSFOPENTOSES, DESIDROGENASES E DROGAS OXIDANTES**

*Gabriela Pereira*

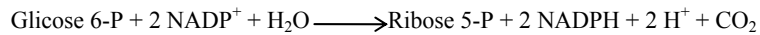
**Via das fosfopentoses**

Simplificando, a via metabólica das fosfopentoses pode ser dividida em duas etapas. Na primeira, ocorre uma descarboxilação oxidativa de uma hexose em pentose, com formação de duas moléculas de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato na forma reduzida (NADPH) nas duas reacções de oxidação. Na segunda etapa, por uma série de reacções complexas (não oxidativas), seis moléculas de pentose originam cinco moléculas de hexose. Quando há necessidade de síntese de ácidos nucleicos e nucleótidos, a via pára na formação de ribose 5-fosfato, segundo a reacção global representada na Fig. 1:



**Fig. 1** – Representação esquemática da transformação da glicose 6-fosfato (glicose 6-P) em ribose 5-fosfato.

Reacção global:



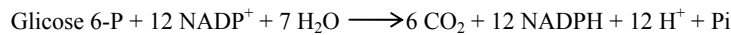
### Desidrogenases – glicose 6-P desidrogenase (G6PD)

Em condições fisiológicas, a G6PD é a enzima limitante da via das fosfopentoses, sendo inibida quando aumenta a relação de concentrações NADPH/NADP<sup>+</sup>. Tem especial importância fisiológica devido à grave anemia que pode resultar da sua deficiência. Na deficiência da G6PD tipo A (défice relativamente moderado), os glóbulos vermelhos oxidam a glicose a um ritmo normal, se a necessidade da NADPH for normal. Quando aumenta a necessidade de oxidação do NADPH, as células são incapazes de aumentar a oxidação da glicose pela via das fosfopentoses. Nesta via participa uma segunda desidrogenase (do 6-fosfogliconato), que contribui para a formação do NADPH. Os glóbulos vermelhos que apresentam deficiência total de G6PD não produzem NADPH suficiente para reduzir o glutatião na forma oxidada (GS-SG), o que as torna mais susceptíveis à hemólise:

### Importância da Via das Fosfopentoses

1. Geração de poder redutor sob a forma de NADPH
2. Conversão de hexoses em pentoses

Quando é requerido mais NADPH do que ribose 5-P, ocorre uma oxidação completa de glicose 6-P em CO<sub>2</sub>:



Se for necessário mais ribose 5-P que NADPH, a glicose 6-P é convertida em frutose 6-P e gliceraldeído 3-P (através da glicólise). Depois, duas moléculas de frutose 6-P e uma molécula de gliceraldeído 3-P são transformadas em três moléculas de ribose 5-P.

A distribuição preferencial da via das fosfopentoses nas células dos respectivos tecidos está dependente das suas funções:

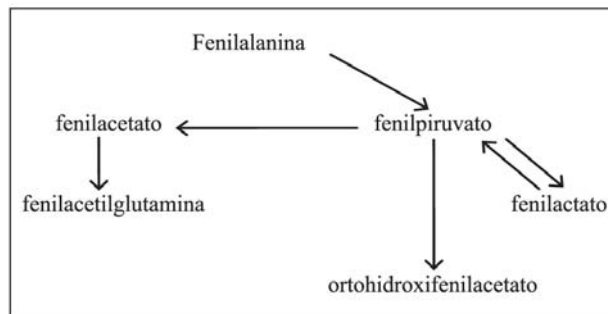
- nos eritrocitos, a produção de NADPH permite a redução do GSSG, o que é essencial para manter a normal composição química e estrutural do glóbulo vermelho;
- no fígado, glândula mamária, testículos e córtex da supra-renal, o NADPH formado destina-se à síntese de ácidos gordos e esteróides.

### “Ciclo” Redox do glutatião

A glutatião redutase NADPH-dependente catalisa a redução do GS-SG em 2GSH. O poder redutor do GSH contribui para o desdobraimento do

peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ), que é potencialmente lesivo para as células.

Nos eritrocitos normais, 70% das moléculas da  $NADP^+$  e 99% das moléculas de glutatião estão no estado reduzido.



**Fig. 2** – Ciclo “redox” do glutatião

Legenda: GR – Glutatião Redutase; GPO – Glutatião Peroxidase.

### Comportamento do Eritrocito Sujeito ao Stress Oxidativo na Malária

Quando submetido a “stress” oxidativo, o eritrocito aumenta a actividade da glicólise e da via das fosfopentoses; por vezes o consumo de glicose atinge cerca de 50-100 vezes o normal.

Nos casos de parasitémia relevante, pode ocorrer hipoglicémia clínica e simulação de coma do paludismo cerebral.

#### Glicólise:

Por acção da desidrogenase láctica, o lactato é transformado em piruvato com conseqüente acumulação deste (considerado um índice significativo da presença de stress oxidativo celular) e aumento da razão  $NADH/NAD^+$ .

#### Via das Fosfopentoses:

Como acima dito, em condições normais a inibição da G6PD pelo NADPH regula esta via. Perante um “stress” oxidativo, uma maior proporção da glicose total (na forma de glicose 6-P) é desviada para esta via metabólica e a enzima hexocinase passa a ser a enzima limitante.

Estudos experimentais têm demonstrado aumento da actividade da via das fosfopentoses em termos absolutos, mas uma diminuição da percentagem do consumo total de glicose durante a infecção por *Plasmodium*. Nas células parasitadas há dez vezes mais  $NADH$  do que nas células não parasitadas, mas a concentração de NADPH não é alterada.

Concluindo, o catabolismo da glicose, para além de produção de energia sob a forma de ATP e formação de lactato, fornece aos glóbulos vermelhos equivalentes redutores na forma de NADH e NADPH e, ainda, GSH, os quais constituem os sistemas anti-oxidantes básicos de defesa dos eritrocitos.

### **Stress Oxidativo e Infecção por *Plasmodium***

- O *Plasmodium* produz radicais livres de oxigénio que alteram o equilíbrio redox do glóbulo vermelho;
- A acção dos radicais livres de oxigénio na inibição do crescimento do *Plasmodium* nas doenças que conferem “resistência inata à malária” – hemoglobinopatias (anemia de células falciformes,  $\alpha$  e  $\beta$  – talassémias, persistência de HbE) e deficiência da glicose 6-P desidrogenase – tem, até ao presente, insuficiente evidência experimental;
- Um grande número de drogas anti-maláricas (como a Primaquina) parece actuar através de mecanismos oxidativos;
- Por outro lado, as drogas que inibem a glutatíon-peroxidase têm efeitos antimaláricos.

### **Drogas oxidantes**

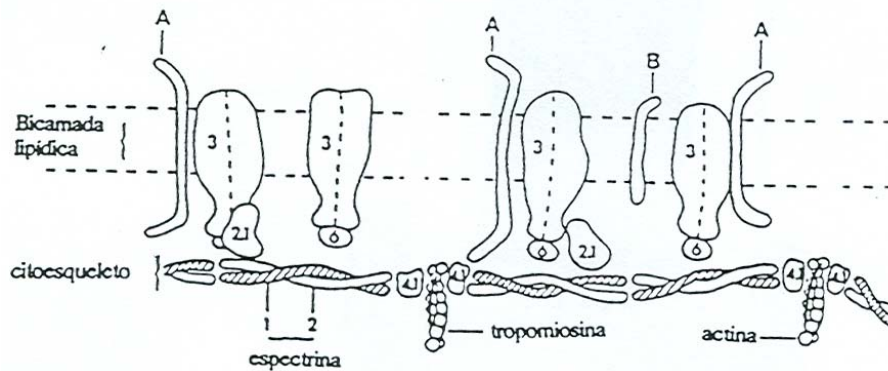
Drogas oxidantes são compostos químicos que, por mecanismos oxidativos, causam hemólise em indivíduos susceptíveis (deficiência de glicose 6-P desidrogenase, deficiência primária de GSH, deficiência primária de glutatíon redutase); são exemplos de oxidantes os seguintes anti-maláricos: Primaquina, Sulfamidas (sulfacetamida) e Quinidina.

## **ALTERAÇÕES DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA MEMBRANA DOS GLÓBULOS VERMELHOS PARASITADOS PELO PLASMÓDIO**

*Yolanda Pinto*

A membrana eritrocitária é representada por uma bicamada lipídica com proteínas integrais (intrínsecas) e periféricas (extrínsecas) nas faces interna e externa membranares. Os fosfolípidos encontram-se distribuídos assimetricamente de um e outro lado da bicamada; o folheto interno tem preferencialmente aminofosfolípidos (fosfatidilserina e fosfatidiletanolamina) enquanto no folheto externo predominam a fosfatidilcolina e a esfingomieli-na. O colesterol está intercalado entre as cadeias alifáticas das moléculas de fosfolípidos. Os ácidos gordos mais comuns, constituintes dos lípidos da membrana, são o palmítico (16:0), o esteárico (18:0), o oleico (18:1), o lino-leico (18:2) e o araquidónico (20:4).

As proteínas extrínsecas da face interna da membrana eritrocitária formam uma rede (citoesqueleto) que cobre toda a superfície interna do glóbulo. Na constituição do citoesqueleto participam as proteínas espectrina (bandas 1 e 2), actina (banda 5), tropomiosina, proteínas 4.1 e 4.9. As proteínas integrais também estão assimetricamente orientadas na bicamada sendo as principais a glicoforina, banda 3 e banda 4.5. A anquirina (banda 2.1) estabelece a ligação da espectrina com a banda 3 (canal aniónico) (Figura 3).



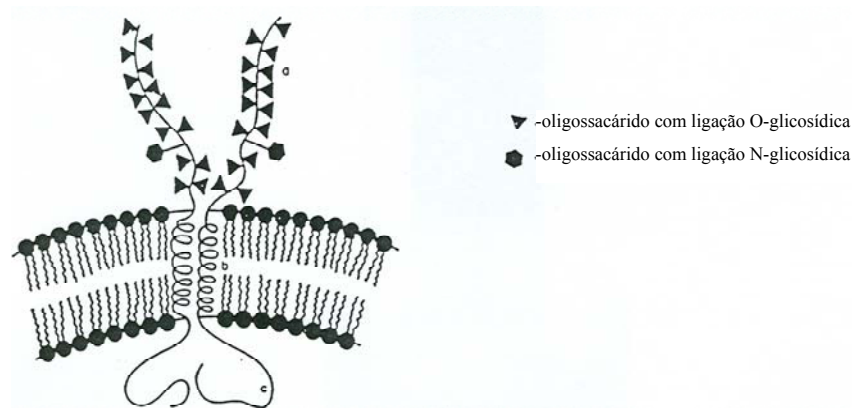
**Fig. 3** – Representação esquemática das principais proteínas integrais e do citoesqueleto da membrana do glóbulo vermelho.

Legenda: Os números e as letras referem-se a proteínas (A – glicoforina A; B – glicoforina B; 1 – banda 1; 2 – banda 2; 3 – banda 3; 4.1 – banda 4.1; 6- banda 6;- 2.1 – banda 2.1 ≡ anquirina) (adaptado de L.H. Bannister e A.R. Dluzewski. Blood Cells 1990; 16:257)

A glicoforina A tem cerca de 131 resíduos de aminoácidos e não apresenta nenhuma ligação bissulfito; contém 15 ligações O-glicosídicas (resíduos de serina ou treonina) e uma N-glicosídica (resíduo de asparagina). Esta proteína (Figura 4) apresenta três domínios:

- i) o segmento (a) (72 resíduos) que contém a extremidade amina exposta para a superfície celular onde se situam todos os glicídios presentes;
- ii) o segmento intermédio (b) (19 resíduos hidrofóbicos) que atravessa a membrana eritrocitária;
- iii) o segmento (c) (40 resíduos com predomínio de aminoácidos ácidos e prolina) que contém a extremidade carboxílica, localizada na face citoplasmática.

A glicoforina B apresenta uma composição idêntica à glicoforina A, não possuindo o oligossacárido ligado por ligação N-glicosídica.



**Fig. 4** – Representação esquemática da glicoforina A na bicamada lipídica. (S. Tayyab e M.A. Qasim. *Biochem. Educ.* 1988; 16:63)

Legenda: ▼ oligossacárido com ligação O-glicosídica; ● oligossacárido com ligação N-glicosídica

A invasão dos glóbulos vermelhos pelo plasmódio (merozoítos) inicia uma sequência de etapas complexas que dependem da interação entre moléculas de constituição proteica, existentes na superfície dos merozoítos e receptores específicos da membrana globular. Existem receptores específicos para diferentes espécies de plasmódio (P.); a glicoforina é o principal receptor para a *P. falciparum*.

A ligação inicial do merozoíto ao glóbulo vermelho reflecte uma interação específica a um grupo de oligossacáridos (15 O-glicosídicas) presentes na glicoforina A ou B (ou em ambas). Foram identificadas quatro proteínas do *P. falciparum* (uma de 210 KD, duas de 140 KD, uma de 75 KD e outra de 35 KD) como ligandos da glicoforina; três delas (140 KD, 75 KD e 35 KD) ligam-se ao resíduo N-acetil-D-glicosamina.

A invasão dos glóbulos vermelhos pelo plasmódio origina modificações na composição da membrana, as alterações que a seguir se descrevem ocorrem na segunda fase do ciclo, quando o parasita está no estágio tardio (trofozoítos ou esquizontes maduros). Após a infecção pelo plasmódio, o conteúdo lipídico no eritrocito aumenta, observando-se aumento dos fosfolípidos totais, lípidos neutros, diacilgliceróis e triacilgliceróis.

O conteúdo total de ácidos gordos poliinsaturados (PUFA) nos fosfolípidos membranares dos glóbulos vermelhos não infectados (39,4%) é muito superior ao dos glóbulos infectados (23,9%). Como resultado da infecção ocorre aumento da percentagem dos ácidos palmítico (16:0) e oleico (18:1) e diminuição do linoleico (18:2) e araquidónico (20:4) (Tabela I). A composição em ácidos gordos das membranas dos eritrocitos infectados é muito semelhante à das membranas mitocondriais do parasita. Estes resultados indicam modificação significativa da composição fosfolipídica da célula hospedeira pelo parasita intracelular.



As membranas dos glóbulos vermelhos infectados contêm mais fosfatidilcolina, fosfatidilinositol e lisofosfatidilcolina e menos esfingomiéline do que as dos eritrócitos não infectados (Tabela II). A infecção dos glóbulos pelo *P.falciparum* causa modificações no conteúdo e composição fosfolipídicos; esta variação na composição química é acompanhada por modificações estruturais nas cadeias hidrocarbonadas dos fosfolípidos.

Tendo em conta apenas esta alteração seria de esperar uma menor fluidez da membrana. Contudo, a integridade da membrana do eritrócito é mantida por alterações compensatórias, tais como redução (cerca de metade) da esfingomiéline e da razão colesterol/fosfolípidos. A esfingomiéline tem a capacidade de se associar por pontes de hidrogénio intermoleculares, estabilizando as membranas.

**Tabela I** – Composição lipídica membrana em ácidos gordos dos fosfolípidos totais de eritrócitos humanos não infectados, infectados com *P.falciparum* e de parasita (extracto de mitocôndrias), (Li Li Hsiao e col., Biochem. J. 1991; 274:121).

Ácido gordo	Composição (%)		
	glóbulo vermelho não infectado	glóbulo vermelho infectado	parasita (extracto de mitocôndrias)
Palmitico (16:0)	22,7±4,4	31,2±0,1	32,3±0,7
Esteárico (18:0)	14,2±1,3	13,9±0,6	13,3±3,0
Oleico (18:1)	14,2±0,4	24,6±1,7	24,8±1,7
Linoleico (18:2)	12,7±0,8	10,1±1,0	12,3±0,6
Araquidónico (20:4)	16,9±1,9	8,0±0,2	6,2±1,1
PUFA (%)	39,4	23,9	23,3

Legenda: PUFA (ácidos gordos poliinsaturados)

A diminuição da esfingomiéline no glóbulo infectado vai desorganizar a membrana. Ainda não está esclarecido se este fosfolípido é degradado por enzimas do parasita ou se é selectivamente libertado da membrana eritrocitária.

O aumento dos ácidos octadecanóicos na membrana do glóbulo vermelho parasitado poderá, paralelamente ao baixo teor em colesterol, modificar a fluidez da bicamada. Como consequência existem modificações da interacção dos fosfolípidos com o citoesqueleto da membrana, assim como uma alteração conformacional das proteínas de membrana, podendo modificar o transporte e as propriedades enzimáticas, osmóticas e imunológicas da célula hospedeira.

**Tabela II** – Composição fosfolípídica membranas de eritrócitos humanos não infectados, infectados com *P.falciparum* e de parasita (extracto de mitocôndria) (Li Li Hsiao e col., *Biochem. J.* 1991; 274:121).

Fosfolípido	Composição fosfolípídica(%)		
	glóbulo vermelho não infectado	glóbulo vermelho Infectado	parasita (extracto de mitocôndrias)
PC	37,1±2,1	38,7±3,2	56,7±2,0
PE	27,1±2,3	25,0±3,3	26,8±2,1
SM	28,0±1,2	14,6±2,6	5,7±1,4
PS	11,7±0,4	9,2±3,1	4,0±1,0
PI	0,8±0,4	2,1±0,9	2,7±0,6
PA	1,4±0,5	1,6±0,7	<0,1
Cardionatrina	0,0	0,0	5,5±0,5
Liso-PC	0,8±0,4	1,5±0,9	<0,1

Legenda: PC – (fosfatidilcolina); PE – (fosfatidiletanolamina, SM – (esfingomielina), PI – (fosfatidilinositol), PA (ácido fosfatídico)

Foram encontradas também alterações dos constituintes proteicos da membrana (diminuição da espectrina e da banda 4.1) em glóbulos vermelhos infectados. Por acção de proteases do plasmódio e de fosfolipases libertadas intracelularmente, algumas das proteínas da face interna (espectrina e actina), assim como proteínas que atravessam a membrana, podem ser clivadas, alterando a organização do citoesqueleto eritrocitário. Também proteínas específicas do parasita podem ser introduzidas (neoproteínas) além da degradação das proteínas da membrana eritrocitária. As neoproteínas podem modificar a antigenicidade dos eritrócitos injectados e afectar a função dos mesmos. O movimento e a inserção de tais proteínas continua por esclarecer.

## ALTERAÇÕES DA HEMOGLOBINA E DA PERMEABILIDADE ERI-TROCITÁRIA NA MALÁRIA

*Manuela Nunes*

### Hemoglobina

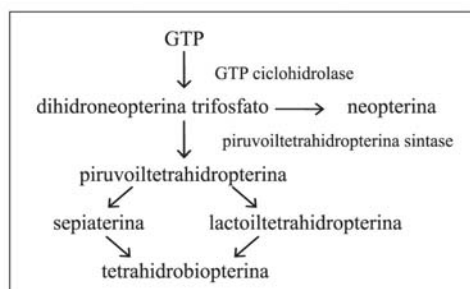
A função fisiológica desempenhada pela hemoglobina depende das características estruturais da molécula e do estado de oxidação-redução do seu grupo heme.

Os eritrócitos estão constantemente em contacto com oxigénio molecular e como tal, mesmo em condições fisiológicas, estará sempre presente uma percentagem (cerca de 3%) de hemoglobina cujo ferro do grupo heme está oxidado em  $Fe^{3+}$  (metahemoglobina).

O glóbulo vermelho dispõe de mecanismos de defesa anti-oxidante, do qual se destaca a acção da metahemoglobina redutase. Esta via de redução da

hemoglobina necessita de potencial fornecido por nucleótidos adenílicos e flavínicos (Fig. 5).

A depleção metabólica global e conseqüente diminuição de ATP comprometem a formação de intermediários dos sistemas enzimáticos anti-oxidantes.

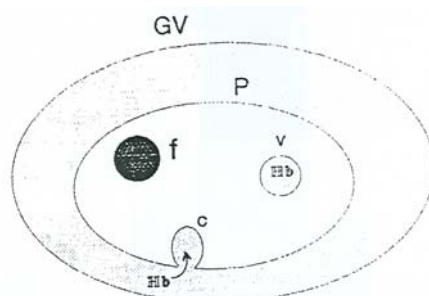


**Fig. 5** – Esquema do conjunto de reacções envolvidas na redução da metahemoglobina por meio da metahemoglobina redutase.

Em glóbulos vermelhos parasitados com plasmódio na fase assexuada do ciclo de desenvolvimento (estadio de trofozoíto), verifica-se aumento da concentração de metahemoglobina, antecedendo a digestão intraparasitária desta proteína.

Na fase de desenvolvimento intraeritrocitário (trofozoíto), correspondente a aumento do metabolismo do parasita, a hemoglobina constitui uma fonte de aminoácidos, pelo que é promovida a sua degradação.

A digestão da hemoglobina constitui uma via metabólica intraparasitária iniciada por uma protease aspártica. Neste processo, após a ingestão de hemoglobina por endocitose da membrana do parasita (formação de citostoma), segue-se a degradação em vacúolos digestivos (fagossoma) (Fig.6).



**Fig. 6** – Representação esquemática do processo conducente à degradação da hemoglobina em eritrocitos parasitados com plasmódio.

Legenda: GV – glóbulo vermelho, P – parasita, c – citostoma (formado por endocitose), v – vesícula com hemoglobina, f – fagossoma (vacúolo digestivo), Hb- hemoglobina. (adaptado de fotomicrografia, D.E. Goldberg et all. Proc. Natl. Acad. Sci. 1990; 87:2931-2935).

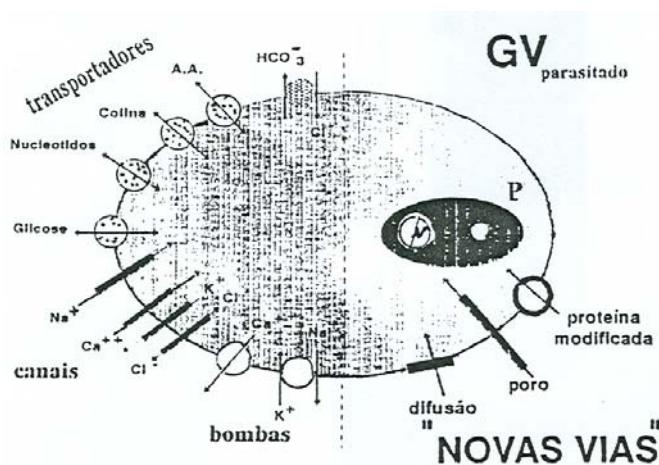
A proteólise da hemoglobina, indispensável à obtenção de nutrientes para o metabolismo do plasmódio, é um processo específico e eficiente, pelo que se pensa que os vacúolos envolvidos no processo são estruturas que têm como objectivo primário a degradação da hemoglobina. Como resultado surgem no interior dos vacúolos digestivos partículas cristalinas formadas por associação de grupos heme, que tomam a designação de hemozoína.

### Permeabilidade eritrocitária

A permeabilidade eritrocitária é em parte determinada pela constituição estrutural da membrana. As diferenças de concentração entre o meio interno e externo são mantidas por permeabilidade selectiva da membrana a moléculas e iões.

As alterações na permeabilidade da membrana induzem desequilíbrio iónico que, ao influenciar a osmolalidade intraglobular, contribuem para o processo hemolítico. A hemólise é caracterizada por perda da integridade estrutural da membrana, ruptura do eritrócito e saída para o meio do conteúdo intraglobular.

O fluxo de moléculas e iões entre o meio intra e extraglobular é mediado por proteínas de membrana. Estes movimentos processam-se por mecanismos que podem requerer ou não gasto de energia. Nas situações em que não ocorre consumo directo de energia referimo-nos a transportadores, quando ocorre gasto energético designam-se por bombas. Ocorre também passagem de iões positivos através de estruturas em canal sem dispêndio de energia e sempre a favor do gradiente de concentração (Fig. 7).



**Fig. 7** – Representação esquemática das principais vias de transporte de moléculas e iões em glóbulos vermelhos normais. Representação de “novas vias” de permeabilização induzidas nos eritrócitos por parasitação com plasmódios. (adaptado de Z. L.Cabantchik. Blood. 1989; 74:1464-1471).

Nos glóbulos vermelhos parasitados pelos trofozoítos, no início do ciclo de reprodução assexuada, verificam-se alterações na permeabilidade da membrana como resultado da actividade metabólica do parasita. Esta situação relaciona-se com necessidades em nutrientes e com o aumento de produtos de excreção resultantes do metabolismo.

O aumento da capacidade de transporte da membrana em eritrocitos parasitados, quer qualitativa quer quantitativamente, regista-se para aminoácidos essenciais, glicose, purinas, lactato, ferro e outros metais, e iões (tais como  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{++}$ ).

As modificações da permeabilidade dos eritrocitos portadores de plasmódios têm sido explicadas por “novas vias” de permeabilização, ou por alterações nos mecanismos de transporte existentes (Fig. 7). O aumento da capacidade de permeabilização aos aniões e substâncias electrolíticas parece associado à indução de passagens do tipo “poro” menos específicas e distintas da banda 3. Esta via consistiria num “poro” estreito (diâmetro aparente de 0,7nm), carregado positivamente, com carácter hidrofílico, não permitindo a passagem de catiões.

Ao desenvolvimento intra-eritrocitário do plasmódio corresponde um aumento da permeabilidade da membrana, pelo que foi sugerido por alguns autores que as “novas vias” sejam o resultado da inserção na membrana globular de polipéptidos sintetizados pelo parasita (Fig. 7).

Além do mecanismo já proposto para o aumento da permeabilidade têm sido consideradas as seguintes hipóteses:

- Criação de uma interface lípido-proteína que permitiria a passagem de compostos com carácter hidrofóbico;
- Modificações estruturais quer nas proteínas transportadoras quer nos lípidos circundantes, com indução de alterações no transporte.

A depleção metabólica que se verifica nos eritrocitos tem como consequência a alteração no conteúdo iónico intraglobular. Estes glóbulos vermelhos apresentam aumento da concentração intraglobular de  $Na^+$  e de  $Ca^{++}$ , associado ao mau funcionamento, respectivamente, da bomba de  $Na^+/K^+$  e da bomba de  $Ca^{++}$ , por carência em ATP.

A presença de iões cálcio em excesso (cerca de 10× o teor normal) nos eritrocitos parasitados conduz a modificações químicas e estruturais no citoesqueleto, que terão como consequência alterações na elasticidade da membrana.

A membrana dos glóbulos vermelhos regula, por meio de uma permeabilidade selectiva, a homeostasia do meio intraglobular conducente ao desempenho das funções fisiológicas do eritrocito. As alterações da permeabilidade que contribuem para a perda de deformabilidade eritrocitária conduzem à remoção da circulação destes eritrocitos.

As anomalias de deformabilidade eritrocitária iniciam-se logo após a parasitação e parecem aumentar durante a fase de desenvolvimento assexuado intraglobular. As modificações que têm sido descritas como contribuindo para a perda de funcionalidade dos eritrocitos resultam da diminuição da viscoelasticidade da membrana eritrocitária, da diminuição relação área/volume e da depleção metabólica globular interna resultante do metabolismo do parasita.

A par da remoção da circulação de glóbulos parasitados ocorre hemólise intravascular, após a conclusão do ciclo assexuado (produção de gametócitos), que se caracteriza por saída de merozoítos e ruptura dos glóbulos parasitados.

## **MALÁRIA – ALTERAÇÕES HEMORREOLÓGICAS**

*Carlos Santos Moreira*

Após a invasão dos glóbulos e durante a sua maturação intraglobular o parasita vai provocar múltiplas alterações estruturais e funcionais. Apenas serão abordadas as implicações hemorreológicas, que as alterações atrás citadas originam.

Resumidamente as alterações hemorreológicas dividem-se em três tipos:

- Perda da deformabilidade eritrocitária;
- Aumento da adesividade do glóbulo vermelho ao endotélio;
- Capacidade de formação de rosetas (agrupamento pluricelulares).

### **Perda da Deformabilidade Eritrocitária**

Os doentes infectados sofrem complicações isquémicas, particularmente aqueles com a forma de malária cerebral, causa “major” de mortalidade da doença. Pensa-se que o principal factor responsável pela sequestração do parasita e oclusão microvascular seja a aderência ao endotélio vascular. Contudo, as alterações da deformabilidade devem igualmente contribuir para esta entidade nosológica.

Após a invasão e durante a maturação do *P.falciparum* manifesta-se, progressivamente, diminuição da deformabilidade eritrocitária. Esta alteração depende de vários factores, nomeadamente: modificações da viscoelasticidade da membrana, da relação superfície/volume celular e do ambiente intracelular (quer as propriedades do parasita, quer a sua fixação à membrana eritrocitária).

A diminuição da deformabilidade eritrocitária pode também ser motivada pelo rearranjo de proteínas do citoesqueleto, envolvendo a espectrina.

### **Aumento da Adesividade do Glóbulo Vermelho ao Endotélio**

A aderência do eritrócito infectado ao endotélio vascular desempenha uma função importante na patogenia da doença. A citoaderência dos glóbulos infectados nas vénulas pós-capilares vai promover a sobrevivência do parasita, impedindo a sua passagem pelo baço e ao ocluir vasos a nível cerebral, está na génese da malária cerebral.

Foi demonstrado que o anticorpo M OKM5 (sintetizado “in vitro”) inibe a aderência dos glóbulos infectados ao endotélio. Este anticorpo reage com células endoteliais, monocitos e plaquetas, identificando uma glicoproteína de 88 KD (CD36) na membrana dessas células. Assim, as glicoproteínas parecem intervir na aderência do eritrócito infectado. A trombosporina, uma glicoproteína solúvel envolvida em numerosas interações intercelulares e sintetizada pelas células endoteliais, pode ser o elemento central do processo, fixando-se por um lado à glicoproteína CD36 e pelo outro ao eritrócito infectado (num ligando induzido pelo parasita).

A indução da expressão da molécula CD36 pelas células do endotélio vascular do cérebro associada à infecção pela malária, com subsequente sequestração dos glóbulos infectados, poderia contribuir para explicar a malária cerebral.

### **Capacidade de Formação de Rosetas**

A formação de rosetas envolve a aderência de membranas de eritrócitos infectados às de eritrócitos não infectados, sendo inibida por moléculas de IgG provenientes de dadores imunes ao *P. falciparum*. Igualmente é inibida pela heparina, que impede a reinvasão dos eritrócitos pelos merozoítos, não estando contudo provada a relação entre a formação de rosetas e a invasão do eritrócito pelo plasmódio.

Nos doentes com malária cerebral foi demonstrada a formação de rosetas; o plasma destes doentes não tem geralmente actividade anti-roseta. Em contraste, nos doentes com formas de malária mais ligeiras foi demonstrada aquela actividade do plasma. Quando se fraccionavam os plasmas de doentes pouco graves, a actividade anti-roseta estava associada à fracção imunoglobulínica do plasma, sugerindo a intervenção de anticorpos.

A formação de rosetas poderá estar incluída na génese da malária cerebral, podendo os anticorpos anti-roseta modificar a evolução natural da doença.

## INVASÃO DOS GLÓBULOS VERMELHOS PELO PARASITA DA MALÁRIA

*Rosa Estrela S. Inácio*

A invasão dos glóbulos vermelhos pelos merozoítos constitui a etapa inicial do desenvolvimento do ciclo eritrocitário do parasita da malária.

O processo de invasão é rápido (cerca de 20 segundos) mas complexo, envolvendo várias etapas:

- Ligação do merozoíto à membrana do glóbulo vermelho (GV);
- Orientação da merozoíto ligado de modo que a sua extremidade apical se oponha à membrana do GV;
- Formação de uma junção entre o merozoíto e o GV;
- Invaginação da membrana da GV à volta da ligação do merozoíto para formar um vacúolo dentro do GV;
- Encerramento das membranas do GV e do vacúolo depois de completada a invasão.

Foram descritos à superfície do merozoíto longos filamentos com 20 nm em forma de Y e T, que podem ser o modo de ligação inicial. Os merozoítos podem aderir por qualquer parte da superfície ao GV mas, para que a entrada ocorra, é essencial a orientação e ligação pelo pólo apical que contém microorganitos: anel apical, micronemas e “roptries”.

Vários dados indicam que o processo de invasão requer interações específicas entre o merozoíto e receptores de membrana do eritrócito.

Os eritrócitos sem determinantes para o grupo sanguíneo Duffy são invulneráveis à infecção pelo *P. vivax*. A resistência natural a esta infecção entre os negros da África Ocidental está relacionada com a alta-frequência do fenotipo Duffy (-) que parece ser uma adaptação genética altamente específica. Esta hipótese implica que a selecção pelo *P. vivax*, uma doença que causa baixa morbilidade e mortalidade, tenha sido muito forte naquela região, o que reforça a ocorrência de alterações evolutivas a nível da GV e do parasita.

Quanto à invasão do eritrócito pelo *P. falciparum*, os estudos revelaram:

- Os receptores da GV parecem ser as glicoforinas A e B;
- Duas proteínas de superfície do merozoíto medeiam a ligação ao GV;
- Foi isolado e caracterizado um gene para aquelas proteínas;
- A banda 3 da membrana de GV parece ter uma interacção de alta afinidade a componentes de superfície do merozoíto.

As zonas da membrana do eritrócito às quais o parasita se une tornam-se espessas. O microscópio electrónico revela que um produto dos organitos apicais liga a extremidade do merozoíto ao GV.



Desenvolve-se uma invaginação localizada da membrana do GV para a qual também contribuem produtos dos organitos do parasita e onde a densidade das partículas intramembrana diminui. Forma-se o vacúolo parasitóforo que engloba o merozoíto e a membrana do eritrócito funde-se no ponto de entrada.

Há uma relação importante entre a susceptibilidade do GV e a sua idade metabólica.

O *P. vivax* e o *P. ovale* têm predilecção pelas células jovens enquanto o *P. malariae* diz-se invadir só células maduras. Investigação de infecções agudas *in vivo* e culturas *in vitro* mostraram que a invasão do *P. falciparum* era maior nos eritrocitos mais jovens do que nos mais velhos.

Há pelo menos 3 possíveis explicações para susceptibilidade das células mais jovens:

- maior densidade de receptores;
- aumento da actividade metabólica;
- maior deformabilidade.

### **Malária e Alterações Genéticas dos Glóbulos Vermelhos**

O GV é o alvo principal do parasita, porque:

- constitui uma fonte rica de nutrientes;
- é um tecido rapidamente renovável;
- é facilmente acessível ao mosquito;
- é um meio intracelular que pode ajudar o parasita a proteger-se da resposta imune do hospedeiro.

O parasita da malária, principalmente o *P. falciparum*, é responsável por uma doença com morbilidade e mortalidade extremamente altas; como consequência, representa um poderoso agente selectivo na população humana. São conhecidos factores globulares que conferem resistência à parasitose, com destaque para os seguintes:

#### Hemoglobina S

Estudos epidemiológicos e clínicos sugerem que indivíduos com traço falciforme (AS) infectam-se com *P. falciparum* mas poucos morrem da infecção, comparativamente a indivíduos com hemoglobina normal (AA).

O gene que codifica a hemoglobina S (Hb-S) é o exemplo clássico de polimorfismo equilibrado, isto é, da persistência de um gene potencialmente letal numa dada população.

A velocidade de falciformação dos eritrócitos AS parasitados e desoxigenados é superior à dos não parasitados. A destruição acelerada dos eritrócitos parasitados é provavelmente um dos mecanismos pelos quais os portadores AS têm protecção contra o *P. falciparum*.

As células parasitadas AS que sobrevivem durante a fase de trofozoíto podem estar comprometidas na esquizogonia vascular profunda. Aqui os eritrócitos parasitados aderem às superfícies endoteliais das vénulas através de excrecências na membrana, induzidas pelo parasita, e aquelas tornam-se parcial ou totalmente obstruídas levando à hipóxia e à diminuição da pH sanguíneo. Tais condições favorecem a falciformação e comprometem a maturação do parasita.

A baixa concentração de  $K^+$  intracelular induzida pela falciformação pode ser determinante para o crescimento do parasita. Uma concomitante perda de água pode aumentar a CMHG e acentuar a polimerização de Hb S. A Hb S polimerizada parece ser um mau substrato para as proteases do parasita e pode interferir com algumas das suas funções.

### Hemoglobina C

Há uma diminuição acentuada do crescimento do *P. falciparum* nas células CC devida, por um lado, à cristalização desta hemoglobina em meio hiperosmolar e, por outro, à incapacidade de se completar a esquizogonia com libertação dos merozoítos. Este facto pode estar relacionado com o aumento da resistência osmótica daquelas células.

### Hemoglobina E

Há atraso de crescimento do parasita tanto nas células EE como nas AE, embora sendo mais marcado nas primeiras.

Sendo a Hb E um tanto instável pode induzir lesão oxidativa dos parasitas por formação de radicais livres.

Têm sido verificados níveis significativamente mais altos de anticorpos antimalária e baixa parasitémia em portadores de Hb E, quando comparados com indivíduos normais nas mesmas áreas. Os eritrócitos AE e EE parasitados são fagocitados mais rapidamente do que os normais infectados.

### Hemoglobina F

O crescimento do parasita está atrasado na presença de Hb F. Todas as células que contêm Hb F são sensíveis ao stress oxidativo, o que pode lesar o parasita.

A possibilidade de protecção da Hb F tem numerosas aplicações:

- contribuição para a baixa frequência de malária durante os 6 primeiros meses de vida;
- pode proteger os heterozigóticos para muitas hemoglobinopatias, particularmente a talassémia, em que há atraso na diminuição de Hb F durante os 2 primeiros anos de vida quando a mortalidade pela malária é mais alta;
- pode explicar a prevalência da PHHF nas áreas de malária.

### Talassémias

Os estudos têm levado a várias teorias no que respeita ao modo como a deficiência da produção de globina nos eritrócitos da talassémia podem atrasar o crescimento do parasita:

- deficiência de Fe intraeritrocitário;
- interacção de deficiências nutricionais;
- aumento da susceptibilidade ao “stress” oxidativo;
- aumento da vulnerabilidade à lesão mediada pelas células (fagocitose);
- aumento e persistência de Hb F na infância;
- baixo conteúdo de hemoglobina

### Deficiência de glicose-6-fosfato-desidrogenase

O stress oxidativo é a hipótese principal para os mecanismos de resistência dependentes da deficiência de glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD). O parasita depende do NADPH da célula hospedeira para cofactor da sua glutatíon redutase.

Os parasitas parecem adaptar-se e normalizarem o seu crescimento depois de 4 a 5 ciclos nas células deficientes.

A hipótese de as mulheres heterozigóticas para a deficiência de G6PD, particularmente do genótipo  $Gd^B / Gd^A$ , estarem protegidas das infecções letais da malária tem sido baseada nos conhecimentos da G6PD codificada pelo parasita. Assim, os parasitas podem invadir eritrócitos  $Gd$  normais ou  $Gd^A$  durante ciclos sucessivos, sendo o estímulo para o parasita se adaptar formas deficientes de G6PD estaria significativamente atenuado.

Os homens hemizigóticos, completamente deficientes em G6PD, podem ter uma pequena vantagem, talvez significativa. O atraso do crescimento do parasita durante 3 a 5 ciclos (6 a 10 dias), para a adaptação através da activação do gene da G6PD, pode diminuir a mortalidade e a morbilidade.

O estudo da resistência hereditária do GV à malária tem aumentado os conhecimentos da bioquímica e fisiologia da interacção hospedeiro-parasita e sugerido locais potenciais para intervenção terapêutica.

## **MALÁRIA: DIAGNÓSTICO LABORATORIAL**

*J. Melo Cristino*

O diagnóstico laboratorial da malária faz-se essencialmente pela pesquisa do parasita no sangue periférico, por exame directo. Utilizam-se duas técnicas: gota espessa e esfregaço.

A gota espessa é uma técnica de concentração que facilita a pesquisa do parasita, mas habitualmente não permite fazer o diagnóstico de espécie. Os

eritrocitos são previamente hemolisados para permitir a observação das formas parasitárias.

O esfregaço possibilita a observação das formas parasitárias e das alterações eritrocitárias concomitantes. Os eritrócitos permanecem intactos, o que permite fazer a identificação da espécie de *Plasmodium* responsável pela doença.

Na observação do esfregaço devem ser consideradas as características dos eritrócitos parasitados (dimensão, forma e presença de granulações), dos parasitas (trofozoíto ou forma em anel, esquizonte ou rosácea e gametócitos masculinos e feminino) e a densidade do parasitismo.

Na infecção por *P. malariae* os eritrócitos não apresentam alterações ou estão ligeiramente diminuídos de volume. A densidade do parasitismo é baixa. O trofozoíto tem núcleo e citoplasma alongados, por vezes adquirindo uma forma em faixa característica. O esquizonte maduro apresenta uma rosácea típica com 6 a 8 merozoítos na periferia e com o pigmento malárico no centro. Os gametócitos ocupam a maioria do glóbulo. Têm um núcleo grande e observa-se pigmento malárico em volta ou sobre o núcleo.

Na infecção por *P. vivax* observa-se aumento de volume dos eritrócitos, que contêm granulações de Schuffner. A densidade do parasitismo é média. Os trofozoítos têm formas em anel irregulares, por vezes amibóides. Os esquizontes maduros apresentam uma rosácea com cerca de 16 merozoítos. Os gametócitos ocupam a totalidade do eritrocito, têm um núcleo grande, citoplasma irregular e observa-se pigmento malárico no interior.

Na infecção por *P. ovale* os eritrócitos estão ligeiramente aumentados de volume, alongados (em oval) e por vezes franjados numa ou nas duas extremidades. Contêm granulações de Schuffner. A densidade do parasitismo é média ou baixa. Os trofozoítos não têm características especiais, os esquizontes maduros apresentam rosáceas com 8 a 10 merozoítos e os gametócitos ocupam a totalidade do glóbulo.

Na infecção por *P. falciparum* os eritrócitos não apresentam alterações significativas. A densidade do parasitismo é elevada, observando-se frequentemente poliparasitismo (dois ou mais parasitas dentro do mesmo eritrócito). O trofozoíto tem forma em anel fino, muito bem desenhado. Os esquizontes não se observam no sangue periférico. Os gametócitos têm forma típica, em banana ou salsicha, deformando o eritrócito.

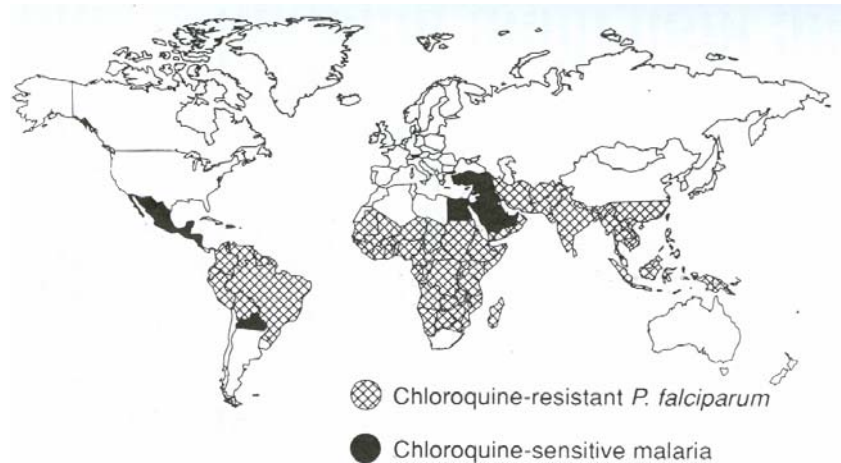
## **MALÁRIA. EPIDEMIOLOGIA E CLÍNICA**

*Francisco Antunes*

### **Epidemiologia**

A malária constitui, ainda hoje, a doença parasitária mais importante em todo o mundo. Nos anos mais recentes tem-se verificado um aumento significativo do número de casos no Sudeste Asiático e na América Central. Em

África a situação tem-se mantido estável. O número de casos reportados à OMS tem vindo a aumentar e está, certamente, subestimado. Actualmente vivem centenas de milhões de indivíduos em áreas endémicas de malária (Fig. 8), estimando-se que em 1986 o número de casos de paludismo tenha atingido os 500 milhões, dos quais cerca de 250 milhões causados pelo *P.falciparum*. Dado que a mortalidade é de, pelo menos, 1% na malária por *P.falciparum*, o número de mortes, naquele ano, deve ter rondado os 2,5 milhões, dos quais 1 milhão na África tropical.



**Fig. 8** – Áreas e países de *Plasmodium falciparum* cloroquino-resistente, Dezembro 1992 (fonte O.M.S.)

Na Europa, onde a malária foi considerada erradicada em 1975 (o último foco de malária autóctone foi extinto nesse ano na Grécia), são declarados regularmente casos de “malária importada”, o mesmo acontecendo na Austrália e nos EUA. Além disso, casos de transmissão de malária fora do comum, em indivíduos que não viajaram para fora da Europa, ocorreram na Inglaterra, Bélgica, França, Holanda e Suíça. Tal facto é devido ao transporte, nos aviões, de mosquitos provenientes de áreas de malária endémica. Por outro lado, registaram-se ainda os casos de malária acidental em trabalhadores de saúde que se picaram com agulhas utilizadas em doentes infestados com plasmódios. Em Portugal, em 1985 foi de 85 o número de casos de malária. Em regiões não endémicas continuam a verificar-se mortes “indevidas” por malária, dado que alguns médicos se recusam a aceitar a importância que tem para a clínica a história geográfica, ou ignoram-na quando é necessária; assim, num doente com febre (e/ou em coma) é mandatória a colheita de dados epidemiológicos, e confirmando-se a permanência em área endémica de malária é obrigatória a pesquisa de plasmódios no sangue periférico, ou dar ao doente o benefício da dúvida e instituir terapêutica antimalárica “presuntiva”.

No Serviço de Doenças Infecciosas do Hospital de Santa Maria foram diagnosticados e tratados, de 1977 a 1986, 65 doentes com malária, com 1 caso mortal.

Um dos problemas mais graves que se coloca em relação à malária é a ocorrência de resistência aos antimaláricos em geral, e à cloroquina em particular. Este fenómeno que se regista para qualquer das espécies de plasmódios humanos, mas em especial para o *P. falciparum*, verificou-se pela primeira vez no Sudoeste Asiático, estendeu-se à Índia, à América do Sul e atingiu a África, coincidindo com a área de distribuição desta espécie de plasmódio (Fig. 9).

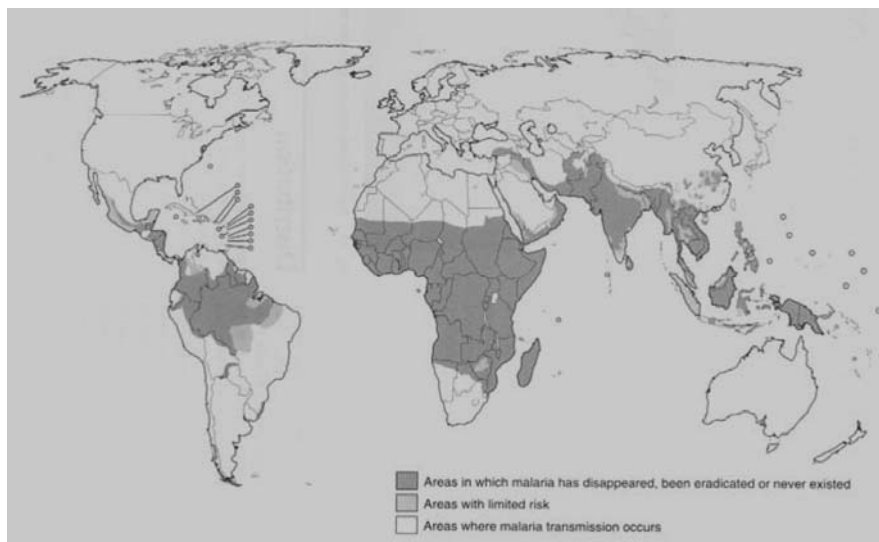


Fig. 9 – Distribuição geográfica da malária, 1982 (fonte O.M.S.)

### Distribuição das Espécies de Plasmódios

Cerca de 50% dos casos de malária são devidos ao *P. falciparum*, um pouco menos causados pelo *P. vivax* (45%), sendo de cerca de 5% por *P. malariae* e de <1% pelo *P. ovale*. A malária pelo *P. falciparum* distribuiu-se uniformemente por toda a região tropical, o mesmo acontecendo à malária pelo *P. vivax*, com excepção da costa ocidental de África onde não se encontra nas populações autóctones de raça negra (ausência do factor Duffy). A malária por *P. malariae* (idêntico ao *P. rodhaini* dos chimpanzés), tem uma distribuição “salpicada”, podendo no continente africano considerar-se como uma zoonose, mas também se encontra noutras regiões tropicais, o mesmo acontecendo com o *P. ovale*.

## Transmissão

### *Mecanismos naturais*

A transmissão processa-se pela picada do mosquito *Anopheles*, sendo habitualmente a fonte de infecção o homem (constitui provável exceção a malária por *P.malariae*), tendo no seu sangue gametócitos maduros em quantidade e proporção adequadas (4 gametócitos fêmeas/1 gametócito macho). Os transmissores são *Anopheles*, cujas características mais importantes em relação à capacidade vectorial são a susceptibilidade à infecção, a antropofilia, a longevidade e a sua densidade. A população susceptível é constituída por todos os indivíduos expostos ao vector e residentes em regiões endémicas, constituindo excepção os indivíduos Duffy negativos (resistentes à infecção pelo *P.vivax*) e aqueles com traços falciformes (resistentes à infecção pelo *P.falciparum*).

### Mecanismos ocasionais

Os mecanismos ocasionais de transmissão incluem todos aqueles que não se processam pela picada do *Anopheles*. Assim, são incluídos neste grupo as seguintes formas de transmissão:

- a) Transfusional. Na malária transfusional não há recaídas, visto que são injectadas na circulação as formas eritrocitárias do ciclo esquizogónico dos plasmódios, que não invadem o fígado;
- b) Congénita. A malária congénita tem maior probabilidade de ocorrer em áreas de menor endemicidade, visto que os anticorpos maternos acabam por ter uma acção protectora no recém-nascido em áreas de maior endemicidade;
- c) Outras. Nestas incluem-se a malária accidental nos toxicodependentes e nos trabalhadores de saúde, e a malarioterapia que foi utilizada no tratamento da sífilis do SNC (antes do advento da penicilina) e, ainda, nos indivíduos que se expõem a estudos experimentais.

## Clínica

O período de incubação é variável, dependendo da espécie do plasmódio e do estado imunitário do hospedeiro:

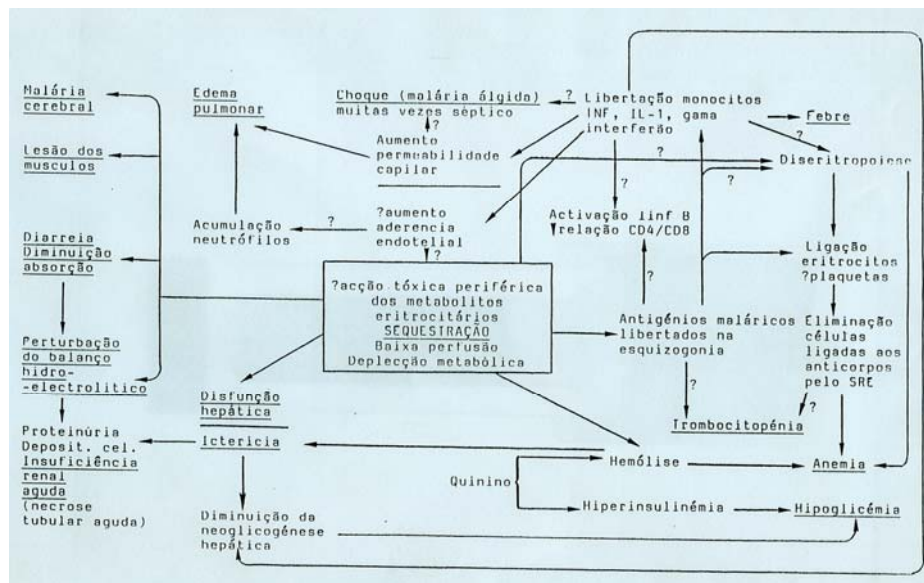
<i>P.falciparum</i>	–	8-15 dias
<i>P.vivax</i>	–	10-15 dias
<i>P.ovale</i>	–	11-16 dias
<i>P.malariae</i>	–	28-37 dias

Os sintomas da malária são caracterizados pelos acessos (paroxismos) de calafrios, febre e sudorese, que ocorrem a intervalos regulares dependen-

do do tempo do ciclo esquizogónico eritrocitário. Nos *P. vivax* e o *P. ovale* os paroxismos têm uma periodicidade de 48 horas (terça benigna), no *P. malariae* a periodicidade é de 72 horas (quarta) e no *P. falciparum* o ciclo esquizogónico é mais irregular, podendo a periodicidade ser de 24, 36 (terça maligna) ou 48 horas. Mas nalguns casos não existe a regularidade destes paroxismos, particularmente nas infecções por *P. falciparum*, podendo considerar-se a malária como a grande simuladora de outras doenças infecciosas.

A esplenomegalia e a hepatomegalia estão ligadas à proliferação e à hiperplasia dos macrófagos envolvidos na fagocitose dos parasitas. A anemia e a trombocitopenia podem ocorrer nos doentes parasitados com qualquer uma das 4 espécies de plasmódios humanos, mas os quadros clínicos graves estão quase sempre associados à malária por *P. falciparum*.

A gravidade e as complicações da malária pelo *P. falciparum* (malária cerebral, anemia grave normocítica, insuficiência renal, edema pulmonar, hipoglicémia, choque, coagulação intravascular disseminada, convulsões generalizadas repetidas, acidémia/acidose, hemoglobinúria, icterícia, etc) têm como processo patogénico central o fenómeno de sequestração, em que as formas mais maduras dos glóbulos vermelhos parasitados aderem às vénulas pós-capilares. Este mecanismo está relacionado, exclusivamente, com o *P. falciparum* e explica a sua maior virulência quando comparada à das outras espécies de plasmódios humanos (Fig. 10).



**Fig. 10** – O papel central da sequestração dos eritrocitos na patogênese da malária por *P. falciparum* (Robron e Berendt, Curr Opin Inf Dis 5, 1989)



### Recrudescência e Recaída

A recrudescência na malária é comum às 4 espécies de plasmódios humanos, sendo devida à persistência no sangue periférico de formas do ciclo esquizogónico eritrocitário. O intervalo de tempo que decorre entre a infecção original e o aparecimento da recrudescência é variável, de acordo com as espécies de plasmódios:

<i>P.falciparum</i>	–	1-2 anos
<i>P.vivax</i> e <i>P.ovale</i>	–	4-5 anos
<i>P.malariae</i>	–	até 50 anos

As recaídas só se verificam em relação aos *P.vivax* e *P.ovale*, dado que apenas nestas espécies existem as formas denominadas hipnozoítos, que podem persistir latentes no fígado por algum tempo (2 anos ou mais). Nestes casos existe invasão periódica do sangue por merozoítos, a partir daqueles hipnozoítos. À medida que o tempo passa as recaídas vão-se tornando mais espaçadas.

### Tratamento

– *P.vivax*, *P.malariae*, *P.ovale*, *P.falciparum* sensíveis à cloroquina:

<u>Fosfato de cloroquina</u> (Resoquina, Aralen, Nivaquina) <sup>1</sup>			
1.º Dia	600mg	6 horas	300mg
2.º Dia	300mg		
3.º Dia	300mg		
Total	1500mg		

Nas infecções por *P.vivax*/*P.ovale*, a partir do 4.º Dia:

<u>Fosfato de primaquina</u> <sup>1</sup>
15mg/dia durante 14 dias <sup>2</sup>

– *P.falciparum* em regiões de cloroquino-resistência (Sudoeste Asiático, América do Sul, RI e RII cloroquino-resistência em África):

<u>Sulfato de quinino</u> <sup>1</sup>
600mg 8/8 horas durante 5 dias

No 6.º Dia:

---

<sup>1</sup> Por via oral

<sup>2</sup> Risco de anemia hemolítica em doentes com deficiência em G6FD

Sulfadoxina + Pirimetamina (“Fansidar”)<sup>1</sup>  
1500mg + 75mg, em toma única

- *P.falciparum* cloroquino-resistente (Sudeste Asiático-Tailândia) ou cloroquino/“Fansidar”/quinino-resistente (Sudoeste Asiático-Tailândia, Papua, Nova Guiné):

Sulfato de quinino<sup>1</sup>  
600mg 8/8 horas, oral, durante 7 dias

Associado a...

Tetraciclina<sup>1</sup>  
250 mg 6/6 horas, durante 7 dias

- Nos quadros clínicos graves ou quando a via oral é impraticável:

Cloroquina – por via endovenosa  
200mg 6/6 horas (não exceder 800 mg/dia),  
administração lenta

Quinino – por via endovenosa  
500mg 6/6 horas (não exceder 2 g/dia) diluídos em  
500 ml de soro glicosado, administrados no tempo  
mínimo de 30 minutos.

### **Profilaxia**

Fosfato de cloroquina  
300 mg/semana, iniciar 2 semanas antes de viajar  
para região endêmica e interromper 4 semanas  
depois do regresso.

Em região endêmica com *P.falciparum* cloroquino-resistente:

“Fansidar”  
(Sulfadoxina 500 mg + Pirimetamina 25 mg/semana)

Associado a ....

Fosfato de cloroquina  
300 mg/semana

- Outros antimaláricos utilizados na Malária por *P.falciparum* cloroquino-resistentes

Maloprin (Pirimetamina/Dapsona)

Mefloquina

Qinghaosu-artemisinina (derivados artesunate e artemether)

Halofantrine

*Palavras-chave*

Actina, adenina dinucleotido, *Anopheles*, banda 3, células endoteliais, ciclo eritrocitário, ciclo exo-eritrocitário, ciclo sexuado, citoaderência, citoesqueleto, citostoma, clínica, deformabilidade eritrocitária, degradação da hemoglobina, drogas oxidantes, entidade nosológica, epidemiologia, eritrocito, esfregaço, espectrina, esquizonte, fagosoma, fenótipo Duffy, fluidez de membrana, formação de rosetas, fosfato, fosfolípidos, gametócito, glicoforinas, glicoproteínas, glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), gota espessa, hemoglobinas S, C, E e F, hemorreologia, hemozoína, IgG, “in vitro”, isquemia, malária, merozoíto, metahemoglobina redutase, merozoíto, monócitos, mosquito, neoproteínas, nicotinamida, organelos apicais, *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. virax*, permeabilidade, patogenia, patogênese, plaquetas, plasmódio, *Plasmodium*, polimorfismo equilibrado, receptor, receptores de membrana do GV, resistência, rosácea, stress oxidativo, talassemias, tratamento, trofozoíto, vacúolo parasitóforo, vector, via das fosfopentoses, vias de permeabilização.

## X SEMINÁRIO

### **Tema: ASPECTOS BIOQUÍMICOS E CLÍNICOS DA INSUFICIÊNCIA RESPIRATÓRIA**

#### **Subtemas:**

- Hemoproteínas
- Afinidade da hemoglobina para o oxigénio
- Função respiratória do sangue
- Insuficiência respiratória

#### **Intervenientes**

Docentes convidados

- Doutor António A. Bugalho de Almeida (Prof. Aux. Clin. Univ. Doenças Pulmonares FML/HSM)
- Dr. Joaquim Bastardo (Especialista de Doenças Pulmonares Clin. Univ. Doenças Pulmonares FML/HSM)

Docente do Instituto de Bioquímica/FML:

- Doutor J. Martins e Silva (Prof. Cat.)

Alunos:

- L. Sargento
- J. Paulo Janeiro

### **HEMOPROTEÍNAS**

*Luís Sargento*

As hemoproteínas são proteínas conjugadas que possuem como grupo prostético o heme. Este grupo prostético existe na constituição de diversas proteínas designadamente: hemoglobina, mioglobina, citocromos, catalase e peroxidases.

O heme é um quelato de uma porfirina (a protoporfirina, constituída por 4 anéis pirrol ligados entre si por pontes meteno) e com um átomo de ferro central. Normalmente o ferro está na sua forma ferrosa Fe(II); quando o ferro está na forma Fe(III) o grupo heme toma a designação de hemina. O heme é sintetizado a partir da glicina e do succinil-CoA, seguindo uma via cujas

etapas são comuns à síntese de outros tetrapirróis. Quanto à sua degradação, numa primeira etapa há produção de biliverdina, que é metabolizada em bilirrubina não conjugada, e esta em bilirrubina conjugada, por fim eliminada pela bÍlis.

Conhecem-se 3 tipos de grupos heme, consoante as cadeias laterais ligadas aos pirróis: Tipo b: 2 grupos vinilo, 2 grupos propiónicos e 2 grupos metilo (esta molécula também é conhecida por ferro-protoporfirina IX e existe na hemoglobina e mioglobina; Tipo c: difere da anterior, pois os grupo vinilo são substituídos por grupos tiometilo; Tipo a: um dos grupos vinilo é substituído por um alqueno poli-insaturado, sendo um grupo metilo substituído por um grupo aldeído.

### Citocromos

Os citocromos são hemoproteínas que desempenham inúmeras funções, desde a destoxificação de substâncias pelo citocromo P<sub>450</sub> (Cit P<sub>450</sub>) à participação na fosforilação oxidativa (citocromos a, b e c).

O cit P<sub>450</sub> existe na membrana dos microssomas, nomeadamente a nível hepático, e é um dos principais sistemas de destoxificação do nosso organismo.

Na cadeia de transporte de electrões podemos encontrar diversas hemoproteínas (complexos III e IV e Cit c):

Complexo III – Cit b<sub>k</sub>, Cit b<sub>t</sub>, Cit c<sub>1</sub>

Complexo IV – Cit a, Cit a<sub>3</sub>

Os citocromos são proteínas redox activas, cujos grupos heme alternam reversivelmente entre os estados de oxidação Fe(II) e Fe(III) durante o transporte de electrões.

Os grupos heme na sua forma reduzida possuem espectros de absorção no visível com 3 bandas proeminentes:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ . A banda  $\alpha$  permite-nos distinguir os vários citocromos e está ausente na forma oxidada. Mesmo dentro de cada grupo de citocromos existem pequenas variações: por exemplo, no complexo III há 2 tipos diferentes de Cit b, um que absorve a 562 nm (Cit b<sub>k</sub>) e outro que absorve a 566 nm (Cit b<sub>t</sub>).

A sequência de aminoácidos do Cit b foi deduzida a partir do DNA mitocondrial: a estrutura polipeptídica é constituída por cerca de 380 aminoácidos que atravessam a membrana mitocondrial 9 vezes; os 2 grupos heme estão coordenados com 4 resíduos de histidina invariáveis localizados nas hélices II e IV.

O citocromo C é uma hemoproteína fracamente ligada à porção externa da membrana mitocondrial interna, associando-se aos complexos II e IV.

### Hemoglobina e mioglobina

A mioglobina é uma proteína que armazena transitoriamente oxigénio nos músculos e cede-o às mitocôndrias. É um polipéptido com estrutura e constituição muito parecida às das cadeias beta da molécula de hemoglobina, apresentando 8 segmentos helicoidais (alfa-hélice) separados por angulações, que lhe conferem conformação elipsóide.

A hemoglobina é uma proteína que transporta o oxigénio para os tecidos e parte do dióxido de carbono dos tecidos para os pulmões. É um tetrâmero constituído por uma porção proteica (globina) e um grupo prostético (heme). Cada monómero é constituído por uma globina e um grupo heme. Existem diversas globinas, o que condiciona a existência de diversos tipos de hemoglobina: por ex. Hb A ( $\alpha_2\beta_2$ ) – 97%; Hb F ( $\alpha_2\gamma_2$ ) – cerca de 1 %.

Entre monómeros estabelecem-se ligações: fortes e polares entre monómeros simétricos e ligações hidrofóbicas entre monómeros assimétricos. As cadeias  $\alpha$  possuem 141 aminoácidos (sendo a valina o aminoácido N-terminal e a arginina o aminoácido C-terminal) dispondo-se numa sequência de 7 segmentos helicoidais e 7 não-helicoidais.

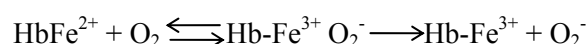
As cadeias  $\beta$  possuem 146 aminoácidos (sendo a valina o aminoácido N-terminal e a histidina o aminoácido C-terminal) com 8 segmentos helicoidais e 6 não-helicoidais.

Quanto ao grupo heme, o átomo de ferro está ligado aos 4 anéis pirrol e à histidina proximal. Na desoxihemoglobina, a 6ª ligação de coordenação está desocupada se o Fe estiver no estado bivalente, enquanto que na oxihemoglobina está ligada ao oxigénio e na meta-hemoglobina à água.

A estrutura da oxihemoglobina difere da desoxihemoglobina, evidenciando formas cristalinas diferentes. A oxigenação provoca alterações da conformação à custa das ligações entre monómeros assimétricos, que são mais fracas.

A função da globina não é somente modular a afinidade do heme para o oxigénio mas, também, tornar possível a ligação do oxigénio ao heme. O Fe(II), por si próprio, é incapaz de se ligar reversivelmente ao oxigénio, autoxidando-se. A globina tem uma conformação tal que o heme está contido numa bolsa hidrofóbica, que evita a sua oxidação.

A oxidação da hemoglobina é uma situação que ocorre normalmente no glóbulo vermelho:



### Catalase e peroxidase

Para neutralizar os radicais livres de oxigénio existem 3 sistemas principais: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatião peroxidase. As duas últimas enzimas são hemoproteínas. Resumem-se os mecanismos de acção:

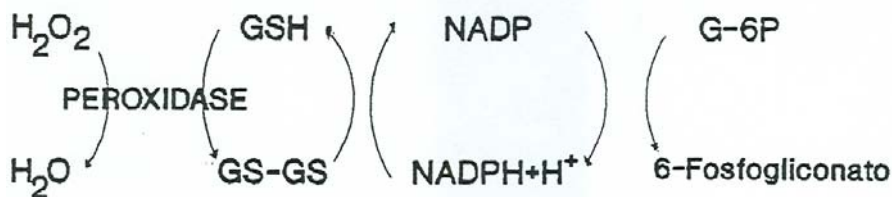
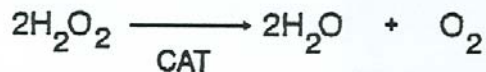
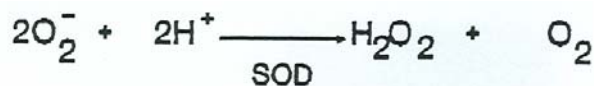


Fig. 1 – Principais sistemas de neutralização dos radicais livres de oxigênio intra-eritrocitário.

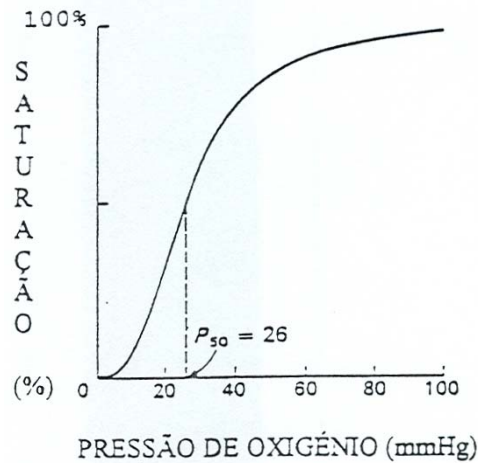
### AFINIDADE DA HEMOGLOBINA PARA O OXIGÊNIO

João Paulo Janeiro

O sangue, como intermediário das trocas gasosas entre células e meio exterior, desempenha uma dupla função: transporta oxigênio dos pulmões para todos os tecidos, e veicula o dióxido de carbono dos tecidos para os pulmões.

Por cada 100 mL de sangue, haveria um aporte aos tecidos de apenas cerca de 0,17 mL de oxigênio se a dissolução no plasma fosse a única forma de transporte. Com a hemoglobina presente nos eritrocitos, esse valor ascende a 5 mL O<sub>2</sub> por 100 mL sangue, podendo um grama de Hb transportar 1,39 mL O<sub>2</sub>. A hemoglobina é também importante no transporte de dióxido de carbono.

A facilidade de ligação Hb-O<sub>2</sub> nos pulmões e a liberação de oxigênio nos capilares da grande circulação deve-se à forma sigmóide da curva de dissociação da hemoglobina (Fig. 1). Assim, esta encontra-se praticamente saturada de oxigênio (97%) no sangue arterial (PaO<sub>2</sub> cerca de 95 mmHg), ocorrendo dissociação só quando se atingem pressões parciais de oxigênio baixas. Para PaO<sub>2</sub>=40 mmHg (valor médio normal nos capilares sistêmicos) a hemoglobina mantém-se 75% saturada, constituindo importante reserva funcional de oxigênio.

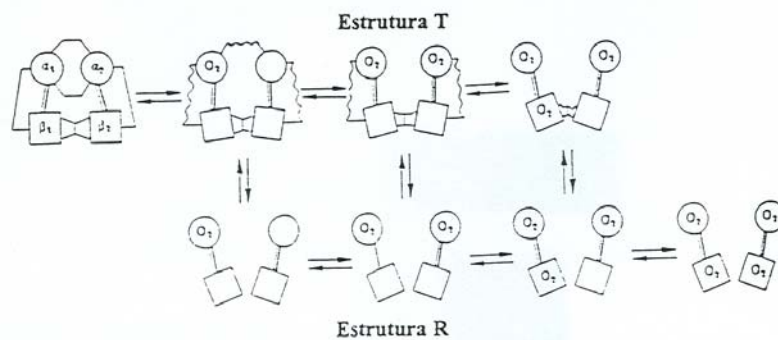


**Fig. 2** – Curva de dissociação da hemoglobina.

A pressão parcial de oxigênio capaz de oxigenar 50% dos grupos heme (saturação de 50%) denominou-se  $P_{50}$  e tem um valor médio de 27 mm Hg. A hemoglobina é uma proteína globular de 4 subunidades (2 alfa e 2 beta), contendo cada uma um grupo heme; o átomo de ferro de cada grupo heme, quando na forma reduzida ( $Fe^{2+}$ ), pode ligar-se covalentemente a uma molécula de oxigênio molecular, num total de 4 moléculas de oxigênio por molécula de hemoglobina.

A molécula de hemoglobina pode existir em duas formas (Fig. 2), em equilíbrio entre si:

- Forma T (“tensa”), com maior número de pontes salinas unindo as subunidades;
- Forma R (“relaxada”), com menos ligações entre subunidades.



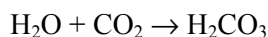
**Fig. 3** – A transição de T para R aumenta a probabilidade de cada um dos grupos heme ser oxigenado. Pontes salinas ligam subunidades na forma T. A oxigenação de subunidades favorece a estrutura R. Dióxido de carbono, 2,3-BPG e prótons deslocam equilíbrio para a forma T.



A forma R favorece a oxigenação das subunidades; a oxigenação de um grupo heme altera a estrutura da subunidade a que está ligado, deslocando o equilíbrio para a forma R. Como consequência, após a ligação da primeira molécula de oxigénio à molécula de hemoglobina fica facilitada a ligação de mais oxigénio, fenómeno traduzido pela forma sigmóide da curva de dissociação.

A presença de hidrogeniões (diminuição do pH) que se ligam aos resíduos de aminoácidos com valores de pK próximos de 7 (grupos amina terminais, histidina e cisteína) das cadeias alfa e beta (cerca de 0,5 H<sup>+</sup> por cada molécula de O<sub>2</sub> libertada da hemoglobina), promove a passagem à forma T, o que desloca a curva de dissociação para a direita, diminuindo a afinidade pelo oxigénio. Também o dióxido de carbono (por efeito directo ou por aumento de acidez) condiciona o mesmo efeito (efeito Bohr). O 2,3-BPG (2,3-bisfosfoglicerato) e o aumento da temperatura também deslocam a curva para a direita.

O dióxido de carbono pode ser transportado dissolvido (7%) ou sob a forma de compostos carbamato com a hemoglobina e outras proteínas (15%), mas a maior parte entra na reacção:



catalisada pela anidrase carbónica do eritrocito. O ácido carbónico é dissociado ( $\text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ ), saindo o ião bicarbonato do eritrocito por troca com ião cloreto. A hemoglobina recebe os hidrogeniões, evitando a acidificação e facilitando a libertação de oxigénio.

No pulmão é o oxigénio que desloca os hidrogeniões; estes, ao reagirem com os iões bicarbonato, regeneram o ácido carbónico, que se dissocia em H<sub>2</sub>O e CO<sub>2</sub>.

A função respiratória do sangue pode estar alterada, por exemplo, nas anemias, hemoglobinopatias com alterações da P<sub>50</sub>, intoxicações por monóxido de carbono (CO) ou nas meta-hemoglobinémias.

Nas anemias a hemoglobina está diminuída, o que reduz o aporte de oxigénio aos tecidos. Este défice pode ser compensado por diversos mecanismos, um dos quais envolve a diminuição da afinidade da hemoglobina para o oxigénio.

Existem hemoglobinas com afinidade elevada ou diminuída para o oxigénio. Quando a afinidade aumenta (P<sub>50</sub> diminui), com desvio da curva de dissociação para a esquerda, a hemoglobina tem oxigénio mas não o liberta para os tecidos. Com afinidade reduzida, a oxigenação da hemoglobina não é completa. A afinidade da hemoglobina para o oxigénio pode ser também anormal por modificação da forma da curva de dissociação da oxihemoglobina; esta situação é frequente em hemoglobinopatias cujo defeito incide em aminoácidos adjacentes ao grupo heme ou aos contactos entre os pares de cadeias diferentes da molécula de hemoglobina.

O monóxido de carbono tem afinidade para a hemoglobina 200 vezes superior ao oxigénio. Pequenas quantidades ligam-se fortemente à hemoglobina formando carboxi-hemoglobina, incapaz de transportar oxigénio.

Nas meta-hemoglobinémias o átomo de ferro do heme está no estado oxidado ( $\text{Fe}^{3+}$ ), não susceptível de ligação ao oxigénio. A meta-hemoglobina é diferente da carboxi-hemoglobina, em que o ferro está no estado reduzido ( $\text{Fe}^{2+}$ ) e o monóxido de carbono compete com o oxigénio pelo seu local de ligação. No entanto, ambas deslocam a curva de dissociação para a esquerda, por alterarem a conformação da subunidade a que se ligam, diminuindo ainda mais a oferta de oxigénio aos tecidos. A metahemoglobinémia pode ser adquirida (por acção de drogas ou toxinas) ou hereditária, por carência relativa de enzimas redutoras – a meta-Hb redutase I e II (também designadas diaforase I e II) – ou existirem hemoglobinas com mutações que as tornam facilmente oxidáveis – hemoglobinas M.

## **CAPTAÇÃO, TRANSPORTE E DIFUSÃO DO OXIGÉNIO. PROBLEMAS DE MICROCIRCULAÇÃO**

*J. Martins e Silva*

### **Difusão**

A difusão dos gases com importância respiratória através das membranas celulares é um processo simples que, ao nível dos pulmões (como dos tecidos periféricos), não apresenta grandes dificuldades. Em si, consiste no movimento das moléculas gasosas entre dois sectores separados por uma membrana que lhes é permeável, da área de maior pressão parcial para a que representa valores inferiores.

A par do mecanismo descrito, representativo das trocas gasosas alvéolo-capilares, a difusão também fundamenta a mistura dos gases no espaço alveolar no decurso da ventilação. Ao contrário da difusão alvéolo-capilar, que se processa entre dois estados distintos (líquido e gasoso), a difusão intra-alveolar ocorre apenas na fase gasosa, embora de acordo com as leis fundamentais da difusão.

A difusão intra-alveolar depende, entre outros factores, da disposição e geometria dos alvéolos. A difusão alvéolo-capilar é sobretudo influenciada pela área e espessura da membrana respiratória, bem como pela maior ou menor facilidade com que os gases a atravessam.

Estreitamente associadas à difusão alvéolo-capilar ocorrem diversas reacções químicas no plasma e eritrocitos relacionadas com a fixação de oxigénio ou eliminação de dióxido de carbono. Nenhum destes processos é instantâneo, donde se infere a possibilidade de constituírem factores limitativos das trocas gasosas em algumas doenças pulmonares.

A interrelação alvéolo-capilar é de tal forma íntima que os alvéolos pulmonares como que estão rodeados por uma película sanguínea que facilita extraordinariamente as trocas gasosas locais. Calcula-se que a superfície total da membrana respiratória no adulto normal varie entre 50 a 100 m<sup>2</sup>, em contacto permanente com 60 a 140 mL de sangue.

Por outro lado, os eritrocitos têm de se deformar para poderem atravessar os capilares pulmonares, com 5 a 7 μm de diâmetro.

Em consequência das distorções da forma eritrocitária no interior dos capilares aumenta a superfície de contacto, ao mesmo tempo que diminui a distância entre as paredes capilares e as membranas eritrocitárias.

Daqui resulta que no intervalo médio de 0,75 seg, o oxigénio e o dióxido de carbono possam difundir quase directamente entre os eritrocitos e o espaço alveolar, com interferência restrita do plasma.

A capacidade de deformação eritrocitária traduz-se numa superfície de aproximadamente 3000 m<sup>2</sup> para a difusão de 250 mL de oxigénio por minuto e quantidade equivalente de dióxido de carbono.

A capacidade de difusão dos gases através da barreira alvéolo-capilar é expressa pela lei de Fick: a quantidade de gás transferido através das membranas respiratórias é directamente proporcional à área tecidual em que ocorre a difusão, diferença de pressão parcial entre ambos os lados da membrana e coeficientes de difusão dos gases, sendo inversamente proporcional à espessura do tecido a atravessar.

Embora haja diferenças na velocidade com que cada gás atravessa a membrana respiratória, esta é-lhes facilmente permeável. A presença de lípidos na membrana respiratória, nos quais os gases se solubilizam sem dificuldade, explica que a permeabilidade da membrana aos gases respiratórios dependa dos respectivos coeficientes de difusão.

A pressão parcial dos gases, que expressa o impacto das respectivas moléculas sobre as faces (alveolar ou capilar) da membrana respiratória, constitui um factor essencial para a difusão. Com efeito, a pressão parcial traduz a força exercida pelo gás na superfície de difusão.

Cada um dos gases respiratórios apresenta níveis próprios de pressão parcial nos alvéolos e sangue. O fluxo de oxigénio do ar atmosférico para os pulmões e destes para o sangue, bem como a remoção em sentido inverso do dióxido de carbono para o exterior, baseiam-se essencialmente na diferença de pressão entre cada um daqueles sectores.

A diferença de pressão através da membrana respiratória representa o desnível entre a pressão parcial de determinado gás nos alvéolos e no sangue. Essa diferença reflecte-se no sentido da difusão das moléculas do gás, de um para outro lado da membrana respiratória.

Sendo a PO<sub>2</sub> alveolar superior à do sangue é natural que o oxigénio difunda para este meio: pelo contrário, quando a pressão parcial de um gás é superior no sangue, a difusão processa-se no sentido inverso, para os alvéolos, como sucede com o dióxido de carbono.

O período do equilíbrio de difusão para ambos os gases respiratórios é contudo modificado por diversos factores que, em conjunto, fundamentam os mecanismos químicos e de transporte que ocorrem no sangue que perfunde os capilares pulmonares e sistémicos (Quadro 1).

**Quadro 1** – Reacções química e actividades de transporte ocorrentes no sangue intra-pulmonar durante as trocas gasosas

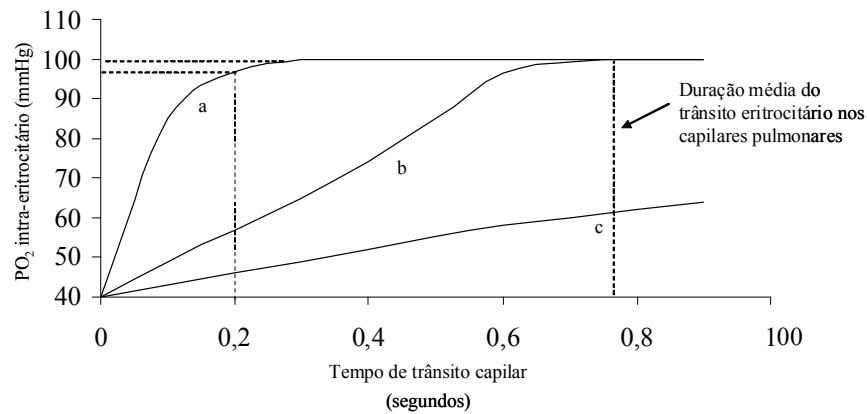
- 
1. Trocas gasosas alvéolo-capilares  
(oxigénio e dióxido de carbono)
  2. Transporte através da membrana eritrocitária
    - gases respiratórios (oxigénio e dióxido de carbono)
    - aniões (cloreto e bicarbonato)
    - água
  3. Reacções químicas intra-eritrocitárias
    - associação e dissociação do oxigénio à hemoglobina
    - associação e dissociação do dióxido de carbono à hemoglobina
    - hidratação/desidratação do dióxido de carbono
    - libertação ou captação de hidrogeniões durante as reacções anteriores
    - tamponamento dos hidrogeniões (em geral pela hemoglobina)
  4. Reacções químicas plasmáticas
    - hidratação/desidratação do dióxido de carbono
    - tamponamento dos hidrogeniões pelas proteínas
- 

Adaptação de A. Bidani e cols. – Analysis of postcapillary pH changes in blood in vivo after gas exchange. J. Appl. Physiol. 44: 770-781, 1978

### **Difusão do oxigénio e combinação com a hemoglobina**

A  $PO_2$  do sangue venoso pulmonar é, em condições normais, cerca de 1/3 (40mmHg) do valor alveolar (104mmHg). Em consequência deste desnível de pressões, o oxigénio difunde rapidamente para o sangue capilar. A transferência de oxigénio através da membrana respiratória (e também ao nível da placenta) poderá também ocorrer por difusão facilitada, actuando o citocromio  $P_{450}$  como transportador no processo.

A  $PO_2$  do sangue capilar atinge virtual equilíbrio (99%) com os níveis alveolares ao fim de 1/3 inicial da circulação sanguínea intracapilar. Por consequência, não existem diferenças sensíveis de  $PO_2$  entre o ar alveolar e o sangue na extremidade final dos capilares; o tempo de permanência do sangue nos pulmões é cerca de três vezes superior ao requerido para a oxigenação praticamente completa da hemoglobina (Fig. 4).



**Fig. 4** – Duração das trocas de oxigénio e dióxido de carbono através da membrana respiratória, sob condições normais de difusão e pressões dos gases respiratórios (nos alvéolos e sangue). No diagrama verifica-se que a  $PO_2$  e  $PCO_2$  no sangue atingem virtualmente os níveis alveolares ao fim dos primeiros 0,25 segundos de perfusão capilar. A variação da  $PO_2$  eritrocitária pressupõe duas fracções, uma relativa aos eritrocitos e outra, sempre superior, determinada pela  $PO_2$  plasmática. Cada um dos valores da curva representa o equilíbrio entre o fornecimento total de oxigénio através da membrana respiratória (dos alvéolos para os pulmões) e a velocidade de captação do oxigénio plasmático pelos eritrocitos com formação subsequente da oxihemoglobina. A curva de dissociação do  $CO_2$  é muito mais linear que a do oxigénio. Deste modo, ao gradiente habitual entre a  $PCO_2$  no sangue que entra nos capilares pulmonares (45 a 47 mmHg) e a  $PCO_2$  alveolar normal (cerca de 40mmHg), o conteúdo de sangue em  $CO_2$  apresenta uma variação quase três vezes superior à do conteúdo em oxigénio, no mesmo limiar de pressão gasosa. Este facto, associado à maior velocidade de difusão do  $CO_2$  através da barreira alvéolo-capilar (cerca de 20 vezes superior à do oxigénio) anula a relativa lentidão com que se processam as reacções do  $CO_2$  no sangue. Apesar deste obstáculo e do baixo gradiente da  $PCO_2$  registado entre alvéolos e sangue capilar, as trocas de ambos os gases das membranas respiratórias tende a equilibrar-se em quantidade e velocidade.

O oxigénio difunde para os eritrocitos mas a  $PO_2$  intra-globular não atinge os níveis alveolares. Neste intervalo, a quantidade de oxigénio fixado à hemoglobina em cada instante tende a equilibrar-se com a  $PO_2$  intra-eritrocitária.

A captação do oxigénio pelo sangue capilar ocorre em duas fases: na primeira, o oxigénio difunde através da membrana respiratória (e plasma, onde uma pequena fracção se torna fisicamente dissolvida); a segunda fase corresponde à difusão do oxigénio para o interior do eritrocito onde se combina com a hemoglobina. A resistência total à captação de oxigénio do ar alveolar pela hemoglobina inclui portanto dois componentes em sequência.

Na prática, o volume de oxigénio dissolvido no sangue em condições normais (0,3mL/100mL, correspondente a 1,5% da fracção combinada com a hemoglobina) é demasiado reduzido para afectar a difusão do oxigénio alveolar para a hemoglobina, ao contrário do que acontece com o dióxido de carbono, presente em quantidades significativas no plasma.

A velocidade de combinação do oxigénio com a hemoglobina é, por si, função do estado de oxigenação da hemoglobina; será tanto maior quanto menor for a saturação da hemoglobina, descendo para valores próximos de zero a níveis de saturação superiores a 80%.

Quando a pressão parcial apresenta valores próximos do sangue venoso misturado, a velocidade de combinação do oxigénio à hemoglobina é bastante superior à média; pelo contrário, a velocidade de combinação diminui quando a saturação da hemoglobina está em vias de se completar, isto é, depois da maior parte do oxigénio ter sido transferida dos alvéolos para a hemoglobina. Neste caso, a evolução não-linear da curva de dissociação da oxihemoglobina permite que o equilíbrio de difusão do oxigénio seja atingido rapidamente.

A difusão do oxigénio e consequente equilíbrio final são ainda influenciados pelos seguintes factores:

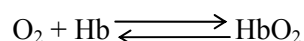
- eliminação do dióxido de carbono
- forma da curva de dissociação da oxihemoglobina
- tempo de perfusão sanguínea intra-capilar.

A simultaneidade com que se processam as trocas de oxigénio e dióxido de carbono através da membrana respiratória não pode ser ignorada no equilíbrio da difusão de oxigénio. A velocidade de aumento da  $PaO_2$  é retardada pela eliminação simultânea do dióxido de carbono. Daqui resulta que a crescente facilidade de captação do oxigénio pela hemoglobina seja acompanhada por aumento relativamente lento da  $PaO_2$ .

Ao contrário do que se verifica com os gases inertes, a dissociação e associação do oxigénio com a hemoglobina apresenta-se como uma curva de forma sigmóide (Fig. 1).

Aquela curva estabelece a relação entre a saturação (ou conteúdo) da hemoglobina com oxigénio e a  $PO_2$  do plasma (ou sangue).

Em condições normais a hemoglobina apresenta-se sob duas formas principais, relativamente ao conteúdo em oxigénio: oxihemoglobina ( $HbO_2$ ) e desoxihemoglobina (Hb). A combinação da hemoglobina (forma desoxigenada) com oxigénio, gerando oxihemoglobina, é um processo reversível, com o seguinte aspecto geral:



Quando o sangue é exposto a determinada pressão parcial de oxigénio (por exemplo a do ar alveolar), verifica-se, numa primeira fase, a fixação de grande parte do oxigénio às moléculas de hemoglobina: enquanto houver diferença entre a  $PO_2$  alveolar e capilar, o oxigénio continua a fluir dos alvéolos para o sangue, saturando progressivamente a hemoglobina; por fim,

quando for atingido o equilíbrio da PO<sub>2</sub> alvéolo-capilar, a hemoglobina apresenta-se com o nível máximo de saturação possível para a PO<sub>2</sub> considerada.

A quantidade de oxihemoglobina formada aumenta, a par da elevação progressiva da PaO<sub>2</sub>, até virtualmente toda a hemoglobina estar saturada com oxigénio. Neste ponto, a hemoglobina contém o máximo possível de oxigénio, correspondendo à capacidade de oxigénio da hemoglobina <sup>(3)</sup>.

Além da fracção associada à hemoglobina, existe ainda em circulação (em condições normais) uma pequena quantidade de oxigénio dissolvido (cerca de 0,003mL/mmHg PO<sub>2</sub>). O oxigénio total presente no sangue corresponde ao somatório da fracção dissolvida e do oxigénio na oxihemoglobina. O valor da saturação da hemoglobina pelo oxigénio pode ser calculado de:

$$\frac{\text{O}_2 \text{ combinado com a hemoglobina}}{\text{capacidade de oxigénio}} \times 100$$

A saturação do sangue arterial com oxigénio a PO<sub>2</sub> de 100 mmHg oscila por 96-98%: a fracção de oxigénio restante corresponde ao oxigénio dissolvido. O sangue venoso, com PO<sub>2</sub> de 40 mmHg, apresenta percentagens de saturação inferiores (cerca de 75%).

Quando se relaciona a saturação da hemoglobina com oxigénio (ou conteúdo em oxigénio <sup>(4)</sup> com a PO<sub>2</sub> do sangue verifica-se que a quantidade de oxigénio fixado à hemoglobina aumenta rapidamente até cerca de 50 mmHg de PO<sub>2</sub>, elevando-se depois até 100mmHg de PO<sub>2</sub> com maior lentidão; a curva resultante, que corresponde à de dissociação da oxihemoglobina, evidencia a forma sigmóide que a caracteriza.

São várias as vantagens fisiológicas inerentes à forma da curva de dissociação da oxihemoglobina; nesta curva é possível identificar dois segmentos principais: uma parte achatada, correspondente aos valores mais elevados da PO<sub>2</sub> e saturação, e uma zona mais inclinada, relacionada com valores inferiores da PO<sub>2</sub> e SO<sub>2</sub>. O segmento menos inclinado indica que a PO<sub>2</sub> alveolar pode diminuir dentro de limites relativamente extensos sem que a captação do oxigénio pela hemoglobina seja substancialmente afectada. Por

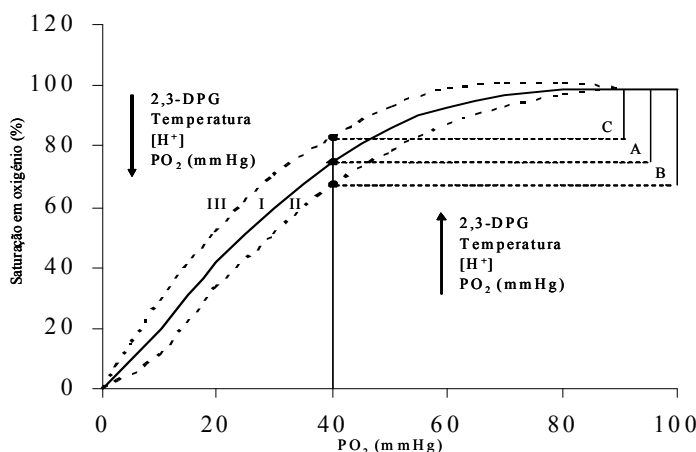
<sup>(3)</sup> A capacidade de oxigénio do sangue representa o seu conteúdo em oxigénio quando totalmente saturado, isto é, quando toda a desoxihemoglobina se encontra transformada em oxihemoglobina. Cada grama de hemoglobina tem a possibilidade de se combinar com determinada quantidade de oxigénio (1,36 a 1,39mL) normalmente, a capacidade de oxigénio da hemoglobina é aproximadamente de 20,4 de O<sub>2</sub>/100mL.

<sup>(4)</sup> O conteúdo de oxigénio em mL de hemoglobina equivale ao produto da percentagem da saturação pela capacidade de oxigénio, sendo expressa em mL de oxigénio/100mL de sangue (ou vol. %). O conteúdo total de sangue em oxigénio, ou oxigénio total, será, portanto, o somatório do conteúdo de hemoglobina com a fracção de oxigénio dissolvido. Como em cada 100mL de sangue com PO<sub>2</sub> de 100mmHg existem dissolvidos 0,3mL de oxigénio, o conteúdo total de sangue será de 20,7 vol% (20,4mL O<sub>2</sub>/100, conteúdo de hemoglobina + 0,3mL O<sub>2</sub>/100mL, quantidade dissolvida).

outro lado, mesmo que grande parte do oxigénio tenha sido já captado pela hemoglobina nos capilares pulmonares, ainda existe um certo gradiente de  $PO_2$  alvéolo-capilar favorável à difusão do oxigénio.

O segmento mais inclinado da curva influencia sobretudo a transferência de oxigénio do sangue para os tecidos; estes recebem o oxigénio que necessitam, por vezes em quantidades consideráveis, a par de ligeira redução da  $PO_2$  nos capilares sistémicos.

Diversos factores afectam a posição da curva de dissociação da oxihemoglobina, com destaque para o pH,  $PCO_2$ , temperatura e fosfatos orgânicos intra-eritrocitários. O aumento da concentração hidrogeniônica, temperatura,  $PCO_2$  e/ou concentração dos fosfatos orgânicos eritrocitários (com destaque para o 2,3-bisfosfoglicerato) desviam a curva para a direita; variações opostas deslocam a curva para a esquerda (Fig. 5). Grande parte da acção da  $PCO_2$  é exercida através do pH, sendo designado por efeito Bohr.



**Fig. 5** – Curvas de dissociação da oxihemoglobina: normal (I), com desvio para a direita (II) ou para a esquerda (III). Devido ao seu aspecto sigmóide, os desvios da curva quase não interferem na  $SaO_2$  ou no conteúdo arterial em oxigénio, enquanto a  $PaO_2$  se mantiver a níveis fisiológicos (80-100 mmHg). A nível da extremidade venosa dos capilares (40 mmHg no sangue venoso misturado), que corresponde ao segmento mais inclinado da sigmóide, bastam variações mínimas da posição da curva para induzir alterações acentuadas no conteúdo ou saturação do sangue em oxigénio. Deste modo, ao mesmo valor da  $PO_2$  venosa, um desvio para a direita (II) eleva a diferença artério-venosa de  $O_2$ , favorecendo a oxigenação tecidual (distância B). Em contrapartida, quando a curva se desvia para a esquerda (III), diminui a diferença artério-venosa de oxigénio, sendo a saturação (ou conteúdo) em  $O_2$  superior aos valores da curva normal: a quantidade de  $O_2$  fornecida aos tecidos diminui (distância A). Em conformidade, a extracção de  $O_2$  pelos tecidos depende da posição da curva de dissociação da oxihemoglobina, modulada pelos factores indicados (concentração de 2,3-bisfosfoglicerato, concentração hidrogeniônica, temperatura e  $PCO_2$ ).



O desvio da curva para a direita favorece a dissociação da oxihemoglobina, isto é, para determinada diminuição da  $PO_2$  capilar aumenta a quantidade de oxigénio libertado da oxihemoglobina; verifica-se o oposto quando a curva é desviada para a esquerda. Em condições normais são mínimas as consequências do efeito Bohr nas suas acções principais: modificação da pressão parcial em que ocorre a dissociação de oxihemoglobina e variação do conteúdo de oxigénio nas extremidades capilares. No entanto, se a  $PO_2$  alveolar estiver anormalmente reduzida, poderá verificar-se um aumento relativo (cerca de 1 mmHg) alvéolo-capilar pela intervenção do efeito Bohr.

A forma sigmóide da curva de dissociação da oxihemoglobina é responsável, através do segmento menos inclinado, pela rapidez com que se obtém o equilíbrio final da  $PO_2$  capilar, contrastando com o que se observaria numa curva linear com idêntica inclinação. Estas razões justificam que a forma sigmóide da curva de dissociação da oxihemoglobina seja considerada um factor também importante para o equilíbrio da difusão do oxigénio.

Quando aumenta o consumo de oxigénio, como sucede, por exemplo durante o exercício muscular intenso, a ventilação pulmonar tende a elevar-se proporcionalmente para manter a  $PO_2$  alveolar a níveis normais (104 mmHg). Nestas condições, reduz-se o tempo de trânsito intra-capilar, quer por influência do aumento de débito cardíaco ou do volume de sangue intra-capilar: este pode duplicar e o débito cardíaco atingir volumes da ordem dos 20 a 30 litros/min sem que, em geral, o tempo de percurso eritrocitário se torne inferior a 0,25 segundos. Deste modo, mesmo nas condições de esforço mais intenso, é assegurado totalmente, ou quase, o equilíbrio completo da difusão. Com efeito, embora a redução do tempo de permanência do sangue nos capilares possa agravar as condições de oxigenação, não há no indivíduo normal diminuição significativa de  $PO_2$  na extremidade final dos capilares. São dois motivos que explicam aquele facto: primeiro, sendo o sangue quase integralmente saturado no início do trajecto capilar, ainda resta uma considerável superfície de difusão disponível para o oxigénio, quando o seu consumo e o fluxo sanguíneo aumentam; segundo, a capacidade de difusão do oxigénio aumenta para o dobro ou triplo dos valores basais, independentemente dos ajustamentos da ventilação pulmonar. O aumento da capacidade de difusão do oxigénio torna-se dependente da densificação da rede capilar e ainda da dilatação alveolar e dos capilares.

No entanto, se a  $PO_2$  alveolar diminuir substancialmente (como sucede nas altitudes elevadas ou pela respiração de misturas gasosas com pouco oxigénio), a diferença entre a  $PO_2$  alveolar e do sangue venoso misturado também declinará, dificultando o equilíbrio da difusão, sobretudo em situações de esforço físico acentuado.

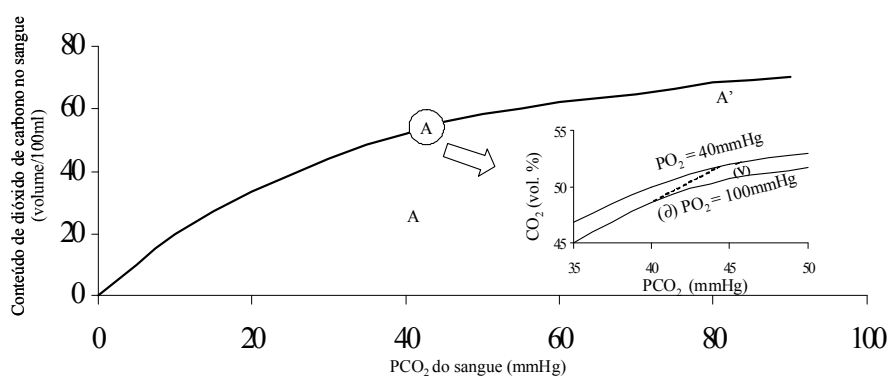
### Eliminação do dióxido de carbono e formas de transporte em circulação

A transferência do dióxido de carbono do sangue venoso para os alvéolos baseia-se, entre outras razões, na diferença de pressão a que se encontra em ambos os sectores. A  $PCO_2$  do sangue que entra nos capilares é de, aproximadamente, 45 mmHg, oscilando a  $PCO_2$  alveolar normal por 40 mmHg.

Ao contrário do oxigénio, o dióxido de carbono raramente ou nunca aumenta no sector em que apresenta pressão parcial mais elevada, em consequência de alterações específicas da difusão.

A retenção do dióxido de carbono em circulação por lesão da barreira alvéolo-capilar acompanha-se de repercussões sistémicas; estas são, contudo normalmente precedidas pelas consequências que a redução da oxigenação sanguínea, por defeito de difusão, possa originar.

Aquela aparente discrepância resultaria da diferença de difusibilidade de ambos os gases: o dióxido de carbono, sendo cerca de 20 vezes mais difusivo que o oxigénio através da membrana respiratória, dificilmente deixaria de ser eliminado para os alvéolos. No entanto, a contrapor à difusibilidade, há que considerar a velocidade de equilíbrio da difusão do dióxido de carbono, isto é, a velocidade a que a  $PCO_2$  capilar tende a igualar-se com a  $PCO_2$  alveolar (Fig. 6).



**Fig. 6** – Curva de dissociação do dióxido de carbono. (A) Zona de variação fisiológica; (A') Variação da  $PCO_2$  em função dos valores da  $PO_2$  arterial e venosa. A seta representa o efeito Haldane, com repercussão recíproca no sector venoso (v) e arterial (a)

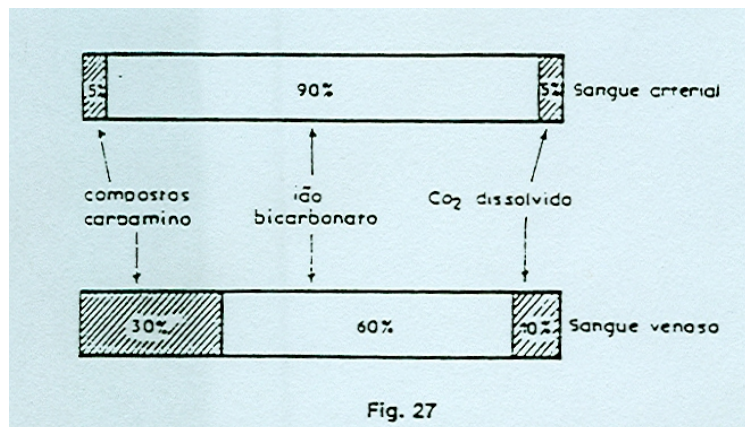
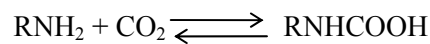
O equilíbrio de difusão do dióxido de carbono depende não só da difusibilidade dos gases através da membrana respiratória, mas ainda das formas de transporte em circulação.

O dióxido de carbono é transportado pelo sangue sob três formas:

- dissolução física ( $\text{CO}_2$ )
- ião bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ )
- compostos carbaminados

Em consequência, a curva de dissociação do dióxido de carbono representa a interrelação entre a  $\text{PCO}_2$  e o somatório daquelas formas de transporte sanguíneo.

Cerca de 2/3 do dióxido de carbono total é veiculado nos eritrocitos, sendo o restante transportado pelo plasma. A maior parte do dióxido de carbono no sangue arterial apresenta-se como ião bicarbonato (90%): a fracção restante distribui-se em partes sensivelmente iguais (5%) pela forma dissolvida e de compostos carbaminados; estes compostos resultam da união química do dióxido de carbono aos grupos aminados terminais das proteínas do sangue, sobretudo com a globina da hemoglobina:



**Fig. 7** – Representação esquemática das percentagens de dióxido de carbono total existente no sangue arterial e venoso.

A reacção ocorre rapidamente na ausência de enzimas específicas, ligando-se mais dióxido de carbono à hemoglobina desoxigenada do que à oxihemoglobina. Este facto justifica que a transferência do oxigénio do sangue arterial para os tecidos facilite a captação do dióxido de carbono, verificando-se o inverso ao nível dos pulmões. Embora o ião bicarbonato seja ainda a forma predominante (60%) em que se efectua o transporte de dióxido de carbono pelo sangue venoso, apresenta menos importância que no sangue arterial, em consequência do aumento relativo das fracções correspondentes aos compostos carbaminados (30%) e forma dissolvida (10%).

Ao nível dos pulmões, as diversas formas de transporte do dióxido de carbono transformam-se no estado molecular em solução do plasma ( $\text{CO}_2$ ), subsequentemente transferido através da membrana respiratória para os alvéolos. Por sua vez, a ventilação assegura a remoção constante do dióxido de carbono alveolar para o ar atmosférico.

O dióxido de carbono em solução no plasma dos capilares pulmonares provém da fracção unida às proteínas plasmáticas, ião bicarbonato e forma já dissolvida no sangue venoso. Em contraste com a rapidez de separação do dióxido de carbono dos compostos carbaminados, a transformação do ião bicarbonato na forma molecular do dióxido de carbono processa-se com grande lentidão devido à inexistência da enzima específica (anidrase carbónica) no plasma.

À medida que o dióxido de carbono difunde do plasma para os alvéolos é substituído pela fracção dissolvida, proveniente dos eritrocitos, em grande parte resultante da conversão intraglobular do ião bicarbonato. A rapidez que caracteriza a difusão do dióxido de carbono através da membrana eritrocitária justifica que o gradiente da  $\text{PCO}_2$  entre o plasma e interior globular seja praticamente nulo.

A transformação intra-eritrocitária do ião bicarbonato em dióxido de carbono, catalisada pela anidrase carbónica, ocorre rapidamente. Deste modo, a concentração intraglobular do ião bicarbonato torna-se inferior à existente no plasma, determinando a passagem do ião bicarbonato do plasma para dentro dos eritrocitos. Em consequência desta transferência, o interior dos eritrocitos adquire um excesso de aniões, rapidamente anulado pela saída dos iões cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) dos eritrocitos para o plasma. A troca aniónica mencionada ( $\text{Cl}^-$  por  $\text{HCO}_3^-$ ) recebe a designação de efeito (ou transferência) Hamburger. Verifica-se exactamente o oposto ao nível dos capilares sistémicos. A eliminação do dióxido de carbono acompanha-se, portanto, de desequilíbrio aniónico, cuja restauração parcial depende da acção rápida da anidrase carbónica intraeritrocitária.

Ao contrário do  $\text{HCO}_3^-$ , é muito reduzido o fluxo de hidrogénio (bem como de iões  $\text{OH}^-$ ) através da membrana eritrocitária, a pH fisiológico. As alterações da concentração hidrogeniónica resultam sobretudo das reacções de hidratação/desidratação do dióxido de carbono, associação/dissociação de carbamino-hemoglobina, e oxigenação/desoxigenação da hemoglobina; as duas últimas reacções ocorrem apenas no interior dos eritrocitos. Algum dióxido de carbono transferido dos eritrocitos para o plasma provém dos compostos carbamino-hemoglobina e, também, da fracção dissolvida pré-existente nos eritrocitos.

A oxigenação da hemoglobina exerce influência marcada na remoção do dióxido de carbono total, transportado pelo sangue venoso aos pulmões através de dois mecanismos.

- libertação de hidrogénio da desoxihemoglobina
- dissociação da carbamino-hemoglobina

Cerca de 50% da remoção total de dióxido de carbono deriva da formação da oxihemoglobina. Verifica-se o contrário nos capilares sistémicos, em que a desoxigenação da hemoglobina favorece a captação do dióxido de carbono formado nos tecidos. O aumento da captação ou separação do dióxido de carbono consequente, respectivamente, à desoxigenação ou oxigenação da hemoglobina, é designado por efeito Haldane. A pH e concentração do 2,3-bisfosfoglicerato eritrocitário normais, cerca de metade do dióxido de carbono resultante do efeito Haldane deriva de carbamino-hemoglobina e o restante do ião bicarbonato. O efeito Haldane baseia-se, em parte, nas características tamponantes da desoxihemoglobina. Esta forma circulante da hemoglobina, menos ácida que a oxihemoglobina, fixa parte dos iões hidrogénio resultantes da dissociação do ácido carbónico nos capilares sistémicos. Ao nível da membrana respiratória, a desoxihemoglobina perde os iões hidrogénio à medida que recebe oxigénio.

A oxihemoglobina adquire características de ácido mais forte que a desoxihemoglobina, deslocando o dióxido do sangue de dois modos:

- ao intervir na união da hemoglobina com o dióxido de carbono, devido a ser mais ácida que a forma desoxigenada.
- ao acidificar o meio globular e plasmático.

A remoção de hidrogeniões da desoxihemoglobina favorece a conversão do ião bicarbonato intra-eritrocitário em dióxido de carbono, imediatamente transferido para o plasma e, na sequência, para os alvéolos, em troca com o oxigénio; o aumento de hidrogénio no plasma conduz a idêntico resultado, favorecendo a conversão do ião bicarbonato em ácido carbónico que, ao dissociar-se, liberta dióxido de carbono. É deste modo evidente a importância da oxigenação da hemoglobina no processo global das trocas pulmonares do dióxido de carbono.

São vários os factores influentes no equilíbrio da difusão do dióxido de carbono nos capilares pulmonares.

O tempo requerido para o equilíbrio poderá ser superior ao do oxigénio devido a vários factores, com destaque para os seguintes:

- forma da curva de dissociação do dióxido de carbono
- reacções químicas do dióxido de carbono
- efeito Hamburger

A curva de dissociação do dióxido de carbono estabelece a relação entre a  $PCO_2$  e o conteúdo de sangue em dióxido de carbono; a quantidade do dióxido de carbono presente no sangue em todas as formas referidas depende, efectivamente, da  $PCO_2$ .

Ao contrário da curva de dissociação da oxihemoglobina (sigmóide), a do dióxido de carbono é quase linear, com o inconveniente de retardar o equilíbrio final da  $PCO_2$  alvéolo-capilar (Fig. 6).

A velocidade inerente às reacções químicas do dióxido de carbono retarda também o equilíbrio alvéolo-capilar da  $PCO_2$ , embora sem modificar a forma da curva que relaciona a descida da  $PCO_2$  intra-capilar com o tempo de trânsito pulmonar.

Quando todas as reacções químicas do dióxido de carbono são consideradas, verifica-se que o conteúdo total daquele gás diminui mais lentamente que a respectiva pressão parcial, em parte devido ao efeito Hamburger (cerca de 0,15 segundos).

Do exposto conclui-se que o equilíbrio de difusão para o dióxido de carbono tende a ser mais lento que o do oxigénio, ainda que a capacidade de difusão do dióxido de carbono seja cerca de 20 vezes superior. A razão principal daquela diferença parece residir, sobretudo, na inclinação e forma da curva de dissociação do dióxido de carbono que, ao afectar a velocidade de difusão do gás através da membrana respiratória, limita o equilíbrio de difusão. A velocidade própria das reacções químicas do dióxido de carbono tem, apesar de tudo, menos importância que a curva de dissociação.

A simultaneidade que caracteriza as trocas gasosas ao nível da membrana respiratória interfere na eliminação do dióxido de carbono. Com efeito, a difusão do oxigénio dos alvéolos e consequente oxigenação da hemoglobina afecta a velocidade de equilíbrio e concentrações finais de equilíbrio do dióxido de carbono.

A fixação do oxigénio à hemoglobina desloca os hidrogeniões daquela hemoproteína, permitindo a conversão dos iões bicarbonato intraglobulares em dióxido de carbono. Em consequência do aumento de velocidade e quantidade de dióxido de carbono formado nos eritrocitos, que acompanha a libertação de hidrogeniões da desoxihemoglobina, é acelerada a transferência do dióxido de carbono para o plasma, com elevação subsequente da  $PCO_2$  do sangue. Deste modo, ainda que o gradiente da  $PCO_2$  alvéolo-capilar favoreça a eliminação do dióxido de carbono para os alvéolos, a  $PCO_2$  no sangue tarda a atingir os níveis alveolares. Resultam daqui duas conclusões:

- a oxigenação da hemoglobina retarda a diminuição da  $PCO_2$  eritrocitária;
- a oxigenação da hemoglobina é essencial para a eliminação do dióxido de carbono; não havendo captação de oxigénio pela hemoglobina diminui para cerca de metade a quantidade total de dióxido de carbono eliminado.

As interacções descritas fundamentam o efeito Haldane ao nível dos pulmões, sobretudo influente na massa total de dióxido de carbono transferido, para determinado gradiente da  $PCO_2$  alvéolo-capilar (extremidade final).

A quantidade de dióxido de carbono removido do sangue dos capilares pulmonares ou captado dos tecidos é condicionado, portanto, pelo efeito Haldane. Este efeito traduz-se na variação fisiológica da curva de dissociação.

ção do dióxido de carbono entre dois pontos extremos, um correspondendo à desoxigenação da hemoglobina e outro coincidindo com as trocas gasosas pulmonares; estas variações deixam de se verificar na ausência do efeito de Haldane. Através dessa curva pode verificar-se que o conteúdo em dióxido de carbono diminui cerca de 2 volumes quando o sangue venoso atravessa a rede capilar pulmonar, aumentando de 2 volumes ao nível dos capilares sistémicos. Conclui-se daqui que dos cerca de 50 vol %, aproximadamente, que representam o conteúdo de dióxido de carbono no sangue, apenas 4 vol % são trocados durante o transporte de dióxido de carbono dos tecidos para os pulmões. Neste intervalo, a  $PCO_2$  varia entre 45 mmHg no sangue venoso e 40 mmHg no sangue arterial.

O efeito Haldane é, quantitativamente, mais importante para o transporte do dióxido de carbono do que o efeito Bohr para o transporte de oxigénio.

Em termos práticos, o efeito Haldane duplica a quantidade de dióxido de carbono captado pelo sangue nos capilares sistémicos, assim como a quantidade removida do sangue intra-pulmonar para os alvéolos.

## INSUFICIÊNCIA RESPIRATÓRIA

### *A. Bugalho de Almeida, Joaquim Bastardo*

Define-se como insuficiente respiratório todo o indivíduo incapaz de manter os seus gases do sangue arterial dentro de limites da normalidade, em repouso ou durante o esforço.

Esta situação distingue-se da alteração da ventilação, pois a última poderá existir sem que se verifiquem alterações gasométricas.

Sobre a fisiologia do acto respiratório refere-se a necessidade da existência de uma diferença de pressão no sentido boca-alvéolo, e vice-versa, para que se gere o fluxo aéreo, e que exista uma fracção do ar admitido em cada inspiração que não participe nas trocas gasosas. Só a que atinge as porções mais distais da árvore respiratória participa naquelas trocas.

Mas para que esta permuta do  $O_2$  e  $CO_2$  se verifique é necessário que exista uma perfusão adequada dos alvéolos.

Desta relação entre ventilação e perfusão adequadas resulta a manutenção de trocas gasosas eficazes.

A determinação das pressões parciais do  $O_2$  e  $CO_2$  no sangue arterial ( $PaO_2$  e  $PaCO_2$  respectivamente) em indivíduos sem patologia permitiu-nos a obtenção de valores normais. A  $PaO_2$  tem um valor médio mais elevado no indivíduo jovem, que se vai reduzindo progressivamente com o envelhecimento. Assim, um valor de 70 mmHg poderá ser muito baixo num jovem, moderadamente reduzido no indivíduo de meia idade e normal no velho.

Quanto à  $PaCO_2$  o seu valor normal oscila entre os 35 e os 45 mmHg, sendo o valor normal do pH – 7,35 a 7,45 (visto estas concentrações de  $CO_2$  influenciarem o equilíbrio ácido-base).

Quando existem alterações que condicionem decréscimos da  $PaO_2$ , com valores da  $PaCO_2$  normais, estamos perante uma insuficiência respiratória (IR) parcial. Se a  $PaO_2$  está diminuída e a  $PaCO_2$  elevada a insuficiência respiratória é global.

Esta hipoxémia (diminuição da  $PaO_2$ ) é uma das causas da hipóxia tecidual, e pode ser devida a:

- diminuição da  $PO_2$
- alteração da relação V/Q
- “shunt”
- hipoventilação

A insuficiência respiratória global tem origem na hipoventilação alveolar:

- por doenças broncopulmonares (ex: Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica)
- por alterações da parede torácica
- por alterações do sistema nervoso periférico e central.

Existem diversas manifestações clínicas relacionadas com a IR. A hipoxémia e a hipercápnia fazem sentir os seus efeitos, particularmente ao nível do sistema cardiovascular e sistema nervoso central.

Ao nível do sistema cardiovascular a hipoxémia vai provocar hipertensão ligeira e uma taquicárdia marcada.

Ao nível do sistema nervoso central, se a hipoxémia for ligeira surgem alterações do comportamento, desorientação, agitação e confusão. A progressão da hipoxémia conduz a uma “baixa” do nível de consciência, chegando ao coma.

A cianose observa-se no doente com hipoxémia e é devida a existência de hemoglobina reduzida.

Distinguem-se 2 tipos de cianose:

- Central – é evidente tanto nas extremidades como em zonas com boa circulação.
- Periférica – produzida por consumo excessivo de  $O_2$  a nível de tecidos periféricos.

A presença de hipercápnia pode ser detectada pela sintomatologia que ela provoca também a nível do sistema nervoso central e cardiovascular.

Sobre o sistema nervoso central a hipercápnia ligeira provoca irritabilidade, agitação, confusão e alteração do ritmo do sono.

Com o agravamento da hipercápnia o doente começa a ficar obnubilado e acaba por cair em coma.

Sobre o sistema cardio-vascular, e por uma acção indirecta, provoca vasoconstrição com agravamento de H.T.A.. Por acção directa sobre a pare-



de do vaso provoca vasodilatação, mas na prática clínica corrente o que predomina é a vasoconstrição.

Ao nível do sistema nervoso central encontramos vasodilatação que se manifesta por cefaleias.

O tratamento fisiopatológico da I.R. consiste na oxigenioterapia e na ventilação mecânica.

O oxigénio utilizado para fins terapêuticos é obtido do ar atmosférico por meios industriais onde é separado dos outros gases atmosféricos.

Designa-se por  $FiO_2$  a fracção de  $O_2$  inspirada (se o ar inspirado for o ar ambiente é de 21% e no oxigénio puro 100%).

Os sistemas de administração devem ser escolhidos conforme a situação clínica e a  $FiO_2$  que se pretende:

- Sonda nasofaríngea
- Cânulas nasais
- Máscaras faciais
- Tendões de oxigénio
- Tubo endotraqueal

A oxigenação deve fazer-se continuamente e até ser ultrapassada a situação patológica. A administração do oxigénio pode ter um efeito tóxico:

- Hipoventilação
- Atelectasias
- Fibroplasia retro lenticular
- Lesão do endotélio capilar pulmonar

A ventilação tem por finalidade auxiliar ou mesmo substituir a ventilação espontânea e para isso podemos recorrer a meios desde os mais arcaicos, como a ventilação boca-a-boca como dos mais sofisticados como ventiladores controlados por microprocessamento.

## XI SEMINÁRIO

**Tema: HEMOGLOBINAS NORMAIS E ANORMAIS – DREPANOCITOSE**

### Subtemas:

- Hemoglobinas normais e hemoglobinopatias
- Clínica da drepanocitose

### Intervenientes

Docente convidado

– Dra. Filomena Pereira (Assist. Hospitalar de Pediatria/HSM)

Docente do Instituto de Bioquímica/FML:

– Dr. Luís Sargento (Monitor)

### Metodologia

- Avaliação diagnóstica dos participantes
- Apresentação de casos clínicos
- Orientadores do seminário
- Apresentação de uma ficha sobre sangue e formas eritrocitárias
- Síntese temática
- Avaliação final dos participantes

### Introdução

Apresentação do Filme “*A Forma dos Glóbulos Vermelhos*” (SANDOZ)

### Sumário:

- Observação de esfregaços de sangue total ao microscópio óptico, microscópio de contraste de fase e microscópio de interferência.
- O glóbulo vermelho em microscopia electrónica clássica e de varredura
- Exemplos de alteração da forma dos glóbulos vermelhos (Equinocitos, Esferoequinocitos, Estomatocitos, Acantocitos, Esferocitos, Poiquilocitos, Dacriocitos, Células em alvo).

## HEMOGLOBINAS NORMAIS E HEMOGLOBINOPATIAS

*Luís Sargento*

### Estrutura e Funções da Hemoglobina

#### Estrutura

A hemoglobina (Hb) é uma proteína constituída por quatro monómeros, unidos entre si por ligações não covalentes, numa estrutura quaternária. Cada monómero é constituído por uma fracção proteica (globina) e por um grupo prostético (heme).

Existem diversos tipos de globinas ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ), sendo a molécula de hemoglobina constituída obrigatoriamente por duas globinas alfa e por duas não alfa, o que condiciona a existência de diferentes tipos de hemoglobina, por exemplo Hb A<sub>1</sub> ( $\alpha_2\beta_2$ ), Hb A<sub>2</sub> ( $\alpha_2\delta_2$ ), Hb F ( $\alpha_2\gamma_2$ ).

O grupo prostético da hemoglobina é o heme – um quelato de um tetrapirrol (protoporfirina IX) e de um átomo de ferro (Fe) central. O ferro está normalmente na forma ferrosa (Fe<sup>2+</sup>). Quando o ferro está na forma oxidada (Fe<sup>3+</sup>), o grupo passa a ter a designação de hemina.

O ferro do grupo heme está ligado aos quatro átomos de azoto de cada molécula de pirrol e à histidina proximal da cadeia polipeptídica respectiva. Na desoxi-hemoglobina a 6<sup>a</sup> ligação de coordenação está desocupada, caso o ferro esteja bivalente, enquanto que na oxi-hemoglobina se encontra ligado ao oxigénio e na metahemoglobina à água.

A função da globina na molécula de hemoglobina não é somente estrutural ou a de modular a afinidade do heme para o oxigénio, mas também a de tornar possível a reversibilidade da ligação entre o ferro e o oxigénio. O átomo de Fe<sup>2+</sup>, por si só, é incapaz de se ligar reversivelmente ao oxigénio, autooxidando-se. A globina tem uma conformação tal que o heme fica envolvido numa bolsa hidrofóbica, evitando assim a sua oxidação.

#### Oxi-hemoglobina /Desoxi-hemoglobina

Quando a hemoglobina (com o ferro bivalente) está ligada ao oxigénio tem a designação de oxi-hemoglobina, e a de desoxi-hemoglobina quando não está ligada ao oxigénio. A ligação estabelecida entre a molécula de hemoglobina e o oxigénio condiciona alterações da conformação proteica, à custa das ligações entre monómeros assimétricos; em consequência, as duas formas de hemoglobina apresentam estruturas cristalinas e espectros de absorção diferentes. Os comprimentos de onda de absorção máxima são 540nm e 660nm, respectivamente para a oxi-hemoglobina e desoxi-hemoglobina.

### Funções da Hemoglobina

A principal função da hemoglobina é o transporte de oxigénio (dos pulmões para os tecidos) e de parte do dióxido de carbono (dos tecidos para os pulmões).

A quantidade de oxigénio ligado à hemoglobina em determinado instante está intimamente relacionada com a pressão do oxigénio no sangue ( $PO_2$ ), verificando-se um aumento da saturação (S) da hemoglobina em oxigénio ( $SO_2$ ) à medida que o  $PO_2$  aumenta. A representação gráfica da variação da percentagem de saturação da hemoglobina e a  $PO_2$  tem a designação de curva de dissociação da oxi-hemoglobina. Esta curva tem um perfil sigmóide que traduz o efeito cooperativo existente entre as quatro subunidades de globina na presença das moléculas de oxigénio. Assim, quando uma subunidade capta oxigénio (no grupo heme) induz uma alteração da conformação tridimensional da molécula de hemoglobina, favorecendo a captação de outras moléculas de oxigénio pelas restantes subunidades. A interacção da  $PO_2$  com a  $SO_2$  definida pelo valor da  $P_{50}$ , que corresponde à  $PO_2$  para uma saturação da hemoglobina de 50%. A  $P_{50}$  expressa o valor da afinidade da hemoglobina para o oxigénio.

A curva de dissociação da oxi-hemoglobina pode ser influenciada por diversos factores: pH sanguíneo,  $PCO_2$ , temperatura e a concentração do 2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG). A diminuição dos valores da  $PCO_2$  e do 2,3-BPG, o aumento dos valores de pH, a hipotermia e a presença de Hb fetal desviam a curva para a esquerda, induzindo assim o aumento da afinidade da Hb para o oxigénio. A variação no sentido oposto dos factores modulares favorece a dissociação do oxigénio para os tecidos (por diminuição da afinidade da hemoglobina para o oxigénio), melhorando assim a oxigenação tecidual.

Estes processos de regulação são de extrema importância para a homeostasia do transporte de oxigénio, permitindo ainda que a oxigenação continue a processar-se em condições desfavoráveis.

### Síntese da hemoglobina durante o desenvolvimento fetal

A eritropoiese é o processo de síntese de eritrócitos. No homem adulto ocorre quase exclusivamente na medula óssea a partir duma célula estaminal pluripotente. No entanto, durante o desenvolvimento embrionário outros órgãos estão implicados neste processo. As primeiras células que contêm hemoglobina são produzidas no saco vitelino, sendo activada mais tarde a eritropoiese hepática, esplénica e só posteriormente, a medular. Cada um desses órgãos tem preferência pela produção de um determinado tipo de globina.

O principal órgão implicado na eritropoiese fetal é o fígado, que produz principalmente Hb F, constituída por cadeias alfa e gama ( $\alpha_2\gamma_2$ ). Progressi-

vamente, ocorre o incremento da síntese de cadeias beta (na medula óssea) e a diminuição da síntese de cadeias gama; por consequência aumenta a percentagem de Hb A (forma típica do adulto). O Quadro I resume os tipos de hemoglobina sintetizados durante o desenvolvimento embrionário e fetal.

**Quadro I** – Apresentação da relação entre o tipo de hemoglobina e o estadio de desenvolvimento

<i>Estadio de desenvolvimento</i>	<i>Tipo de Hb</i>
Embrionário	Gower 1, Gower 2, Portland 1
Fetal	Hb Fetal

A existência de um tipo diferentes de hemoglobina no feto está relacionado com o facto do sangue fetal ser oxigenado a partir do sangue materno.

### **Patologia da Hemoglobina**

As doenças da hemoglobina podem ser divididas em dois grupos:

- (i) Alterações quantitativas (talassémias) – São doenças em que há diminuição da síntese de hemoglobina, devido à menor produção de um determinado tipo de globina. Por exemplo, nas talassémias  $\alpha$  há menor produção de cadeias  $\alpha$  do que  $\beta$ , verificando-se o oposto na talassémia  $\beta$ .
- (ii) Alterações qualitativas (hemoglobinopatias) – São doenças em que, devido a mutações genéticas pontuais, há a produção de hemoglobinas anormais (p.ex., Hb S, Hb Colónia).

### Hemoglobina S

A hemoglobina S é o exemplo paradigmático da causa de uma hemoglobinopatia. Nesta molécula de hemoglobina há a substituição do aminoácido glutamina pelo aminoácido valina, na posição 6 das duas cadeias  $\beta$ .

Este tipo de hemoglobina existe numa doença designada por drepanocitose, em que os eritrócitos perdem a sua normal biconcavidade e tomam a forma de foice, através de um processo denominado de falciformização.

### Falciformização eritrocitária

Em 1927 Hahn e Gillespie evidenciaram que o processo de falciformização dependia da desoxigenação da hemoglobina.

Os tetrâmeros de Hb são estáveis em solução quando a concentração de Hb S, pH, forças iónicas e temperatura são mantidos entre determinados limites. Pequenas perturbações nestes factores resulta na precipitação abrupta do gel de Hb S.

Durante a fase de desoxigenação, acidémia ou em situações de aumento da temperatura dá-se a polimerização da Hb S em fibras (diâmetro cerca de 20nm), estabilizadas por ligações hidrofóbicas entre as  $\beta 6$ -valina e outras zonas de contacto. Verifica-se também interacção molecular com outras formas de hemoglobina, realçando-se a Hb A que participa mais rapidamente no processo de co-polimerização com a Hb S do que a Hb F. Os agregados de Hb S interactuam com a membrana do eritrocito, por mecanismos desconhecidos.

Esta transição do estado conformacional da Hb S é determinante na distorção da morfologia dos eritrocitos com repercussão no transporte de oxigénio.

Messer e Bradley descreveram dois tipos de eritrocitos na drepanocitose, consoante a densidade expressa em concentração média de hemoglobina globular:

- (i) Uma fracção de eritrocitos densos (CMHG = 36g/dL), que exhibe polimerização reversível e reversibilidade do processo de falciformização.
- (ii) Uma fracção de eritrocitos muito densos (CMHG = 44g/dL) que exhibe polimerização reversível, mas irreversibilidade na alteração da forma globular.

### **Membrana Eritrocitária**

A célula viva é uma entidade dinâmica onde ocorrem alterações fisiológicas de natureza fisico-química. Para que a célula possa realizar essas funções deverá estar envolvida por uma membrana que permite a separação entre os meios intracelular e extracelular.

A membrana serve não só como barreira de separação selectiva, mas também como estruturas-base, onde se encontram ligados sistemas enzimáticos e de transporte importantes para o normal funcionamento globular.

As evidências combinadas da microscopia electrónica, composição química (40% de lípidos e 60% de proteínas) e os resultados de estudos físicos de permeabilidade e de movimento das proteínas e lípidos suportam o modelo do mosaico-fluido para a estrutura das membranas biológicas. Fosfolípidos anfipáticos e esteróis formam a bicamada lipídica. Nesta camada lipídica estão embedidas proteínas globulares (extrínsecas, intrínsecas e/ou transmembranares).

Em resumo apresentam-se as propriedades gerais e alguns exemplos destes tipos de proteínas da membrana eritrocitária:

- (i) proteínas extrínsecas – Proteínas de associação fraca à membrana e solúveis em água. As interacções com os lípidos são polares. Exemplo: espectrina e gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase.

- (ii) proteínas intrínsecas – Proteínas fortemente ligadas à membrana, não solúveis em água e que apresentam ligações hidrofóbicas e polares com os lípidos. Exemplo: acetilcolinesterase e ATPase Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>.
- (iii) proteínas transmembranares – Proteínas que atravessam a membrana de lado a lado. Exemplo: glicoforina.

## CLÍNICA DA DREPANOCITOSE

*Filomena Pereira*

### **Prevalência, prevenção, diagnóstico precoce**

Foi calculado em 1983 que cerca de 60 milhões de indivíduos eram portadores de traço drepanocítico (hemoglobina S), 50 dos quais habitavam em África; o número global em 1992 deveria ascender a 78 milhões.

Em cada ano nascem cerca de 156.000 crianças com anemia de células falciformes, das quais 130.000 em África.

Embora Portugal tenha recebido milhares de Africanos nos últimos 20 anos, a doença já residia cá, quer como herança da ocupação Árabe, quer da miscigenação ao longo de séculos.

Conhecendo a mutação e os factores de instabilidade que condicionam a alteração na estrutura da Hemoglobina, torna-se possível entender todos os aspectos clínicos:

### Anemia

A alteração da forma dos glóbulos vermelhos conduz à sua remoção precoce da circulação, determinando um encurtamento da vida média do eritrócito com conseqüente anemia crónica.

A medula óssea tenta, com hiperprodução de glóbulos vermelhos, compensar essa carência.

Qualquer factor de instabilidade acrescido poderá provocar um agravamento da anemia.

### Crises vaso-oclusivas

A falciformização e a aglomeração de eritrócitos na microcirculação levam à interrupção do fluxo sanguíneo, com enfartes nas áreas afectadas, o que se vai traduzir por episódios agudos, geralmente dolorosos:

- a) Ossos: dor óssea aguda, por vezes com sinais inflamatórios locais. As áreas mais afectadas são a coluna lombo-sagrada, o joelho, o ombro, o cotovelo, o fémur, o esterno, as costelas e as clavículas.

Nas crianças abaixo dos 5 anos de idade ocorre, frequentemente, nos pequenos ossos das mãos e dos pés.

- b) Pulmões: as crises vaso-oclusivas determinam um quadro de disfunção respiratória.
- c) Abdómen: dor abdominal aguda, geralmente é devida a falciformização nos vasos mesentéricos. Pode também corresponder a microenfartes em qualquer órgão abdominal.
- d) Sistema Nervoso Central: por oclusão das artérias cerebrais poderá ocorrer um quadro neurológico com mortalidade elevada e grande risco de sequelas.
- e) Priapismo: trata-se de uma erecção persistente do pénis, muitas vezes dolorosa, que, no caso da drepanocitose, se verifica geralmente em doentes com mais de 10 anos. Deve-se a falciformização nos corpos cavernosos do pénis e pode levar à impotência.

#### Crises aplásticas

Dado o esforço de hiperprodução medular compensatória, qualquer factor que o impeça, geralmente uma infecção, provocará agravamento da anemia.

#### Crises de sequestração esplénica

Condicionam a acumulação maciça de sangue num baço muito aumentado de volume e sendo um risco de vida sobretudo em crianças pequenas.

#### Susceptibilidade às infecções

São vários os factores que interagem, tornando o indivíduo drepanocítico num alvo fácil para infecções muitas vezes graves e mortais.

#### Lesões de órgãos por agressão constante

#### Alteração do crescimento e do desenvolvimento corporal

### **Casos clínicos**

#### Casos clínicos – análise, interpretação e discussão

##### Caso Clínico 1

- Menino de raça negra, com 4 meses de idade;
- Terceiro filho de pais jovens, naturais de São Tomé e Príncipe;
- O primeiro filho do casal faleceu aos 5 meses;
- Aparentemente saudável até 15 dias antes do internamento, altura em que teve febre e tosse; desde aí ficou prostrado e progressivamente mais pálido.



Foram realizados diversos exames complementares de diagnóstico, nomeadamente um hemograma com os seguintes resultados:

- Hemoglobina – 4,6g/dL
- Nº Glóbulos vermelhos – 1.400.000/ $\mu$ L
- Nº Glóbulos brancos – 8.000/ $\mu$ L
- Nº Plaquetas – 156.000/ $\mu$ L
- Interpretação do hemograma
- Introdução do conceito de anemia

Para esclarecimento da situação foi efectuado um esfregaço de sangue periférico

- Técnica de realização de um esfregaço
- Observação de um esfregaço normal

#### **Questões:**

- (a) O que se espera encontrar no esfregaço realizado?
- (b) Tendo em conta as funções da hemoglobina no organismo, quais as consequências da sua diminuição?
- (c) Existe alguma relação possível entre o resultado do hemograma e o quadro clínico apresentado, ou serão independentes?

#### Caso clínico 2

- Menino de raça negra, com 18 meses, residente em Luanda;
- Desde os 12 meses que teve vários episódios de dores abdominais intensas e outros de grande prostração, que levaram a 4 internamentos em que fez transfusões de sangue;
- Veio ao Serviço de Urgência por apresentar dor e grande edema nas duas mãos;
- A hemoglobina era de 7,4g/dL.

#### Caso clínico 3

- Menino de raça negra, de 4 anos de idade, nascido em Luanda e residente em Lisboa;
- Teve, desde os 20 meses, 3 internamentos por pneumonia. Não tem necessitado de transfusões de sangue;
- Veio ao Serviço de Urgência por apresentar febre, grande palidez e prostração;
- Hemoglobina – 5,6g/dL.

#### Caso clínico 4

- Menina de 13 anos de idade, de raça caucasiana, natural e residente em Beja;

- Desde os 20 meses de idade, altura em que é feito o diagnóstico, tem internamentos frequentes por dores abdominais e sacrococcígeas. Necessita anualmente de uma transfusão de eritrócitos;
- Apresenta um aspecto de criança mais nova (cerca de 8 anos) e recorreu ao Serviço de Urgência por dores abdominais;
- Hemoglobina – 8,2g/dL.

### **Conclusões**

Se a terapêutica etiológica não é, de momento, acessível, o conhecimento da doença e de uma série de medidas profiláticas e de suporte permitem melhorar substancialmente a qualidade de vida e a sobrevida dos indivíduos com anemia de células falciformes.

Também o conhecimento da população em risco poderá, através do aconselhamento genético, diminuir a incidência da doença.

## XII SEMINÁRIO

### Tema: ETANOL, MEMBRANAS CELULARES, ALCOOLISMO

#### Subtemas:

- Metabolismo do etanol
- Efeitos do álcool no metabolismo hepatocitário

#### Intervenientes

Docente do Instituto de Bioquímica/FML:

– Dra. Teresa Quintão (Assistente convidada)

Docente convidado

– Dr. Miguel Raimundo (Assistente convidado de Biofísica; Assist. hospitalar de Gastreenterologia/HSM)

Alunos

- Ana Lúcia Pina (Aluna do 2º ano)
- Sandra Morgado (Aluna do 2º ano)

### METABOLISMO DO ETANOL

*Ana Lúcia Pina e Sandra Morgado*

O etanol é uma molécula que atravessa facilmente a membrana celular, pelo que o equilíbrio de concentrações entre o sangue e os tecidos é atingido rapidamente.

O etanol é absorvido através das mucosas da boca e esófago, estômago, cólon e a maior parte a nível da porção proximal do intestino delgado. A velocidade de absorção aumenta com o rápido esvaziamento gástrico e com a ausência de proteínas, lípidos ou hidratos de carbono que interfiram com a absorção.

O etanol pode ser excretado directamente pelos pulmões, urina e suor, mas a maior parte é metabolizado em acetaldeído pelo fígado.

Existem pelo menos duas vias metabólicas de metabolização do etanol:

- (a) A mais importante tem lugar no citosol. O etanol é oxidado em acetaldeído por acção da álcool-desidrogenase. O acetaldeído é depois

convertido em acetato (no citosol ou nas mitocôndrias) por acção da aldeído-desidrogenase. Cada uma destas reacções requer  $\text{NAD}^+$ , com aumento da relação  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$ .

- (b) Outra via tem lugar nos microsomas, do retículo endoplásmico liso. Neste são oxidados cerca de 10% do etanol, desde que se apresente em concentrações elevadas no sangue. A actividade deste sistema pode aumentar após exposição repetida ao etanol.

No homem a reacção catalisada pela álcool desidrogenase é irreversível. No entanto, no intestino existem microorganismos que podem produzir etanol, como produto final da glicólise. Este processo designa-se por fermentação alcoólica.

Os efeitos do álcool no comportamento humano dependem da dose de ingestão, do peso corporal, da rapidez com que aumenta a sua concentração no plasma, da presença de outras drogas, de doenças coexistentes e da habitação anterior. Alterações de comportamento, psicomotoras e cognitivas são observadas a níveis reduzidos de 20 a 30 mg/dL. A narcose (ou sono profundo) surge na maior parte das pessoas entre 160 e 200 mg/dL e a morte pode ocorrer entre 300 e 400 mg/dL.

O mecanismo de acção do etanol no tecido nervoso ainda não está completamente esclarecido; doses diminutas alteram os neurotransmissores e a fluidez das membranas celulares. Quando as células se adaptam à exposição crónica ao etanol, as alterações bioquímicas ou estruturais podem persistir durante várias semanas, de que resulta um estado de dependência celular do álcool.

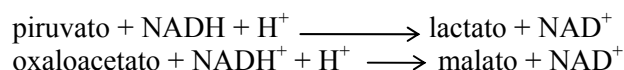
O etanol pode ser utilizado com fins terapêuticos em casos de intoxicação por etilenoglicol. Ao actuar por inibição competitiva da álcool-desidrogenase o etanol impede a metabolização do etilenoglicol em aldeído e, na sequência, em ácido oxálico, o qual pode lesar gravemente o rim.

## **EFEITO DO ÁLCOOL NO METABOLISMO HEPATOCITÁRIO**

*Teresa Quintão*

O álcool contido nas bebidas e consumido pelo homem provoca alterações metabólicas, interactua com as membranas biológicas, tem efeitos a nível de vários órgãos. Muitas das suas acções são ainda hoje mal compreendidas, apesar da ingestão desta substância ser muito remota na História.

A oxidação do etanol, ocorrendo principalmente a nível hepático, é um processo conhecido. Quando o etanol é oxidado ocorre produção de NADH, aumentando a relação  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$  citoplasmático. O excesso de NADH vai promover as reacções catalisadas pelas desidrogenases láctica e málica no sentido da produção de lactato e de malato.



O piruvato e o oxaloacetato são utilizados na célula para sintetizar glicose “de novo” (gliconeogénese). Uma vez que são consumidos nas reacções das desidrogenases já referidas deixam de estar disponíveis em concentrações suficientes para a gliconeogénese. Por outro lado, a gliconeogénese, assim como a  $\beta$ -oxidação, necessitam de  $\text{NAD}^+$ , que não está disponível.

No alcoólico que bebe durante muitas horas seguidas, geralmente sem ingestão alimentar, prevalece o consumo de glicogénio hepático, o que contribui para a ocorrência de hipoglicemia nestes indivíduos.

O alcoolismo acompanha-se muitas vezes de mal-nutrição, pois apesar do álcool conter cerca de 7 Kcal/g, as bebidas alcoólicas contêm quantidade negligenciável de vitaminas, oligoelementos e proteínas. A carência de tiamina é relativamente frequente. A tiamina é essencial para a actividade da piruvato desidrogenase.

O etanol ingerido é convertido em metabolitos intermediários do ciclo de Krebs que podem ser utilizados para produzir ATP. Quando o indivíduo pára de beber a concentração daqueles cetoácidos baixa, sendo necessária a activação da glicólise para assegurar a produção de ATP. A carência de tiamina limita a actividade da via das fosfopentoses, origina aumento da formação de lactato, e lesões cerebrais (Síndrome de Wernicke-Korsakoff).

## ETANOL, MEMBRANAS CELULARES, ALCOOLISMO

*Teresa Quintão*

### Objectivo

Aplicação de conhecimentos básicos em problemas clínicos, com destaque para os seguintes tópicos: Enzimologia, Metabolismo dos Glicídios, Membranologia, Respiração Mitocondrial.

### Metodologia

Com base em dois pequenos casos clínicos será feita a introdução aos problemas pretendidos, prevendo-se a colaboração dos alunos na tentativa de solução das questões colocadas. As dúvidas surgidas serão esclarecidas.

### Caso Clínico nº 1

Indivíduo do sexo masculino, 50 anos, apresentando hepatomegalia à observação clínica. Na colheita da história clínica há a ressaltar a existência

de hábitos alcoólicos diários de 2 litros de vinho ( $\pm$  200 g/dia). Foi-lhe efectuada uma biópsia hepática.

Relatório do exame anátomo-patológica do tecido hepático:

- a) tecido hepático com infiltração lipídica
- b) tecido hepático normal

Resultados laboratoriais (soro):

Aumento de actividade das enzimas transaminase glutâmica oxalacética (TGO), transaminase glutâmica-pirúvica (TGP),  $\gamma$ -glutamil transpeptidase ( $\gamma$ -GT) e colinesterase (ChE).

**Questões:**

- Como se explica esta alteração?
- Quais são as enzimas digestivas produzidas no pâncreas? Podem estar alteradas no indivíduo alcoólico?

Efeitos do etanol na membrana mitocondrial

Estudos efectuados experimentalmente para comparação da eficiência fosforilativa em ratos alcoólicos e não alcoólicos (por ingestão crónica de etanol). (Referência: W Thayer, *Effects of Ethanol on Proteins of Mitochondrial Membranes*. In: Alcohol and the cell, Annals of the New York Academy of Sciences, 1987; 492:193-206).

**Questões:**

- Interpretação, explicação e discussão dos resultados apresentados.

Caso Clínico nº 2

Um indivíduo conhecido pelos seus hábitos alcoólicos é transportado aos serviços de urgência, cheirando a álcool, após ter estado a beber durante mais de 24 horas. As análises efectuadas revelam hipoglicémia.

- a) Como explica a ocorrência de hipoglicémia no alcoolismo?
- b) Nesta situação ou noutra de causa não-alcoólica é a hipoglicémia que altera os níveis de insulina no sangue ou é causada por esta alteração?
- c) Existem ácidos gordos e corpos cetónicos em circulação?
- d) Qual é o órgão mais afectado pela hipoglicémia?
- e) É a hipoglicémia devida à diminuição do aporte de glicose ou ao aumento do seu consumo?

## DOENÇA HEPÁTICA ALCOÓLICA

*Miguel Raimundo*

A importância do alcoolismo em Portugal advém fundamentalmente da sua elevada frequência (pelo menos, 800 mil alcoólicos no nosso País), associada a uma morbidade e mortalidade significativas, abrangendo, além disso, uma população relativamente jovem.

A maior parte desta morbidade e mortalidade encontra-se relacionada com a doença hepática alcoólica, patologia muito frequente nas enfermarias de Medicina dos nossos hospitais (pelo menos 10% dos doentes internados).

A par desta importância no âmbito da Saúde Pública dois outros factores suscitam o interesse pela doença hepática alcoólica: por um lado a grande complexidade do seu quadro clínico, com uma miríade de manifestações multi-orgânicas, transformando-a numa das patologias sistémicas mais exigentes na área da Medicina Interna; por outro lado, apesar dos grandes avanços efectuados nas últimas décadas, continuam por decifrar inúmeros problemas daquela doença, nomeadamente nas áreas da patogénese e história natural.

Classicamente, a doença hepática alcoólica encontra-se dividida em três tipos diferentes de lesões: *o fígado gordo, a hepatite alcoólica e a cirrose hepática alcoólica*. Estas lesões frequentemente não se encontram isoladas, ou seja, cada doente apresenta, em maior ou menor grau, características próprias de cada uma delas.

De um modo sucinto iremos abordar algumas das alterações laboratoriais da hepatopatia alcoólica, com as consequências clínicas dela decorrentes:

- 1) Elevação das enzimas aminotransferases (transaminases),  $\gamma$ -glutamil transpeptidase e colinesterase;
- 2) Elevação da bilirrubinémia;
- 3) Hipoalbuminémia;
- 4) Deficiência dos factores da coagulação;
- 5) Anemia;
- 6) Elevação do amoníaco.

### XIII SEMINÁRIO

#### Tema: MECANISMOS DE CAQUEXIA TUMORAL

##### Subtemas:

- Caracterização da caquexia
- Alterações do metabolismo lipídico
- Alterações do metabolismo glicídico
- Alterações do metabolismo proteico

##### Intervenientes

Docente do Instituto de Bioquímica/FML:

- Dr. Carlos Moreira (Assistente convidado, Interno do Internato Complementar)

Docentes convidados

- Dra. Maria Rosário Rosa (Interno do Internato Complementar /HSM)
- Dra. Teresa Fonseca (Interno do Internato Complementar /HSM)
- Dra. Ana Paula Alcântara (Interno do Internato Complementar /HSM)

#### INTRODUÇÃO

*Carlos Moreira*

Tendo como introdução a apresentação de um Caso Clínico, serão abordados os vários aspectos do metabolismo que se relacionem com a situação clínica e exames complementares do doente. Será apresentada a integração das várias vias metabólicas e sistemas de controlo global. A situação será baseada no esquema de “problem-based approach”.

##### Caso Clínico

*Anamnese* – Doente com 55 anos de idade, sexo masculino, que recorreu ao Serviço de Urgência devido a tosse marcada e incapacidade de ingerir alimentos. Há dois anos refere o aparecimento de massa no quadrante supere externo direito do abdómen. Desde há três meses, astenia, anorexia e adinâmia, emagrecimento progressivo com fusão das massas musculares, diminuição do panículo adiposo e perda de peso (15Kg em 3 meses). Desde há



1 mês refere aparecimento de edemas maleolares e síncope. Operado a neoplasia renal. Peça cirúrgica com exame histológico.

*Exame Objectivo* – Doente lúcido colaborante, bem orientado no espaço e no tempo. Apirético. Redução marcada da prega cutânea. Pressão Arterial = 130/70 mmHg. Hepatomegalia de 4-5 cm, bordo rombo. Ligeira ascite. Muito emagrecido, com idade aparente superior à real.

*Resultados das análises de sangue:*

- pH de sangue arterial = 7,23 (V.R. = 7,35 ± 0,05)
- $\text{HCO}_3^-$  = 14 mEq/L (V.R. = 12-16mEq/L)
- Hb = 10,2 g/dL (V.R. = 13,0 ± 0.05 g/dL) com leucocitose e neutrofilia
- Aminotransferases: AST = 39 UI (V.R. <15 UI/L); ALT = 45 UI (V.R.<15 UI/L)
- Proteínas séricas = 5 g/L (V.R.= 6,5 ± 0,5 g/L) com:  
Hipoalbuminemia, hipergamaglobulinemia, hiperbetaglobulinemia.
- Lactato (sangue arterial) = 40 mg/dL (VR = 5-20mg/dL)
- Piruvato (sangue arterial) = 5mg/dL (VR = 0,3-0,9mg/dL)

*Resultados dos exames imagiológicos:*

- RX tórax – Discussão
- RX tórax com contraste (fístula esofagobrônquica esquerda; coração pequeno).
- Ecografia abdominal (fígado metastático, mas de reduzidas dimensões).
- TAC-abdominal e torácica (metástases pulmonares e hepáticas).

*Análise e interpretação preliminar do caso*

## **METABOLISMO LIPÍDICO E CAQUEXIA**

*Maria Rosário Rosa*

### **Introdução**

A caquexia é uma situação clínica caracterizada pela presença de um emagrecimento progressivo, anorexia, astenia e alterações no metabolismo dos vários nutrientes, cuja etiologia não está, ainda, bem esclarecida, mas que se associa habitualmente a doenças crónicas, particularmente neoplasias e certas doenças infecciosas (caso da síndrome de imunodeficiência adquirida).

Na caquexia verificam-se alterações metabólicas ao nível dos vários compartimentos do organismo – líquido extracelular, tecido adiposo e massa celular – que conduzem a um predomínio dos fenómenos catabólicos e à

perda da massa corporal. Verifica-se, inicialmente, uma tendência para expansão do líquido extracelular e um conseqüente ganho de peso, à custa de uma retenção inicial de sódio. Posteriormente assiste-se a uma depleção progressiva, mais ou menos rápida, do tecido adiposo e da massa celular.

Num indivíduo em caquexia há balanço energético negativo de causa (provavelmente) multifactorial e ainda não totalmente esclarecida, mas para o qual se pensa poderem contribuir:

- Diminuição do apetite e a conseqüente diminuição da ingestão alimentar ou, pelo menos, manutenção da quantidade ingerida face a aumento das necessidades calóricas;
- Actividade metabólica da massa tumoral, em “competição” com o hospedeiro pelos recursos energéticos;
- Excessiva utilização pelas células neoplásicas de vias metabólicas “esbanjadoras” de energia – ciclo de Cori? gliconeogénese?
- Produção de substâncias solúveis pelo tumor e/ou pelo hospedeiro – citocinas – capazes de influenciar e modular as diversas vias metabólicas e de elas próprias interferirem com os mecanismos anteriormente referidos.

A produção de citocinas pelo tumor ou como resposta corporal à presença das células tumorais é, provavelmente, o factor mais importante na manutenção deste balanço energético negativo, já que se tem demonstrado a importância reduzida dos restantes mecanismos.

#### Alterações do Metabolismo Lipídico na Caquexia

Experiências em animais com doença neoplásica e caquexia, posteriormente confirmadas na espécie humana, demonstraram a presença, no sangue e na urina, de substâncias com acção catabólica, capazes de induzir a degradação das reservas lipídicas. Comparativamente, grupos de controlo submetidos a jejum ou com tumores indutores de anorexia, mas não de caquexia, não evidenciavam qualquer factor lipolítico idêntico ao isolado.

Outros estudos confirmam estes resultados ao verificarem, em modelos animais, que na caquexia não há alterações significativas em relação à absorção intestinal dos lípidos; em contraste aumenta a utilização dos lípidos do tecido adiposo e a sua oxidação. Este aumento da oxidação lipídica, sugerindo o acentuar das necessidades energéticas, não é compensado por aumento do aporte ou da síntese, levando a défice energético e à diminuição progressiva do peso corporal.

Várias substâncias têm sido propostas como responsáveis por aquele aumento da actividade lipolítica, das quais o factor de necrose tumoral (TNF) tem merecido especial atenção, ao reproduzir algumas das manifestações associadas à caquexia.

Em relação ao metabolismo lipídico, o TNF é capaz de aumentar a actividade de lipases, habitualmente activadas por hormonas de resposta ao “stress”, aumentando a capacidade de mobilização de ácidos gordos a partir dos triglicéridos armazenados no tecido adiposo. Igualmente pode inibir a expressão das enzimas intervenientes no processo de síntese de ácidos gordos (caso do complexo da sintetase dos ácidos gordos e da acetil-CoA carboxilase).

Mais importante pode ser a sua acção sobre a actividade da enzima lipoproteína lipase (LPL). A lipoproteína lipase é uma enzima da superfície das células endoteliais dos capilares, responsável pela libertação dos triglicéridos das lipoproteínas circulantes (quilomicra ou VLDL), sendo essencial para a sua mobilização do sangue para os adipocitos. Parece ter acção central nas alterações metabólicas detectadas nos indivíduos em caquexia por doença neoplásica, já que se verifica diminuição da sua actividade e libertação (induzida pelo TNF), correlacionável com a perda de gordura corporal.

A inibição da LPL, levando à menor utilização dos lípidos pelos tecidos, é um dos mecanismos responsáveis pelo aumento dos níveis de lípidos (nomeadamente triglicéridos) em circulação, anteriormente identificada como uma das alterações características na caquexia.

### **Resumo**

Nos indivíduos com caquexia secundária, a doença neoplásica a perda de peso corporal relaciona-se com alterações profundas no metabolismo dos diversos nutrientes, as quais estarão em grande parte na dependência de factores humorais produzidos pelo tumor e/ou pelo hospedeiro.

Como característica principal destaca-se um balanço energético negativo, com aumento da actividade lipolítica associada à diminuição da síntese de lípidos, de que resulta uma depleção progressiva das reservas do tecido adiposo do hospedeiro. A acção de diversas citocinas, nomeadamente o TNF, parece ter acção relevante, nomeadamente através da provável inibição da actividade da LPL.

Clinicamente, as alterações metabólicas traduzem-se, para além da diminuição da massa do tecido adiposo, por aumento dos níveis de lípidos (em especial dos triglicéridos circulantes).

## **CAQUEXIA – METABOLISMO DOS HIDRATOS DE CARBONO**

*Teresa Fonseca*

A caquexia (do grego *kakos*, que significa mau, e *hexis*, modo de estar), é uma síndrome que foi descrita na Antiguidade. A sua fisiopatologia tem fascinado inúmeros investigadores. Representa uma constelação de anoma-

lias nutricionais associadas a doenças crónicas, em particular neoplasias, infecções, cardiopatias ou traumatismos graves.

Trata-se de uma situação frequente, encontrando-se na maioria dos doentes neoplásicos em determinado momento da sua doença. É tão comum que cerca de 50% destes doentes têm já sintomas e sinais de caquexia quando a doença é diagnosticada.

Os componentes da caquexia incluem perda de peso, fraqueza, anorexia, anemia e anomalias do metabolismo das proteínas, lípidos e hidratos de carbono.

O estado de inanição pode influenciar significativamente o prognóstico da doença: pior resposta à terapêutica, imunossupressão com aumento de infecções intercorrentes, maior dificuldade na reparação tecidual, prolongamento do acamamento e da convalescença, podendo mesmo constituir a causa imediata de morte (uma vez que uma perda da massa corporal de cerca de 33% da ideal para um dado indivíduo pode ser fatal).

A anorexia é considerada um elemento fundamental na síndrome da caquexia. Esta é uma situação em que os gastos de energia são maiores que os aportes de nutrientes. A maioria dos autores afirma que existe hipermetabolismo com hipofagia relativa, originando balanço energético negativo e emagrecimento. Constata-se curiosamente que as medidas empregues para forçar a nutrição, inclusivé o emprego da alimentação parentérica total, não conseguem reverter este processo.

Na fisiopatologia da caquexia estarão envolvidos mediadores imunológicos produzidos pelo próprio doente (em resposta ao tumor ou outra situação de patologia crónica grave) que, por sua vez, originariam uma série de alterações complexas e interrelacionadas, conducentes à anorexia e a múltiplas alterações metabólicas típicas da caquexia.

Na caquexia o metabolismo dos hidratos de carbono está alterado em diversos pontos:

### *1. Aumento do consumo de glicose*

Fundamentalmente existe aumento do consumo de glicose, atribuído ao próprio tumor no caso das doenças neoplásicas (está provado que alguns tumores como os sarcomas são consumidores ávidos de glicose), mas também ao metabolismo do doente, como tem sido demonstrado em estudos em animais e humanos.

### *2. Aumento da glicogenólise*

O aumento do consumo de glicose condiciona a diminuição das reservas corporais de hidratos de carbono, ou seja uma diminuição da massa de glicogénio, por estimulação da glicogenólise.

### *3. Aumento da gliconeogénese*

O excessivo consumo de glicose induz também a estimulação do processo de gliconeogénese, com produção hepática (e renal) de glicose a partir de lactato e de outras fontes não-glicídicas.

### *4. Aumento da produção de lactato*

Experiências feitas em animais e seres humanos têm mostrado que os tumores consomem avidamente glicose por glicólise anaeróbia, com aumento de produção de lactato e consequente acidose metabólica.

### *5. Aumento da actividade do ciclo de Cori*

O excesso de lactato vai condicionar o aumento do ciclo de Cori ou da glicose-lactato, pelo qual o lactato é transformado em piruvato e, posteriormente em glicose, que volta a estar disponível para a circulação sanguínea e utilização pelos tecidos extra-hepáticos. Em 1968, Gold considerava o aumento da gliconeogénese e da actividade do ciclo de Cori os principais factores responsáveis pelo balanço energético negativo que leva à caquexia.

### *6. Resistência à insulina*

Pode definir-se resistência à insulina como a incapacidade de resposta dos tecidos à acção habitual da insulina sobre a captação de glicose pelas células do músculo e tecido adiposo, designadamente. A resistência à insulina tende a piorar com a progressão do tumor, podendo conduzir a uma situação de diabetes mellitus.

Há algumas referências recentes à melhoria do quadro da caquexia com o uso terapêutico da insulina, no suporte nutricional destes doentes, ultrapassando-se em parte a resistência à insulina, com aumento da massa muscular e da gordura corporal sem actuar na quantidade de alimento ingerido.

## **CAQUEXIA – ALTERAÇÕES DO METABOLISMO PROTEICO**

*Ana Paula Alcântara*

A caquexia é caracterizada por progressiva perda de peso e catabolismo aumentado, principalmente do músculo e tecido adiposo, sendo uma importante causa de morte no doente oncológico, o qual terá também pior resposta ao tratamento da sua neoplasia.

A caquexia está relacionada com o cancro e afecta todos os doentes na fase terminal da doença. As causas da caquexia não são bem conhecidas, mas parecem ser multifactoriais. Adicionando-se à diminuição da ingestão (anorexia), são observadas alterações metabólicas. Estas alterações, compa-

ráveis às encontradas durante a sepsis e trauma, são contudo diferentes das que se verificam durante períodos prolongados de jejum. Um facto constante nos estudos metabólicos dos doentes com neoplasias é a grande variação inter-individual das respostas à terapêutica parentérica total, mesmo entre doentes com neoplasias e estádios comparáveis. Assim, a caquexia é um importante factor prognóstico no doente oncológico, sendo também um factor limitante das opções terapêuticas. Por estes motivos é importante compreender a patogenia da caquexia, pois para além de permitir um aumento da qualidade de vida dos doentes, possivelmente permitirá uma maior sobrevivência.

Foram demonstradas múltiplas alterações no metabolismo energético, proteico, lipídico e dos hidratos de carbono em indivíduos portadores de neoplasias malignas. Um aumento dos gastos energéticos basais e um ineficiente uso da energia são frequentemente apontados como causas da malnutrição do doente oncológico. A resposta normal à diminuição de ingestão calórica é uma redução do metabolismo basal; o metabolismo basal (ou gasto energético em repouso) consiste no total de energia mínima necessária para manter as funções vegetativas, a qual corresponde a 75% do total dos gastos energéticos no indivíduo normal. No doente oncológico, os gastos energéticos em repouso aumentam em paralelo com a diminuição da ingestão e com o avanço da doença. Contudo, estas alterações do metabolismo basal não são uniformes em todos os doentes, parecendo depender do tipo de tumor. O ineficiente uso da energia foi demonstrado por vários investigadores; sendo um aumento da actividade do ciclo de Cori um dos principais responsáveis pelas perdas energéticas. Nesta via metabólica a glicose muscular é convertida em lactato; esta substância é, por sua vez, reconvertida em glicose no fígado, à custa de grandes gastos energéticos.

Havendo necessidades energéticas aumentadas é necessário activar as vias metabólicas produtoras de energia. Uma das fontes de energia é a das proteínas; no doente oncológico há aumento do “turnover” proteico. No entanto, o aumento da síntese e degradação das proteínas também resulta em importantes perdas energéticas, por deficiência da adaptação metabólica à insuficiente ingestão proteico-calórica. Nos primeiros dois dias de jejum há depleção total do glicogénio armazenado no músculo e no fígado. Daqui resulta o recurso à degradação proteica e activação da gliconeogénese hepática para obtenção de glicose, indispensável às células do cérebro e de outros tecidos estritamente dependentes daquele monossacárido. No indivíduo não canceroso, a degradação das proteínas musculares é gradualmente substituída pela utilização de energia através da lipólise, com conversão dos ácidos gordos em corpos cetónicos. Estes são usados como fonte energética nos tecidos periféricos. O tecido cerebral também começa a utilizar progressivamente os corpos cetónicos como fonte energética, os quais podem cobrir até 95% das suas necessidades energéticas. O conjunto destes mecanismos

resulta numa diminuição do uso de glicose e, conseqüentemente, na poupança das proteínas musculares. Estes mecanismos adaptativos falham no doente oncológico, persistindo o consumo das proteínas musculares.

No portador de neoplasia maligna, o balanço de produtos azotados é negativo, tendo sido demonstrado (clínica e experimentalmente) consumo de aminoácidos por células tumorais. Assim, existe catabolismo proteico aumentado e síntese proteico diminuída nas mesmas células musculares.

Embora o tumor induza consumo proteico e gastos exagerados de energia, o próprio tecido tumoral pode regular a sua própria degradação proteica. Foi demonstrado que, a par da degradação aumentada das proteínas musculares e viscerais, a síntese proteica está aumentada a nível hepático. Paradoxalmente, existe hipoalbuminémia, o que poderá dever-se principalmente, a duas causas principais:

- a) diminuição relativa (para compensar o aumento relativo de síntese de proteínas de fase aguda – proteínas importantes para a defesa do hospedeiro – ou para conversão em glicose, e/ou eventualmente, proteínas que são consumidas pelo tecido tumoral para obtenção de aminoácidos essenciais);
- b) aumento da quantidade de água corporal total no doente caquético (este aumento da água corporal é superior ao aumento da síntese de albumina, o que leva a uma hipoalbuminémia relativa). A perda das reservas proteicas pode levar à morte a partir do momento em que esteja reduzida a quantidade crítica de massa proteica.

Em resumo, múltiplos factores, inerentes ao hospedeiro e ao próprio tumor, contribuem para a caquexia, a qual se caracteriza por um conjunto de alterações metabólicas. A nível do metabolismo proteico estas caracterizam-se por diminuição da massa muscular e da síntese proteica muscular, balanço negativo dos produtos azotados, e aumento da degradação das proteínas musculares, da síntese proteica hepática e da síntese proteica global, ocorrendo estes fenómenos à custa de grandes dispêndio de energia. Clinicamente, estas alterações manifestam-se por atrofia muscular e miopatia, atrofia dos órgãos viscerais e hipoalbuminémia.

## XIV SEMINÁRIOS

### Tema: ATEROSCLEROSE E HIPERLIPIDEMIAS

#### Subtemas:

- Lesões ateroscleróticas
- Aspectos bioquímicos das lipoproteínas e lipidémias
- Abordagem cirúrgica da obstrução aterosclerótica

#### Intervenientes

Docente do Instituto de Bioquímica/FML:

- Dr. João Paulo Guimarães (Assistente convidado, Interno do Internato de Cirurgia Vasculard)

Docentes convidados:

- Dra. Maria José Ferreira (Interno do Internato Cirurgia Vasculard /HSM)
- Dr. Peixoto Menezes (Assessor de Anat. Patológica /HSM)

Aluna:

- Isabel Goulão

### LESÕES ATEROSCLERÓTICAS

*Peixoto de Meneses*

A aterosclerose é uma doença complexa, de natureza multifactorial. Constitui a doença mais frequente dos grandes vasos, sendo responsável por síndromes de isquemia dos órgãos vitais do organismo humano. É por isso, a principal causa de morbilidade e mortalidade na Europa, Estados Unidos da América e Japão.

A deposição de lípidos e proteínas na íntima da aorta constitui, provavelmente, um dos estadios iniciais da doença. Numa fase ulterior, a proliferação de diferentes elementos celulares da íntima e a neoformação de colagénio vão conduzir ao estabelecimento de lesões irreversíveis e progressivas. A lesão fundamental da doença constituída denomina-se placa de ateroma e tem, como localização preferencial, áreas onde a tortuosidade dos vasos e a



turbulência do fluxo sanguíneo são mais elevados. A artéria aorta é a localização mais frequente, seguindo-se as coronárias, cerebrais e as artérias dos membros inferiores.

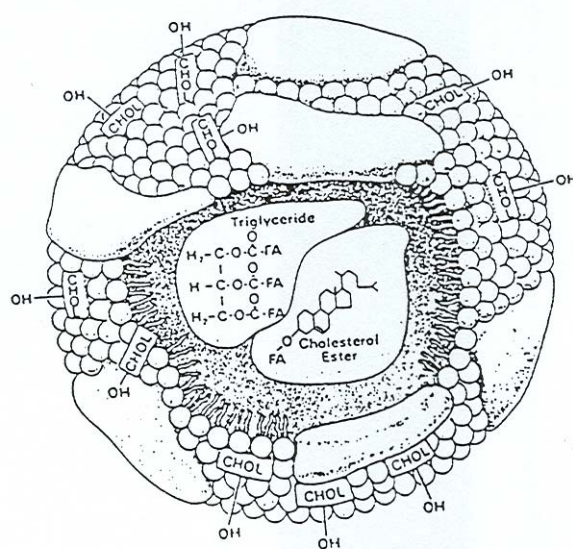
São bem conhecidos os aspectos microscópicos (histologia) dos diferentes estádios de formação das placas de ateroma. A placa de ateroma “clássica” é formada por um núcleo contendo restos de diferentes elementos derivados do sangue, cristais de colesterol, células esponjosas, células musculares lisas, rodeados por tecido fibroso. A estrutura microscópica das placas apresenta variações consideráveis numa mesma artéria. Embora a aterosclerose seja, primariamente, uma doença da íntima, a camada média é frequentemente sede de lesões secundárias. As placas podem, em consequência de diferentes alterações hemodinâmicas e outras, tornar-se instáveis e ocasionar a oclusão súbita dos vasos.

Desde o século passado têm sido postuladas diferentes hipóteses acerca da etiologia e significado da aterosclerose. É consensual a noção de que a aterosclerose é uma doença em cuja génese concorrem múltiplos factores, dependentes quer do hospedeiro quer do meio. Alguns autores sustentam que as lesões de aterosclerose representam a expressão de um mecanismo de defesa da parede arterial a diferentes tipos de agressão. Da natureza e intensidade dessa agressão poderia resultar a exacerbação dessa reacção e a sua constituição em doença.

## **ASPECTOS BIOQUÍMICOS**

*João Paulo Guimarães*

O metabolismo dos lípidos é um fenómeno complexo. Devido ao facto de serem moléculas hidrofóbicas, o seu transporte no plasma é realizado por complexos macromoleculares chamados lipoproteínas (Fig. 1), que são partículas esféricas, contendo no seu interior centenas de moléculas hidrofóbicas (triglicéridos e ésteres de colesterol), envolvidas por uma monocamada de lípidos polares (fosfolípidos, colesterol) e proteínas (neste caso denominadas apoproteínas).



**Fig. 1** – Esquema de uma lipoproteína

Utilizando métodos como a ultracentrifugação e a electroforese é possível separar as lipoproteínas plasmáticas em várias subclasses. Cada um dos tipos de lipoproteínas tem conteúdo, apoproteínas e funções distintas (Quadro I).

Os quilomicra são as lipoproteínas de menor densidade. São sintetizadas nos enterócitos e transportam lípidos absorvidos da dieta. São libertados para os vasos linfáticos intestinais e, posteriormente, lançados na circulação sanguínea pelo canal torácico. Contêm predominantemente triglicéridos, que cedem aos tecidos periféricos após acção da lipoproteína lipase (activada pela apoproteína C-2), presente na parede dos capilares do tecido adiposo, mama e músculos; após a libertação de grande parte dos triglicéridos, na lipoproteína passa a predominar o colesterol, transformando-se em quilomicra remanescente, que é captado pelo fígado.

As lipoproteínas de muito baixa densidade (*very low density lipoproteins*: VLDL) são produzidas no fígado e contêm triglicéridos (quer os endógenos sintetizados pelo próprio fígado, quer triacilgliceróis da dieta aí armazenados). Nas VLDL existe também uma pequena quantidade de colesterol. Os triglicéridos das VLDL são essencialmente captados pelo tecido adiposo, após hidrólise por acção da lipoproteína lipase. Em virtude de serem gradualmente cedidos triglicéridos, aumenta a percentagem relativa de colesterol, e as VLDL dão origem às IDL (*intermediate density lipoproteins*), lipoproteínas de densidade intermédia. Parte destas é recaptada pelo fígado, as restantes continuam a ceder triglicéridos e transformam-se em lipoproteínas de baixa densidade (LDL: *low density lipoproteins*).

**Quadro I** – Classes de lipoproteínas

Lipoproteína	Conteúdo	Apoproteínas	Mecanismo de libertação do conteúdo
Quilomicra	triacilgliceróis da dieta (exógenos)	A-1, A-2, A-4, B-48	Hidrólise pela lipoproteína lipase
Quilomicra remanescente	colesterol da dieta	B-48, E	Endocitose mediada por receptores (fígado)
VLDL	triacilgliceróis endógenos	B-100, C, E	Hidrólise pela lipoproteína lipase
IDL	colesterol endógeno	B-100, E	
LDL		B-100	
HDL		A-1, A-2	

As LDL contêm predominantemente colesterol, sob a forma livre e esterificada. As LDL são internalizadas por um mecanismo de endocitose, após ligação a receptores para a apoproteína B-100, e todo o seu conteúdo vai ser libertado por acção das enzimas dos lisossomas.

As HDL têm origem diversa, sendo a sua estrutura básica (contém apoproteína A-I) sintetizada no fígado e no intestino. Contém LCAT (lecitina-colesterol aciltransferase), que catalisa a esterificação de fosfatidilcolina com colesterol, que a HDL capta dos tecidos periféricos. O colesterol das HDL é, na sua maior parte, cedido ao fígado.

As alterações neste intrincado sistema de transporte de lípidos causam diminuição ou ausência de determinados tipos de lipoproteínas (hipolipoproteinemias), ou (o que é mais frequente) excesso de certas classes de lipoproteínas. A classificação das hiperlipoproteinemias (estabelecida pela OMS) deriva directamente da classificação de Fredrickson. Os diferentes tipos de hiperlipoproteinemias distinguem-se uns dos outros pela classe (ou classes) de lipoproteínas que está aumentada (Quadro II).

**Quadro II** – Tipos de hiperlipidemias (Classificação da OMS/Fredrickson)

Tipo	Colesterol plasmático	LDL-colesterol	Triglicérido sérico
I	aumentado	normal ou baixo	aumentado
IIa	normal ou aumentado	aumentado	normal
IIb	aumentado	aumentado	aumentado
III	aumentado	normal ou baixo	aumentado
IV	normal ou aumentado	normal	aumentado
V	aumentado	normal	aumentado

Na hipercolesterolemia familiar, que resulta de um defeito dos receptores das LDL, estas vão estar mais elevadas no soro por não serem eficazmente internalizadas. Esta doença constitui factor de risco importante para o

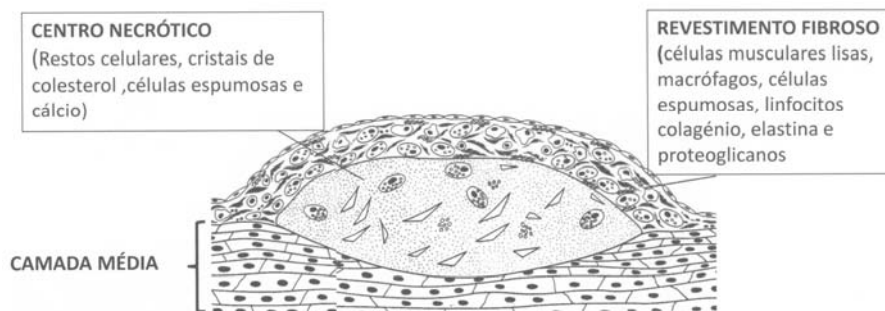
desenvolvimento de aterosclerose. De facto, um indivíduo homozigótico não tratado desenvolve aterosclerose precocemente, sendo comum morrer vítima de enfarte agudo do miocárdio antes dos 30 anos. Além de placas ateromatosas nas artérias coronárias dá-se acumulação de depósitos lipídicos no limbo esclerocorneano (arcus corneano), nas pálpebras (xantelasma) e nas bainhas dos tendões (em especial dos extensores), onde se designam por xantomias.

A hipertrigliceridemia familiar pode resultar de vários defeitos, e os indivíduos afectados podem ter fenótipos englobáveis nos tipos IV e V da classificação da OMS. A natureza do defeito em causa não está ainda completamente esclarecida. Nestes indivíduos há produção de partículas de VLDL anormalmente grandes, captação diminuída dos triglicéridos pelo tecido adiposo, e diminuição na proporção de partículas de VLDL que vão originar LDL. Estes doentes apresentam também deposição lipídica a nível da pele (xantomias, de tipo eruptivo) e retina (lipemia retinalis). O risco de cardiopatia isquémica parece não estar aumentado em relação à população em geral. Há contudo maior frequência de pancreatite.

A formação de placas de ateroma de conteúdo fibro-lipídico é a lesão característica da aterosclerose (Fig. 2). Esta entidade é uma doença multifactorial (causada por múltiplos factores que interagem entre si e cujos efeitos se adicionam ou potenciam para facilitar o aparecimento da doença). Os principais factores de risco são a hipertensão arterial, as dislipidemias, a diabetes mellitus e certos hábitos (tabagismo), além de factores relacionados com a dieta e hereditariedade.

As lesões ateroscleróticas provocam doença por a sua progressão causar estreitamento do lume arterial (com conseqüente isquemia dos territórios distais), formação de trombos (com a possibilidade de embolização), calcificação do vaso, e enfraquecimento da camada muscular lisa, podendo dar origem a aneurismas (dilatações saculares das artérias).

A formação da placa de ateroma parece ser devida à interacção de factores agressores das células endoteliais (condições hemodinâmicas como fluxo turbulento ou hipertensão arterial, bioquímicas como as dislipidemias ou o monóxido de carbono provocado pelo consumo de tabaco) e de factores associados a elementos do sangue (glóbulos brancos, em especial os monócitos, e plaquetas).



**Fig. 2** – Esquema de uma placa de ateroma

A lesão endotelial leva à aderência de plaquetas à parede do vaso, e estes elementos sanguíneos libertam PDGF (*platelet-derived growth factor*), um factor de crescimento que induz a proliferação de células musculares lisas e macrófagos (células derivadas dos monócitos do sangue), que acumulam lípidos e se transformam em células esponjosas (*foam cells*). Os lípidos acumulados pelas “*foam cells*” são exógenos e não sintetizados nessas mesmas células, e o colesterol que lá se encontra acumulado chegou via LDL. As LDL, em especial as LDL oxidadas, são um dos principais factores de risco. Da mesma forma, níveis aumentados de HDL constituem um factor protector (pois transportam o colesterol mobilizado dos tecidos periféricos).

As lesões ateroscleróticas, antes consideradas irreversíveis, são actualmente consideradas lesões passíveis de regressão, pelo menos parcial. Múltiplos os estudos prospectivos que confirmam essa possibilidade, pelo menos do ponto de vista epidemiológico e radiológico (arteriografia coronária).

## A ABORDAGEM CIRÚRGICA

*Maria José Ferreira*

A aterosclerose é uma doença sistémica com deposição localizada de placas de ateroma em vários locais da árvore arterial.

As manifestações clínicas da aterosclerose ocorrem quando os mecanismos adaptativos e de compensação falham e complicações como a estenose, a ulceração, a embolização e a trombose ocorrem.

As localizações preferenciais da aterosclerose são as artérias coronárias, a bifurcação carotídea, a aorta abdominal infra-renal e as artérias dos membros inferiores.

No sector coronário as placas ateroscleróticas podem condicionar estenose ou oclusão, com limitação da perfusão do miocárdio. A oxigenação

inadequada pode causar distúrbios transitórios da função mecânica, bioquímica e eléctrica do miocárdio.

A isquemia transitória provoca *angor pectoris* (angina de peito). Quando se prolonga pode dar origem a necrose e cicatrização miocárdica, com ou sem o quadro clínico de enfarte agudo do miocárdio.

A aterosclerose coronária é um processo focal que causa isquemia irregular, que, ao repercutir-se sobre a contractilidade do miocárdio, pode reduzir a eficiência da função da bomba miocárdica.

A isquemia também altera as propriedades eléctricas do miocárdio, podendo ser observadas alterações electrocardiográficas revelando anomalias da repolarização ou instabilidade eléctrica, o aparecimento de taquicardia ou fibrilhação ventricular. A maioria dos casos de morte súbita por cardiopatia isquémica deve-se a arritmias ventriculares importantes induzidas pela isquemia.

A nível carotídeo, as placas ateroscleróticas além de poderem provocar estenose ou oclusão, com a consequente diminuição da perfusão cerebral, podem também dar origem a fenómenos embólicos. Como manifestações clínicas observam-se disfunções cerebrais focais, cuja duração dos sintomas e a sua reversibilidade permite distinguir dois tipos de situações: os AIT (acidentes isquémicos transitórios) e os AVC (acidentes vasculares cerebrais). Os AIT são disfunções cerebrais focais de duração inferior a 24 horas e em que os sintomas são reversíveis, enquanto os AVC tem duração superior a 24 horas e deixam sequelas neurológicas. A isquemia crónica dos membros inferiores apresenta-se clinicamente com sintomas que vão desde a claudicação minor à gangrena extensa. O tratamento cirúrgico destas situações está justificado desde que a cirurgia altere a história natural da doença, melhore a qualidade de vida do doente e represente uma alternativa terapêutica segura e mais eficaz que o tratamento médico. Alternativas cirúrgicas que consistem na remoção das lesões através da endarterectomia, ultrapassando-as por intermédio de *bypass* ou na dilatação por métodos endovasculares. A técnica é escolhida de acordo com o tipo, a extensão e a localização das lesões; com a gravidade dos sintomas e com o estado geral do doente.

## GLOSSÁRIO

*Angor pectoris*: dor súbita na região pré-cordial devida a isquemia do miocárdio.

*Arritmia*: alteração da cadência normal dos batimentos cardíacos.

*Bypass*: técnica cirúrgica que permite substituir o segmento de vaso lesado por um enxerto (por exemplo de veia safena) ou por uma prótese, restaurando a circulação.

*Cardiopatia isquémica*: patologia cardíaca provocada por deficiente oxigenação do miocárdio.

*Claudicação*: dificuldade momentânea de deambulação, conseqüente a insuficiência temporária da irrigação sanguínea dos músculos dos membros inferiores.

*Disfunções cerebrais focais*: sinais e sintomas que traduzem lesões cerebrais localizadas em territórios específicos, uma lesão cerebral difusa provocada por uma encefalite ou hipoglicemia, por exemplo provoca um quadro clínico de coma (comprometimento global das funções cerebrais), por oposição, uma lesão focal, por exemplo a nível occipital (área da visão) provoca “apenas” alterações da visão, sem comprometimento de outras funções.

*Doença sistémica*: patologia que compromete múltiplos órgãos e sistemas.

*Electrocardiograma*: registo gráfico das correntes eléctricas produzidas pela actividade cardíaca.

*Êmbolo*: coágulo (trombo) ou qualquer outro móvel que seja transportado pela circulação, e que pelas suas grandes dimensões fique encravado nas arteríolas ou nos capilares, obstruindo o fluxo.

*Endarterectomia*: técnica cirúrgica para remover lesões ateroscleróticas e restaurar a permeabilidade do vaso.

*Estenose*: redução do calibre de um vaso ou órgão oco.

*Etiologia*: factor ou factores que contribuem para a génese de uma doença.

*Fibrilhação ventricular*: um dos tipos de arritmia cardíaca caracterizada por descoordenação total do processo de contracção dos ventrículos, que se tornam incapazes de bombear o sangue, provocando quase sempre a morte, se não for revertida.

*Gangrena*: grave processo de degenerescência que termina na morte dos tecidos orgânicos, provocada por deficiente irrigação sanguínea e/ou algumas infecções.

*Hemodinâmica*: estudo das propriedades físicas do sangue (por exemplo pressão arterial).

*Íntima*: túnica interior da parede das artérias e veias, constituída por uma camada de células endoteliais que asseguram uma superfície lisa, reduzindo o atrito à passagem da corrente sanguínea.

*Isquemia*: diminuição do afluxo de sangue a um órgão ou tecido, provocando sofrimento celular por falta de oxigénio e nutrientes.

*Média*: túnica média da parede das artérias e veias, constituída por uma mistura de células musculares lisas, colagénio, elastina e proteoglicanos.

*Necrose*: morte celular.

*Repolarização*: tradução electrocardiográfica da actividade eléctrica de uma fase do ciclo cardíaco, correspondendo à fase de relaxamento dos ventrículos (diastole).

*Síndrome*: conjunto de sinais e sintomas.

*Taquicardia*: aumento do número de batimentos cardíacos por minuto.

*Trombose*: activação dos mecanismos de coagulação do sangue dentro de um vaso, provocando a formação de um coágulo (trombo) aderente à parede arterial.

*Ulceração*: alteração da integridade da pele, mucosa ou vaso sanguíneo.

*Palavras-chave*

Acidente vascular cerebral (AVC), arteriopatía obstrutiva dos membros inferiores (AOMI), aterosclerose, colesterol, dieta, dislipidemia, enfarte agudo do miocárdio (EAM), factor de risco, hidroximetilglutaril-CoA redutase, isquemia, lipoproteína, placa de ateroma, prevenção, trombose.



## XVIII SEMINÁRIO

### Tema: ISQUÊMIA DO MIOCÁRDIO

#### Subtemas:

- Metabolismo do miocárdio
- Efeitos da isquémia no metabolismo do miocárdio

#### Intervenientes

Docentes Convidados:

- Dra. Gabriela Pereira (Monitora de Bioquímica, Interna do Internato Geral/HSM)
- Dra. Paula Mota (Interna do Internato Complementar de Cardiologia/HSM)

Docente do Instituto de Bioquímica/FML:

- Dr. José Loureiro (Assistente. convidado do Instituto de Bioquímica e Interno do Internato Complementar de Cardiologia/HSM))

### PARTICULARIDADES DO METABOLISMO DA CÉLULA MIOCÁRDICA

*Gabriela Pereira*

O coração é um órgão que pode ser considerado como duas “bombas” separadas – a direita que envia o sangue para os pulmões e a esquerda que o envia para os órgãos periféricos. Por sua vez, em cada uma delas encontramos uma aurícula e um ventrículo que se contraem e relaxam sequencialmente para impulsionarem o sangue.

O intervalo entre o fim de uma contração e o início da seguinte é designado ciclo cardíaco. Neste ciclo existem uma fase de relaxamento – diástole – e um período de contração – sístole.

O débito cardíaco consiste no número de litros de sangue bombeados pelo coração em cada minuto; em repouso oscila entre 4 – 6 L/min e durante o exercício físico pode aumentar até cerca de 7 vezes este valor.

O músculo cardíaco é irrigado por duas artérias coronárias que têm origem no início da artéria aorta ascendente. Durante a diástole, quando a válvula aórtica está encerrada, a pressão diastólica aórtica transmite-se sem

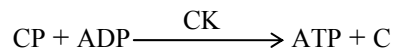
impedimentos, através dos seios de Valsalva, para as artérias coronárias. O arco aórtico e os seios de Valsalva funcionam como um pequeno reservatório que permite a manutenção de um fluxo coronário relativamente uniforme durante esta fase do ciclo cardíaco.

As necessidades energéticas do miocárdio e a sua dependência em relação à concentração de ATP condicionam algumas particularidades do seu metabolismo:

- 1) É o maior consumidor de oxigénio por grama de tecido (com extracção máxima de oxigénio a partir do sangue arterial, mesmo em repouso);
- 2) Tem uma grande adaptação estrutural ao metabolismo aeróbico (grande concentração de mioglobina e elevado número de mitocôndrias);
- 3) Dado que, mesmo em situações de repouso, a extracção de oxigénio já está no seu máximo, o aumento das necessidades energéticas só pode ser compensado com o aumento do fluxo coronário conseguido pela vasodilatação (aumentando o fornecimento de oxigénio e de substratos para a produção de ATP).

O consumo de oxigénio pelo músculo cardíaco varia sobretudo com a massa miocárdica, com a frequência cardíaca, com o inotropismo e com a tensão exercida sobre a parede ventricular durante a sístole.

Em condições de aerobiose, o ATP é produzido na mitocôndria através da fosforilação oxidativa. A fosfocreatina (CP) permite manter estável a concentração de ATP no citoplasma, funcionando como um sistema de “vai-vem” para a transferência do ATP formado naquele organito celular. Quando o ATP é consumido no citoplasma, o ADP é fosforilado por acção da creatinofosfocinase (CK). A creatina difunde-se depois até à superfície externa da membrana mitocondrial onde, por acção da CK, recebe um grupo fósforo do ATP mitocondrial, regenerando assim a fosfocreatina consumida.



Em condições de aerobiose, os substratos utilizados pelas células miocárdicas podem variar. Em repouso, a beta-oxidação dos ácidos gordos livres (AGL) é a via preferencial. A glicose é o substrato principal apenas quando a sua concentração plasmática é elevada, ou seja, no período pós-prandial. Durante o exercício, o lactato produzido nos músculos esqueléticos em anaerobiose é usado pelo músculo cardíaco como principal fonte de energia e, em menor grau, é também utilizado o glicogénio (que existe nas células miocárdicas numa concentração de 0,4 – 0,6 % do peso do tecido a fresco, isto é, a quantidade suficiente para assegurar, por si só, o funcionamento cardíaco

durante 4 minutos em condições de isquemia). No jejum prolongado ou na cetoacidose diabética, os corpos cetónicos podem ser os substratos energéticos principais.

Existem alguns factores que limitam a glicólise na célula miocárdica:

- a) A concentração de coenzima A (CoA) é limitada e essencialmente usada na degradação dos AGL, logo a quantidade de CoA disponível é reduzida e a glicólise diminui de intensidade.
- b) As moléculas de citrato, originadas em grande quantidade a partir da acetil-CoA produzida como resultado da beta-oxidação dos AGL, inibem a fosfofrutocinase.
- c) O ATP oriundo da beta-oxidação dos AGL inibe a fosfofrutocinase e a fosforilase do glicogénio.
- d) O excesso de acetil-CoA e NADH, resultantes da beta-oxidação dos AGL, inibe o complexo da desidrogenase pirúvica.

No miocárdio, a glicólise é activada pelo fosfato inorgânico, 5-AMP, ADP e frutose 1,6-bisfosfato, substâncias que se acumulam no miocárdio em situações de hipóxia.

A hipóxia é um estado de redução do fornecimento de oxigénio sem alterações da perfusão; na anóxia há ausência de oxigenação do tecido, apesar da perfusão estar inalterada.

Na isquemia existe restrição de oxigénio e de nutrientes, com remoção insuficiente dos metabolitos celulares, por diminuição da irrigação sanguínea.

## CASO CLÍNICO

*Paula Mota*

Doente de 54 anos, sexo masculino, trabalhador de seguros. Saudável, sem internamentos prévios, sem qualquer medicação. Refere dor precordial com carácter de aperto, muito intenso, por vezes irradiando para o braço esquerdo. Esta dor surge a determinada altura do percurso, sempre que sobe uma rampa, e alivia rapidamente (em questão de segundos) assim que des-cansa. Se retomar a marcha a uma passada mais lenta consegue terminar o trajecto sem voltar a ter dor.

Nota que este sintoma surge quando acelera o passo, sendo ainda mais intensa quando corre, por exemplo, para o autocarro. A dor não alivia enquanto não pára. Por vezes, associa-se a um grande cansaço. Estas queixas nunca surgiram em repouso.

Dos antecedentes pessoais há a referir hábitos tabágicos moderados (20 cigarros/dia) e “stress” profissional. Nega diabetes mellitus, hipercolesterolemia, hipertensão arterial. O pai faleceu com “morte súbita”.

Recorreu ao seu médico assistente que não lhe encontrou nada de relevante, excepto ligeiro a moderado excesso ponderal. PA = 135/85 mmHg, FC = 70 ppm.

O electrocardiograma efectuado na consulta foi perfeitamente normal.

Foi pedida uma prova de esforço em tapete rolante que não pôde ser realizada por problemas técnicos. Realizou, então, um ecocardiograma de sobrecarga.

O exame ecográfico em repouso era normal, isto é, o ventrículo esquerdo tem dimensões normais (espessura das paredes e diâmetro da cavidade) e todos os segmentos da parede ventricular contraem-se bem. Durante o esforço físico verificou-se que um segmento de miocárdio se contraía progressivamente menos. Na altura em que o doente referia início da dor précordial esse segmento deixava totalmente de se contrair.

Confirmada de forma objectiva a presença de isquemia do miocárdio com angina de peito, este doente foi medicado tendo aumentado a sua tolerância ao esforço. Mantinha dor précordial mas unicamente para esforços muito intensos.

Alguns meses mais tarde, o doente notou que o aperto précordial começava a surgir para esforços mais ligeiros. Durante 3 dias consecutivos teve episódios de dor sempre que subia um lanço de escadas, com alívio imediato logo que punha um comprimido de nitroglicerina sublingual (“o comprimido debaixo da língua”).

Nessa semana, durante o sono, pelas 5 horas da manhã, foi subitamente acordado por uma sensação de peso muito intensa no meio do peito, que quase não o deixava respirar, irradiando para ambos os ombros e punhos. Referia ainda náuseas e sudorese profusa. Pôs o comprimido debaixo da língua mas não obteve alívio, e repetiu novo comprimido sem resultado. Decidiu então dirigir-se à Urgência deste Hospital.

À chegada ao Serviço de Urgência Central, cerca de 3 horas após o início dos sintomas, ainda apresentava dor précordial.

Foi efectuado um traçado electrocardiográfico que revelou acentuado supradesnivelamento do segmento ST-T. Confirmada a hipótese diagnóstica de enfarte do miocárdio foi dirigido para a Unidade Coronária.

A prioridade é salvar o miocárdio. O tempo urge. É preciso recanalizar a artéria coronária responsável. Imediatamente são postas em curso as medidas gerais: repouso, oxigénio, analgesia, controlo da pressão arterial, vasodilatação das artérias coronárias, aspirina, ... – todas visando diminuir as necessidades metabólicas do miocárdio e aumentar o aporte de oxigénio. Seguidamente, dois tipos de tratamento são possíveis e por vezes complementares:

1. Tratamento não invasivo – trombolíticos (estreptocinase e rt-PA);
2. Tratamento invasivo – angioplastia coronária percutânea.

## EFEITOS DA ISQUEMIA SOBRE O METABOLISMO MIOCÁRDICO

*José Loureiro*

Produz-se isquemia miocárdica quando, num determinado momento e em determinadas condições fisiológicas, as necessidades metabólicas do músculo cardíaco não são satisfeitas pelo volume de sangue que o perfunde.

Conforme já referido atrás, isquemia e hipóxia são situações distintas. Quando o tecido está em isquemia ocorre hipóxia celular, mas esta pode ocorrer sem que haja isquemia, por exemplo nas seguintes situações: anemia grave, asfixia, intoxicação pelo monóxido de carbono, certas cardiopatias congénitas em que devido a uma malformação há comunicação e passagem de sangue venoso para o lado esquerdo do coração sem passar previamente pelo pulmão.

A isquemia miocárdica implica alterações profundas do metabolismo celular, resultantes de varios factores:

- hipóxia celular;
- diminuição da drenagem de metabolitos com a consequente acumulação;
- produção de radicais livres;
- alterações inflamatórias;
- libertação de catecolaminas na circulação e na área em isquemia.

### **Hipóxia Celular e Diminuição da Drenagem de Metabolitos**

A hipóxia celular é consequência directa da redução do fluxo de sangue com diminuição do fornecimento de oxigénio. A diminuição do teor de oxigénio intracelular implica no bloqueio das vias metabólicas que levam à produção de ATP através da fosforilação oxidativa. É o caso da beta-oxidação dos ácidos gordos, principal via geradora de ATP da célula muscular cardíaca. Assim, verifica-se:

- diminuição rápida dos níveis de fosfocreatina e, se a situação se prolonga, do teor de ATP intracelular (principalmente no compartimento mitocondrial);
- acumulação de fosfato inorgânico (Pi);
- acumulação de acilCoA e acilcarnitina que, devido às suas características anfipáticas, podem ter um efeito detergente sobre as membranas celulares e uma acção inibidora sobre as bombas iónicas, com consequente diminuição da concentração de potássio intracelular e acumulação de sódio. A acumulação de sódio provoca edema celular e, por um sistema de contra-transporte, contribuirá para o aumento da concentração de cálcio dentro da célula;

- diminuição dos níveis de citrato, inibidor da fosfofrutocinase (enzima reguladora da glicólise), com consequente activação da via glicolítica, que passa a ser o único processo de regenerar ATP;
- a activação da glicólise, que tem um rendimento energético muito inferior ao da fosforilação oxidativa, leva ao aumento da produção de lactato, que se acumula por haver uma deficiente remoção dos metabolitos. A acumulação de lactato, NADH e hidrogeniões origina acedose intracelular, o que vai frenar a activação das enzimas reguladoras da glicólise, limitando ainda mais a tentativa de manutenção dos níveis de ATP. Note-se que numa situação de hipóxia sem isquemia, em que a capacidade de remoção dos metabolitos está conservada, o fluxo de substratos pela via glicolítica pode ser quatro vezes maior.

### **Produção de Radicais Livres**

Radicaís livres são moléculas ou átomos que apresentam um electrão isolado na sua orbital externa. São exemplos de radicaís livres o ião superóxido, o radical hidroxilo e o peróxido de hidrogénio. Em condições normais, são produzidos na célula em quantidades reduzidas, a vários níveis metabólicos (cadeia respiratória, oxidação do ferro dos grupos heme, por células especializadas nas reacções inflamatórias e de defesa do organismo). Estes radicaís têm efeitos deletérios, provocando nomeadamente alterações enzimáticas e peroxidação dos lípidos das membranas, em que alterações estruturais podem chegar à sua disrupção. Existem mecanismos de neutralização desses radicaís: enzimas (como a superóxido dismutase, catalase e peroxidase do glutatião), e as vitaminas E e C. Na isquemia há aumento da produção destes radicaís e diminuição dos mecanismos protectores, desempenhando os radicaís livres um papel importante na lesão celular.

### **Alterações Inflamatórias**

A lesão miocárdica desencadeia uma resposta inflamatória em que participam várias células (neutrófilos, por ex.) e em que há libertação de vários mediadores químicos (citocinas, sistema do complemento). Estes mecanismos desempenham um papel importante no agravamento da lesão e na evolução para a morte celular, designadamente através da produção de radicaís livres e no aumento da área de miocárdio “em risco”, devido à formação de agregados de plaquetas e indução de vasoconstrição nos pequenos vasos que irrigam zonas circundantes.

### **Libertação de Catecolaminas na Circulação e na Área em Isquemia**

As catecolaminas (adrenalina, noradrenalina) são hormonas e mediadores locais libertados em resposta a situações de “stress”. Na isquemia há aumento

dos níveis circulantes de adrenalina e acumulação de noradrenalina nas zonas em isquemia. A sua acção implica um aumento das necessidades energéticas da célula, estimula a entrada de cálcio para o miócito e a sua acumulação pode favorecer a evolução da lesão celular para necrose irreversível. Em situações de isquemia prolongada (30-40 min) podem atingir-se concentrações locais de noradrenalina 100 a 1000 vezes o normal, o que seria suficiente para induzir necrose celular mesmo que não existisse isquemia.

Em suma, numa situação de isquemia ocorrem alterações a vários níveis:

– *metabolismo dos fosfatos de alta energia*

- diminuição rápida dos níveis de fosfocreatina para compensar diminuição da produção de ATP;
- diminuição dos níveis de ATP e de nucleótidos de adenina (ATP → ADP → AMP → adenosina → xantina).

– *metabolismo dos hidratos de carbono*

- aumento da captação de glicose;
- aumento da glicólise;
- acumulação de lactato, H<sup>+</sup> e NADH que limitam a estimulação da via glicolítica.

– *metabolismo dos lípidos*

- inibição da β-oxidação devido à hipóxia celular e ao aumento da razão NADH/NAD<sup>+</sup>;
- se isquemia for mais prolongada, haverá também inibição e diminuição dos níveis de carnitina acil transferase;
- diminuição da captação de ácidos gordos livres (devido à acumulação intracelular de acil-CoA que não é metabolizável pela β-oxidação);
- acumulação intramiocárdica de triacilgliceróis.

– *metabolismo das proteínas*

- diminuição da síntese proteica;
- acumulação e libertação de alanina (devido à não utilização na síntese proteica e à sua formação por transaminação a partir do piruvato que se acumula);
- diminuição inicial da proteólise;
- ao fim de algumas horas proteólise descontrolada, mediada pelas enzimas lisossómicas, activadas pela redução do pH e pelo aumento da concentração de cálcio.

– *composição iónica do meio intracelular*

- acumulação de sódio no meio intracelular com consequente edema celular e depleção de potássio (devido ao défice energético há diminuição da actividade das bombas iónicas);
- acumulação intracelular de cálcio como consequência directa do aumento da concentração de sódio (contra-transporte  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ); o aumento da concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  leva à activação de fosfolipases e proteases que degradam os constituintes das membranas.

As lesões provocadas pela isquemia tornam-se irreversíveis e, ainda que seja restabelecido o fluxo de sangue, já não haverá recuperação nas seguintes situações:

- depleção de ATP para níveis inferiores a 20-30% do normal;
- inibição da glicólise quando lactato atinge determinados níveis e há grande redução do pH intracelular;
- edema celular;
- disrupção das membranas celulares.

Geralmente, a viabilidade celular mantém-se quando os níveis de ATP não se reduziram a menos de 60% do normal, e quando a acidose intracelular ainda não é muito acentuada.

Nesta fase, a microscopia electrónica revela miócitos com diminuição das reservas de glicogénio, edema mitocondrial e integridade da membrana sarcoplasmática.

Após períodos de isquemia, ainda que de curta duração, a diminuição da capacidade contráctil do miocárdio pode manter-se sem que tenha ocorrido necrose e apesar de o fluxo de sangue estar restabelecido. Esta situação designa-se por miocárdio “atordoado”, sendo recentemente reconhecida como tendo importância clínica. A duração do “atordoamento” é proporcional à duração da isquemia. A justificação bioquímica para este fenómeno não é inteiramente conhecida, havendo contudo algumas hipóteses:

- persistência de níveis aumentados de lactato, hidrogeniões e fosfato inorgânico; o  $\text{H}^+$  e o fosfato competem com o  $\text{Ca}^{2+}$  para a ligação às proteínas contrácteis;
- acumulação de  $\text{Ca}^{2+}$  na mitocôndria;
- diminuição do “pool” de nucleótidos de adenina (adenosina, AMP, ADP, ATP) durante a isquemia – sabe-se que a célula miocárdica tem uma capacidade limitada de síntese “de novo” de purinas;
- atraso na recuperação do metabolismo oxidativo dos ácidos gordos, nomeadamente por diminuição dos níveis de carnitina acil transferase – recuperação completa só após a síntese de novas moléculas da enzima;



- infiltração por neutrófilos com produção de radicais livres – o desaparecimento destes infiltrados não é imediato após o restabelecimento da perfusão;
- alteração das células e/ou do tecido conjuntivo que envolve os miócitos em consequência da isquemia – ainda que as células musculares contraíssem normalmente haveria “deslizamento” entre elas por alteração deste tecido de suporte e diminuição da eficácia da contração.

## GLOSSÁRIO

*Inotropismo*: propriedade do miocárdio em se contrair.

*Neutrófilo*: um dos tipos de leucócito, que desempenha funções na defesa do organismo contra microrganismos e substâncias estranhas.

*Retículo sarcoplasmático*: estrutura especializada da célula muscular onde é armazenado íão cálcio em concentrações superiores às do resto da célula; o  $\text{Ca}^{2+}$  é libertado para o citosol quando chega à célula um estímulo para a contração; o íão cálcio ao ligar-se a uma proteína reguladora (troponina C), desencadeia o início do ciclo da contração/relaxamento dos músculos esquelético e cardíaco.

*Sarcoplasma*: citoplasma da célula muscular.

*Tecido conjuntivo*: tipo de tecido com funções de suporte e de manutenção da estrutura dos órgãos.

## XXI SEMINÁRIO

### Tema: HEMOGLOBINOPATIAS

#### Subtemas:

- Eritropoiese, anemias e métodos de diagnóstico
- Drepanocitose
- Talassémias

#### Intervenientes

Docentes do Instituto de Bioquímica/FML

- Dr<sup>a</sup> Ana Forjaz de Lacerda (Assistente Hospitalar de Pediatria/HSM)
- Doutora Isabel Júlio da Silva (Prof<sup>a</sup>. Auxiliar)
- Doutora Isabel Margarida Silva Ribeiro (Prof<sup>a</sup>. Auxiliar)

Docentes convidados

- Dr<sup>a</sup> Maria João Costa (Assist. Hosp. Serv. Hemato-Oncologia/HSM)
- Dr<sup>a</sup> Filomena Pereira (Assist. Hosp. Serv. Hemato-Oncologia Pediátrica/IPO)

### ERITROPOIESE, ANEMIA – MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

*Ana Forjaz de Lacerda*

#### Hemoglobinopatias – o que são?

As hemoglobinopatias são um conjunto de doenças (*pathos*, em grego) com origem em anomalias dos cromossomas, em que ocorre uma síntese anormal ou diminuída das cadeias polipeptídicas (globinas) que normalmente constituem a hemoglobina (Hb). Esta é a principal proteína constituinte dos eritrócitos (também chamados glóbulos vermelhos [GV]), cuja função, essencial para a vida, é o transporte de oxigénio (O<sub>2</sub>) dos pulmões para os tecidos e o transporte de parte do dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) no sentido inverso. Existem cerca de 640 milhões de moléculas de Hb por GV.

Sendo estas as doenças genéticas mais frequentes em todo o mundo, o número de portadores (e logo de doentes) é especialmente elevado nas zonas tropicais e subtropicais, conferindo protecção contra infecções parasitárias, em particular contra a malária.

A sua gravidade clínica é muito variável, desde formas assintomáticas até expressões incompatíveis com a vida, podendo mesmo causar a morte intra-uterina.

### Como se classificam?

As doenças da hemoglobina classificam-se em dois grandes grupos:

- a) alterações quantitativas (diminuição da síntese das globinas) – talasémias.
- b) alterações qualitativas (síntese de globinas anormais, com alteração da sequência de aminoácidos) – hemoglobinas variantes, instáveis ou com afinidade alterada para o O<sub>2</sub>.

As variantes de Hb foram inicialmente designadas por letras (C, E, S, ...) mas quando se esgotou o alfabeto passaram a ser utilizados os nomes dos locais onde são identificadas ( p.ex. Hb Madrid).

Para ilustrar este assunto elegemos apresentar neste Seminário as talasémias e a Hb S (drepanocitose), por serem os exemplos mais comuns. Começaremos, no entanto, por fazer uma breve introdução a conceitos relacionados, de modo a facilitar a compreensão e discussão destas patologias.

### Eritropoiese

As células do sangue periférico (SP) são produzidas num compartimento especial designado por medula óssea (MO). Esta é composta por um conjunto de células inseridas num estroma rico em nutrientes e factores de crescimento, que ocupa a parte central dos ossos. Durante a infância a hematopoiese ocorre em todo o esqueleto mas, ao longo dos anos de crescimento, a MO produtiva vai sendo progressivamente substituída por gordura, de modo que apenas os ossos axiais mantêm esta capacidade na idade adulta. Durante a vida fetal o fígado e o baço constituem os principais locais de hematopoiese, podendo esta função ser retomada mais tarde em caso de necessidade (hematopoiese extra-medular).

Na MO existe uma célula pluripotencial (*stem cell*) que vai originar, por uma série de processos sucessivos de divisão e de diferenciação, todas as linhas celulares do SP (GV, glóbulos brancos e plaquetas). Cada *stem cell* origina cerca de 10<sup>6</sup> células, após 20 divisões. Esta célula possui ainda a capacidade de auto-renovação, de modo a que a celularidade medular se mantenha constante.

De entre os factores de crescimento que actuam sobre as *stem cells* para as estimular a proliferar e diferenciar, o mais importante para a produção de GV é a eritropoietina, uma proteína produzida pelo rim a partir de um precursor sintetizado no fígado. A sua síntese acompanha o nível da pressão

tecidual do O<sub>2</sub>, sendo portanto estimulada em todas as situações de hipóxia, seja qual for o seu mecanismo. Para a adequada produção de GV maduros são ainda necessários outros produtos, como sejam metais (Fe, Mn, Co), vitaminas (B<sub>12</sub>, folato, ....), aminoácidos, e outros.

Ao longo do processo de eritropoiese vamos assistir, passando do pronormoblasto (o primeiro precursor eritróide reconhecível) até ao GV maduro, a uma sequência de transformações conducentes ao aumento do conteúdo em Hb, diminuição do volume do citoplasma, extrusão do RNA e organitos necessários à síntese proteica, e finalmente, à extrusão do núcleo. Chegamos assim a uma célula pequena (7,5 – 8,5 µm de diâmetro), com a forma de um disco bicôncavo, não nucleada e incapaz de sintetizar proteínas, com um elevado teor em Hb. O seu tempo de vida em circulação no SP vai ser de cerca de 120 dias, acabando por ser destruída no sistema reticulo-endotelial, em particular no baço, quando a deformabilidade da sua membrana deixa de ser compatível com o *stress* tensional a que cada GV está permanentemente sujeito.

A célula que precede o GV maduro denomina-se reticulócito e caracteriza-se por ainda conter algum RNA ribossómico. Estas células circulam 1-2 dias no SP antes de maturarem completamente no baço (o que equivale à perda do RNA restante). O seu número reflecte a actividade eritropoiética da MO, pelo que está aumentado em todas as situações de anemia, à excepção das associadas a falência de produção.

Cerca de 10-15% da eritropoiese medular é normalmente não eficaz, isto é, os eritroblastos morrem na MO sem produzir GV maduros. A isto se chama eritropoiese ineficaz, que corresponde a um processo de hemólise intra-medular.

### **Exames auxiliares de diagnóstico**

Para estudar as doenças do sangue dispomos de vários meios auxiliares, de que iremos destacar dois pela sua importância no assunto que estamos a debater – o hemograma e o esfregaço de sangue. Fundamental também é a electroforese das Hb.

Para além destes existem outros estudos essenciais ao esclarecimento de quadros de anemia, como p.ex. os doseamentos de vitaminas, os estudos do ferro, os testes de imunidade, entre outros. Por vezes é ainda necessário recorrer à observação de um aspirado ou biópsia de MO, de modo a esclarecer o funcionamento do processo de hematopoiese.

### **Hemograma**

O sangue é colhido num tubo com anticoagulante e analisado num aparelho (*Coulter counter*), que nos dá de forma automática os valores de vários parâmetros, que se apresentam em seguida com os respectivos valores normais e desvios-padrão.

**Quadro I** – Principais parâmetros hematológicos determinados no sangue periférico (em hemograma) e respectivos valores médios  
(Legenda: H – homem; M – mulher)

Parâmetros	H	H / M	M	Observações
GV x 10 <sup>12</sup> / L	5,21 (4,5-5,9)		4,6 (4,1-5,1)	} medição fotométrica
Hb g/dL	15,7 (14-17,5)		13,8 (12,3-15,3)	
Ht %	46 (42-50)		40 (36-45)	
VGM fl (mm <sup>3</sup> )/GV		88 (80-96)		Ht / nº GV x 10
HGM pg/GV		30,4 (27,5- 33,2)		Hb / nº GV x 10
CHGM g/dL GV		34,4 (33,4-35,5)		Hb / Ht x 100
RDW CV (%)		13,1 (11,5-14,5)		
GB x 10 <sup>9</sup> / L		7,8 ( 4,4-11,3)		
Plaquetas x 10 <sup>9</sup> / L		311 (172-450)		

O valor de hematócrito (Ht) diz-nos qual o volume de sangue ocupado pela massa de GV (que aumenta p.ex. numa situação de desidratação, em que diminui o volume de plasma); o seu valor é sensivelmente igual ao triplo do valor da Hb.

O volume globular médio (VGM) dá-nos informação sobre o tamanho dos GV, habitualmente normocíticos, mas que pode estar diminuído (microcitose) ou aumentado (macrocitose). Se existe uma grande variabilidade do tamanho dos GV dizemos estar perante uma anisocitose e, neste caso, iremos encontrar um aumento da dispersão das dimensões eritrocitárias (*red cell distribution width*, RDW), que mede exactamente a amplitude da distribuição do tamanho eritrocitário.

O valor de hemoglobina globular média (HGM) reflete o conteúdo daquela proteína nos GV's, que podem ser normo ou hipocrómicos.

### Esfregaço de sangue

Se em muitas doenças hematológicas se torna importante examinar um esfregaço do SP, isso ainda é mais essencial nos casos de anemia, em que a morfologia dos GV pode por si só ser suficiente para colocar um diagnóstico mais específico. No entanto, em todo os casos as três linhas celulares devem ser estudadas. Para além do habitual método de fixação e coloração do esfregaço (May-Grünwald-Giemsa) outros podem ser necessários ( p.e. coloração supravital para detectar os restos de RNA que caracterizam os reticulócitos ou os corpos de Heinz ).

Podemos encontrar diferentes tipos de anomalias eritrocitárias:

#### (a) morfologia

- no tamanho (variabilidade = anisocitose);
- na forma (variabilidade = poiquilocitose); p.e. esferócitos, células falciformes;
- na coloração; p.e. células em alvo.

## (b) inclusões

- corpos de Heinz = agregados de globina precipitada;
- corpos de Howell-Jolly = restos de DNA;
- ponteados basófilos = RNA desnaturado.

Poderemos ainda encontrar reticulócitos, num número que varia de 0,5-2% do total de GV, ou células habitualmente não presentes no SP, como sejam alguns precursores eritrocitários ou células malignas.

**Anemia**

Sempre que o valor de Hb no SP é inferior ao limite inferior da variação normal, dizemos estar perante um quadro de anemia. O conceito/valor do normal varia com a idade, sendo mais elevado nos recém-nascidos, para diminuir durante a infância e voltar a subir após a puberdade, altura em que também o sexo passa a ter influência neste valor (é mais elevado nos homens pelo maior nível de androgénios circulantes; por outro lado as mulheres passam a sofrer perdas mensais de ferro). No hemograma, para além da diminuição do valor de Hb encontraremos ainda, regra geral, uma diminuição paralela do Ht e do número de GV.

O quadro clínico decorre do conjunto de dois factores: a diminuição da capacidade de transporte de O<sub>2</sub> e a existência de mecanismos compensadores. Nestes últimos há a considerar, para além do já falado aumento compensador da eritropoiese, a adaptação da curva de dissociação da Hb (através da modulação do 2,3 BPG, de modo a que o O<sub>2</sub> seja mais facilmente libertado para os tecidos) e a adaptação cardiovascular (ocorre taquicardia de modo a aumentar o débito cardíaco e assim melhorar a perfusão tecidual; daqui o facto de os mais velhos tolerarem pior a anemia, pois têm uma menor reserva cardiovascular). Importa ainda a gravidade da anemia (valor da Hb) e a sua velocidade de instalação (quanto mais lenta mais tempo o organismo tem para se adaptar).

Geralmente os doentes queixam-se de uma série de sintomas em que dominam a astenia e adinamia, mas podem ainda ocorrer palpitações, cefaleias e dispneia, sobretudo de esforço. Ao exame objectivo encontramos sinais gerais de anemia (palidez da pele e mucosas, taquicardia, pulsos amplos, sopro cardíaco), muitas vezes acompanhados de sinais específicos para o diagnóstico da etiologia (icterícia, fragilidade das faneras, deformidades ósseas, organomegalias, ...).

Podemos classificar as anemias essencialmente de duas maneiras – quanto ao seu mecanismo ou aos parâmetros eritrocitários. Apresentamos de forma abreviada as duas classificações, desafiando o leitor a encontrar os pontos comuns.

A – Segundo o mecanismo*1 – Diminuição da produção*

- (a) alterações da proliferação / diferenciação das *stem cells* / precursores eritróides;
- (b) alterações da síntese de DNA;
- (c) alterações da síntese de Hb;
- (d) alterações da regulação da eritropoiese.

*2 – Aumento das perdas / destruição*

- (a) mecanismo intrínseco ao GV – defeitos da membrana; defeitos enzimáticos; defeitos das cadeias de globina; hemoglobinúria paroxística nocturna.
- (b) mecanismo extrínseco ao GV – mecânico; imunológico; agentes químicos / físicos; hipersplenismo; hemorragia.

B – Segundo os parâmetros globularesVGM e HGM ↓

défi ce de ferro  
talassémias  
doenças crónicas  
plumbismo  
anemia sideroblástica

VGM e HGM normais

hemólise  
hemorragia aguda  
défi ces mistos  
falência da MO  
doença renal

VGM ↑

défi ce de Vit.B<sub>12</sub> / folato  
anemia aplástica  
mielodisplasia

**HEMOGLOBINAS NORMAIS E HEMOGLOBINOPATIAS: ESTRUTURA E DETECÇÃO LABORATORIAL.**

*Isabel M. Júlio da Silva*

A hemoglobina é uma proteína oligomérica constituída por quatro cadeias polipeptídicas, possuindo cada uma delas um grupo heme.

No adulto normal existem diferentes tipos de hemoglobina (Hb). A hemoglobina A, a forma predominante (98 %), apresenta duas subunidades  $\alpha$  e duas  $\beta$ . A hemoglobina A<sub>2</sub> que representa cerca de 1,5 % e é constituída por duas subunidades  $\alpha$  e duas  $\delta$  e a hemoglobina F (0,5%) que possui duas cadeias  $\alpha$  e duas  $\gamma$ .

A desoxihemoglobina e a oxihemoglobina diferem nas suas estruturas conformacionais, forma tensa (T) e forma relaxada (R) que se interconvertem através da clivagem ou da formação de pontes salinas.

A forma tensa (T) é uma estrutura mais compacta e apresenta uma cavidade central com tamanho adequado à ligação do 2,3 bifosfoglicerato, um dos moduladores da ligação do oxigénio à hemoglobina. Pelo contrário, na forma relaxada (R) a cavidade central é mais pequena, dificultando a fixação deste composto.

Durante a oxigenação, o átomo de ferro do heme desloca-se para o seu plano, arrastando consigo a histidina proximal. Este movimento do ferro provoca a clivagem de pontes salinas estabelecidas entre as duas subunidades dos pares  $\alpha_1\beta_2$  e  $\alpha_2\beta_1$  e desloca o equilíbrio da forma T para a forma R.

Podem ocorrer alterações na molécula de hemoglobina que conduzem a diferentes hemoglobinopatias.

As mutações genéticas podem manifestar-se pela substituição de um aminoácido. É o caso da drepanocitose em que o ácido glutâmico da posição 6 da cadeia  $\beta$  é substituído pela valina, dando origem à hemoglobina falciforme (Hb S). Este tipo de hemoglobina possui duas cadeias  $\alpha$  normais e duas cadeias  $\beta$  mutantes. A presença de valina torna a desoxihemoglobina S mais insolúvel que cristaliza sob a forma de macromoléculas originando fibras muito longas que deformam o glóbulo vermelho conferindo-lhe uma forma em foice. Estas alterações modificam as propriedades da hemoglobina.

Podem também existir deleções de uma ou mais cadeias de globina ( $\alpha$  ou  $\beta$ ), isto é, alterações na síntese, características de outro tipo de hemoglobinopatias, as talassémias. Elas são classificadas de acordo com o tipo de cadeia delectada, surgindo as  $\alpha$  talassémias e as  $\beta$  talassémias. As  $\alpha$  talassémias são mais graves, uma vez que as todas hemoglobinas possuem obrigatoriamente cadeias  $\alpha$ . Nas  $\beta$  talassémias pode existir uma ausência total ou quase total de cadeias  $\beta$  conduzindo a formas mais graves ou a formas mais moderadas. Verifica-se um aumento de percentagem (mais ou menos acentuado) da Hb F e da Hb A<sub>2</sub> que são determinantes na caracterização destas hemoglobinopatias.

São vários os testes laboratoriais que permitem diagnosticar estas hemoglobinopatias, destacando-se a electroforese, o teste alcali-resistente e o teste de solubilidade.

A electroforese permite identificar diferentes tipos de hemoglobinas. Diferencia a Hb A, da Hb S e da hemoglobina das  $\beta$  talassémias.

Muitas vezes aparecem associados à electroforese outro tipo de testes. O teste alcali-resistente permite diferenciar a Hb F da Hb A nas  $\beta$  talassémias e isto é importante para o diagnóstico destas hemoglobinopatias. O teste de solubilidade é utilizado para uma melhor identificação da Hb S.

Palavras-chave: Hb A; Hb F; Hb S; proteína oligomérica; estrutura tensa (T); estrutura relaxada (R); heme; subunidade; globina; hemoglobinopatia; drepanocitose; talassémia; electroforese; teste alcali-resistente; teste de solubilidade



## FUNÇÃO DA HEMOGLOBINA: ALTERAÇÃO E MODULADORES

*Isabel Margarida da Silva Ribeiro*

A hemoglobina é a proteína dos glóbulos vermelhos que transporta o oxigénio ( $O_2$ ) para os tecidos periféricos e o dióxido de carbono ( $CO_2$ ) e os prótons ( $H^+$ ) para os pulmões. A ligação destes efectores à hemoglobina (Hb) é regulada por interacções alostéricas, ou seja interacções entre locais separados, não adjacentes, na mesma molécula.

A ligação do  $O_2$  à Hb é cooperativa, isto é, a ligação do  $O_2$  a um grupo heme facilita a sua ligação aos grupos heme das outras subunidades. Por este motivo, experimentalmente a curva de dissociação do  $O_2$  apresenta uma forma sigmoide. Esta curva permite determinar o valor da pressão parcial de  $O_2$  para a qual a Hb está saturada a 50% ( $P_{50}$ ). Este parâmetro é uma medida da afinidade da Hb para o  $O_2$  e é influenciado pela temperatura, pH, concentração de  $CO_2$  e concentração de 2,3 bifosfoglicerato (2,3 BPG) nos eritrócitos.

A ligação do  $H^+$  e do  $CO_2$  à Hb promove a libertação do  $O_2$  nos tecidos periféricos. O valor do  $P_{50}$  aumenta e a curva de dissociação desloca-se para a direita. Inversamente, a ligação do  $O_2$  à proteína induz a libertação do  $H^+$  e do  $CO_2$  nos alvéolos pulmonares. O valor de  $P_{50}$  diminui e a curva de dissociação desloca-se para a esquerda. Esta relação entre a libertação/ligação do  $O_2$  à Hb e a concentração de  $H^+$ /  $CO_2$  é conhecida por efeito de Bohr.

O  $CO_2$  intervém no efeito de Bohr, uma vez que, nos eritrócitos, por acção da anidrase carbónica, se transforma em ácido carbónico ( $H_2CO_3$ ) que se dissocia em  $H^+$  e  $HCO_3^-$ . A ligação directa do  $CO_2$  à Hb (carbamino-hemoglobina) também dificulta a ligação do  $O_2$  à proteína mas é um fenómeno separado do efeito de Bohr.

A afinidade da Hb para o  $O_2$  é também modulada pela concentração do 2,3 BPG. O aumento da concentração deste fosfato no eritrócito diminui a afinidade da Hb para o  $O_2$ . O 2,3 BPG forma-se no eritrócito no ciclo de Rapoport-Luebering.

O 2,3 BPG liga-se à molécula de Hb desoxigenada (forma T) e não à oxihemoglobina (forma R). Só a primeira apresenta um espaço conveniente entre as subunidades para o fosfato entrar. A ligação deste fosfato é feita através de pontes salinas entre os seus grupos carregados negativamente e as cargas positivas de aminoácidos das cadeias  $\beta$  que estão virados para a cavidade central.

O 2,3 BPG liga-se menos fortemente às cadeias  $\gamma$  da Hb fetal (Hb F) do que às cadeias  $\beta$  da Hb do adulto (Hb A). Por este motivo, a Hb F apresenta maior afinidade para o  $O_2$ , o que permite que este seja transferido da circulação materna para a fetal através da placenta.

Nas hemoglobinopatias, drepanocitose,  $\alpha$  e  $\beta$  talassémias, a afinidade da Hb para o  $O_2$  está alterada.

Na drepanocitose, as moléculas da hemoglobina falciforme (Hb S) na forma desoxigenada, tendem a agregar originando fibras que precipitam ficando os glóbulos vermelhos em forma de foice. Deste modo, a Hb perde a capacidade para se ligar ao O<sub>2</sub> nos alvéolos pulmonares e conseqüentemente a sua função de transportador de O<sub>2</sub> fica diminuída.

Nas  $\alpha$  e  $\beta$  talassémias, a distribuição do O<sub>2</sub> é ineficaz e os tecidos apresentam-se em hipóxia. O efeito é mais grave nas  $\alpha$  talassémias.

No caso das  $\beta$  talassémias (não há síntese de cadeias  $\beta$ ) este efeito deve-se à elevada percentagem de Hb F presente nos eritrócitos. Como já foi referido, este tipo de Hb apresenta uma grande afinidade para o O<sub>2</sub>.

Nas  $\alpha$  talassémias (não há síntese de cadeias  $\alpha$ ), a curva de dissociação do O<sub>2</sub> tem uma forma hiperbólica. Isto significa que estas Hb só constituídas por cadeias não  $\alpha$ , têm uma grande afinidade para o O<sub>2</sub>, tendem a fixá-lo fortemente e por conseqüência a libertá-lo muito dificilmente.

Palavras-chave: interacções alostéricas; cooperativismo; curva de dissociação do oxigénio; P50; efeito de Bohr; carbamino-hemoglobina; 2,3 BPG; forma sigmoidal; forma hiperbólica; Hb F; Hb A; HbS;  $\alpha$  e  $\beta$  talassémias

## TALASSÉMIAS

*Maria João Costa*

### Definição

As talassémias são anomalias genéticas da síntese da Hb, caracterizadas por uma redução da produção de um tipo específico de globina.

As cadeias proteicas produzidas, embora em menor número que o normal, são estruturalmente normais. Trata-se portanto de um defeito “quantitativo” de síntese.

Cada indivíduo possui quatro genes responsáveis pela síntese de cadeias  $\alpha$ , localizados no cromossoma 16 (tendo herdado dois de cada progenitor), enquanto possui apenas dois genes de cadeias  $\beta$  localizados no cromossoma 11, um de cada progenitor.

Estes distúrbios, de carácter heredo-familiar, devem-se à perda da informação genética correspondente a um ou mais destes genes.

A deficiência de síntese de cadeias  $\beta$  é designada por  $\beta$ -talassémia, enquanto que a redução da síntese de cadeias  $\alpha$  é referida como  $\alpha$ -talassémia.

Esta condição conduz a um largo espectro de situações clínicas, que vão desde a ausência de doença até à anemia fatal.

## Epidemiologia

As talassémias são encontradas mais frequentemente no Mediterrâneo, Médio Oriente, Índia e Sudoeste Asiático. No nosso país são mais comuns no sul (Alentejo e Algarve), onde inclusivamente é descrita uma forma específica designada por “ $\beta$ -talassémia portuguesa”. Pensa-se que esta distribuição geográfica desigual se deve à protecção que as formas clinicamente moderadas conferem contra a malária. Assim, nas regiões onde esta é endémica, por selecção natural, tornou-se extremamente comum a heterozigotia para as mutações talassémicas.

## Classificação clínica

### Anemia de Cooley

Corresponde à forma grave da  $\beta$ -talassémia. Manifesta-se entre o 6<sup>o</sup> e o 8<sup>o</sup> mês de vida, altura em que na criança normal a Hb F, predominante durante a vida fetal, diminui, dando progressivamente lugar à forma do adulto, a Hb A. Dada a inexistência de cadeias  $\beta$  ( $\beta^0\beta^0$ ) ou ao seu número muito reduzido ( $\beta^+\beta^+$ ), a Hb A não se forma em quantidade normal. As cadeias  $\alpha$ , em excesso, precipitam no interior do GV e levam à sua destruição, quer no interior da MO (eritropoiese ineficaz) quer no sangue periférico, aquando da sua passagem pelo baço (hemólise por sequestração esplénica). Como mecanismos de compensação assiste-se à hiperplasia da série eritrocítica medular e à eritropoiese extra-medular (fígado e baço). Surge uma anemia grave hipocrómica e microcítica, expansão medular com deformações ósseas (torricefalia, fâcies de esquilo), osteoporose com fracturas patológicas, hepato e esplenomegália, atraso do crescimento e do desenvolvimento.

### Hidrósia fetal

Corresponde à ausência dos quatro genes responsáveis pela síntese de cadeias  $\alpha$  (--/--). Estas estão ausentes, enquanto que as cadeias  $\beta$  e  $\gamma$  em excesso polimerizam, com aparecimento de Hbs anormais: Hb H ( $\beta_4$ ) e Hb Barts ( $\gamma_4$ ). A Hb A não é sintetizada. Esta situação leva à morte ao fim de algumas horas de vida ou mesmo à morte *in utero*.

### Doença da Hb H

Surge quando a criança herda apenas um gene  $\alpha$  (--/- $\alpha$ ). O excesso de cadeias  $\beta$  leva ao aparecimento de Hb H ( $\beta_4$ ), que constitui mais de 30% do total da Hb presente nos GV. A Hb H é um tetrâmero instável no eritrócito maturo. Precipita sobretudo perante *stress* oxidativo (por exemplo fármacos oxidativos, como as sulfonamidas), formando inclusões citoplásmicas, as quais são responsáveis por hemólise. Na fase inicial da vida do GV, a Hb H

mantém-se solúvel, não causando eritropoiese ineficaz. Deste modo, a anemia não é tão severa em comparação com a que é vista nos doentes com  $\beta$ -talassémia, que têm deficiência equivalente da produção de cadeias  $\beta$ .

#### Talassémias minor

Ocorrem em indivíduos heterozigotos para uma mutação que afecta a síntese da globina  $\alpha$  ou  $\beta$ . Caracteristicamente, os GV são microcíticos e hipocrómicos. A contagem total dos GV está aumentada ( 10-20% superior ao normal ) sendo a anemia, quando presente, ligeira. A distinção entre o traço  $\beta$  talassémico e o traço  $\alpha$  talassémico só é possível com testes laboratoriais (electroforese das Hb's), que demonstram no primeiro caso um discreto aumento da Hb A<sub>2</sub> ( $\alpha_2\delta_2$ ) e da Hb F ( $\alpha_2\gamma_2$ ).

#### Portador assintomático

Nestes casos o defeito na síntese da globina  $\alpha$  ou  $\beta$  é tão pequeno que não há alteração evidente da síntese da Hb.

### **DREPANOCITOSE**

*Filomena Pereira*

#### **Introdução**

Foi calculado em 1983 que os portadores de traço drepanocítico (Hb SA) eram cerca de 60 milhões, 50 dos quais habitavam em África; o número global em 1992 deveria ascender a 78 milhões.

Em cada ano nascem cerca de 156 000 crianças com *Anemia de células falciformes*, das quais 130 000 em África.

Embora Portugal tenha recebido milhares de africanos nos últimos 20 anos, a doença já cá existia, quer como herança da ocupação árabe, quer da miscigenação ao longo dos séculos.

Na última década não existem estudos epidemiológicos globais da drepanocitose, provavelmente devido à instabilidade multifacetada que afecta a população africana, seu maior reservatório. No entanto, a migração internacional constante tem levado vários países desenvolvidos a realizar os seus próprios estudos, atestando da cada vez maior internacionalidade da doença.

#### **Quadro clínico**

Conhecendo a mutação e os factores de instabilidade que condicionam a alteração na estrutura da Hb, torna-se possível entender os principais aspectos clínicos desta doença.

(a) Anemia

A alteração da forma dos GV conduz à sua remoção precoce da circulação, determinando um encurtamento da vida média do eritrócito, com consequente anemia crónica.

A MO tenta, através da hiperprodução de GV, compensar essa carência.

Qualquer factor de instabilidade acrescido poderá provocar um agravamento da anemia.

(b) Crises vaso-oclusivas

A falciformização e a aglomeração de GV na microcirculação levam a interrupção do fluxo sanguíneo, com enfartes nas áreas respectivas, o que se vai traduzir por episódios agudos, geralmente dolorosos, nos seguintes órgãos ou tecidos:

(i) ossos – dor óssea aguda, por vezes com sinais inflamatórios locais. As áreas mais afectadas são a coluna lombo-sagrada, o joelho, o cotovelo, o ombro, o fémur, o esterno, as costelas e as clavículas. Nas crianças abaixo dos 5 anos de idade ocorre frequentemente nos pequenos ossos das mãos e pés;

(ii) pulmões – as crises vaso-oclusivas determinam um quadro de disfunção respiratória;

(iii) abdómen – a dor abdominal aguda é geralmente devida a falciformização nos vasos mesentéricos. Pode também corresponder a micro-enfartes em qualquer órgão abdominal;

(iv) sistema nervoso central – por oclusão das artérias cerebrais poderá ocorrer um quadro neurológico de acidente vascular cerebral, com mortalidade elevada e grande risco de sequelas;

(v) priapismo – trata-se de uma erecção persistente do pénis, muitas vezes dolorosa, que, no caso da drepanocitose, se verifica geralmente em doentes com mais de 10 anos. Deve-se a falciformização nos corpos cavernosos do pénis, e pode levar à impotência.

(c) Crises aplásticas

Dado o esforço de hiperprodução medular compensatória, qualquer factor que o impeça, geralmente uma infecção, provocará um agravamento da anemia.

(d) Crises de sequestração esplênica

Condicionam acumulação maciça de sangue num baço muito aumentado de volume e constituem um risco de vida, sobretudo em crianças pequenas.

(e) Susceptibilidade às infecções

São vários os factores que interaccionam, tornando o indivíduo drepanocítico um alvo fácil de infecções, muitas vezes graves e mortais.

(f) Lesão de órgãos por agressões constantes

(g) Alteração do crescimento e desenvolvimento

### **Conclusões**

Se a terapêutica etiológica não é, de momento, acessível, o conhecimento da doença e de uma série de medidas profiláticas e de suporte permitem actualmente melhorar substancialmente a qualidade e a esperança de vida dos indivíduos com anemia de células falciformes.

Também o conhecimento da população em risco poderá, através do aconselhamento genético, diminuir a incidência da doença.

### **Glossário**

*Adinamia* – falta de energia

*Astenia* – falta de forças, cansaço

*Cefaleias* – dores de cabeça

*Cromossomas* – agrupamentos do DNA nuclear condensado; contêm os genes

*Débito cardíaco* – volume de sangue enviado pelo coração para a circulação

*Dispneia* – dificuldade respiratória

*Esplenomegália* – aumento do tamanho do baço

*Etiologia* – causa

*Factores de crescimento* – produtos químicos que estimulam as células a proliferar

*Faneras* – pele, cabelos e unhas

*Feto* – estadio do crescimento intra-uterino, da 12<sup>a</sup> à 40<sup>a</sup> semana

*Hemólise* – lise, destruição dos glóbulos vermelhos

*Hemoglobinúria paroxística* – doença em que ocorre hemólise intravascular episódica

*Hepatomegália* – aumento do tamanho do fígado

*Hiperesplenismo* – aumento da função do baço (retém mais células do sangue)

*Hiperplasia* – aumento do número

*Icterícia* – coloração amarela da pele, que traduz hiperbilirrubinemia

*Incidência* – número de novos casos

*Organomegalias* – aumento do tamanho dos órgãos

*Osteoporose* – diminuição da densidade óssea

*Palpitações* – sensação de sentir o coração a bater

*Plumbismo* – intoxicação pelo chumbo

*Portadores* – pessoas sãs que transmitem doenças

*Sistema reticulo-endotelial* – conjunto de células mononucleares fagocitárias

*Sopro cardíaco* – som anormal na auscultação cardíaca

*Taquicardia* – aumento da frequência cardíaca

*Torricéfalia* – aumento do tamanho da testa / osso frontal





2ª PARTE

Seminários de Bioquímica Fisiológica  
(1994/95 a 2004/05)



### Seminários de Bioquímica Fisiológica

Ano lectivo	Sequência	Temática	Data
1994/95	I (BF)	Bioquímica das Hepatopatias (não incluído)	6 e 10/Março/1995
1995/96	II (BF)	Bioquímica da Insuficiência Renal	5 e 7/Abri/1995
	III (M)	Hepatopatias	27/Março/1996
	IV (M)	Malabsorção	17/Abril/1996
	V (BF)	Bioquímica do Equilíbrio Ácido-Base (não incluído)	3 e 6/Maio/1996
1996/97	VI (BF)	Bioquímica do Equilíbrio Ácido-Base	29 e 31/Janeiro/1997
	VII (M)	Hepatopatias (não incluído)	5/Fevereiro/1997
	VIII (M)	Aterosclerose e Trombose	9/Abril/1997
1997/98	IX (M)	Metabolismo Renal (não incluído)	4/Março/1998
	X (M)	Ossos – Estrutura, Metabolismo e Funções	22/Abril/1998
1998/99	X (BF)	Série Temática (não incluída):	
		Diabetes	21/Outubro/1998
		Purinas e Pirimidinas/Oligoelementos e Vitaminas	4/Novembro/1998
		Eixo Hipotálamo-hipofisário	9/Dezembro/1998
		Função Respiratória	20/Janeiro/1999
		Doença Hepática	10/Fevereiro/1999
		Drepanocitose	24/Março/1999
Trombose e Hemostase	28/Abril/1999		
1999/2000	XI (BF)	Série Temática (não incluída):	
		Diabetes	19/Outubro/1999
		Purinas e Pirimidinas	20/Novembro/1999
		Hormonas Tiroideia e Cateclaminas	18/Janeiro/2000
		Função Respiratória, Rim e Equilíbrio Ácido-Base	21/Março/2000
		Doença Hepática e Álcool	28/Março/2000
		Hemostase	9/Maio/2000
		Bioquímica da Visão	16/Maio/2000
2000/2001	XII (M)	Envelhecimento (não incluído)	7/Maio/2001
2001/2002	XIII (M)	Diabetes Mellitus (não incluído)	10/Abril/2002
	XIV (M)	Isquemia do Miocárdio (não incluído)	24/Abril/2002
2002/2003	XV (M)	Acidente Vascular Cerebral (não incluído)	8/Janeiro/2003
2003/2004	XVI (BF)	Nutrição (não incluído)	3/Novembro/2003
	XVII (BF)	Sistema Endócrino (não incluído)	17/Março/2004
2004/2005	XVIII (BF)	Nutrição (série – não incluído)	8, 12 e 15/Novembro
	XIX (BF)	Sistema Endócrino (não incluído)	8/Abril/2005

**PRELECTORES EM SEMINÁRIOS DE BIOQUÍMICA FISIOLÓGICA****(1994/95 – 2004/05)**

- A. Vaz Carneiro
- Alberto Escalda
- Ana Forjaz de Lacerda
- Ana Júlia Oliveira Pedro
- António José Cidadão
- Carlos E. Plancha
- Carlos Ramos
- Carlos Santos Moreira
- Cristina Marques
- Eduardo Infante Oliveira
- Ermelinda Camilo
- F. Coelho Rosa
- Fausto Pinto
- Francisco Sampaio
- Gonçalves Ferreira
- Helena Canhão
- Henrique do Rosário
- J. Martins e Silva
- J.A. Pereira da Silva
- João Ferreira
- João Paulo Janeiro
- Jorge Lima
- José Barbas
- José Mirones
- José Velosa
- Leonor Parreira
- Leyre Zabala
- Lucas Batista
- Luís Sargento
- Luís Silva Carvalho
- Mamede de Carvalho
- Mário G. Lopes
- Mário Marques
- Mário Viana Queiroz
- Miguel Raimundo
- Purificação Horta
- Sandra Hilário
- Sílvia Ouakinin
- Simões da Fonseca

## II SEMINÁRIO

### Tema: **BIOQUÍMICA DA INSUFICIÊNCIA RENAL**

#### Subtemas:

- Fisiopatologia geral da insuficiência renal.
- Síndrome urémico/Toxinas urémicas.
- Água/Sódio/Potássio.
- Equilíbrio Ácido-base.
- Metabolismo fosfocálcico.
- Metabolismo dos glúcidos.
- Metabolismo dos lípidos.
- Alterações endócrinas.

#### Intervenientes:

Docente convidado

- Doutor José Barbas (Disciplina de Nefrologia da FML; Serviço de Nefrologia do HSM)

Docentes do Instituto de Bioquímica/FML.

- Dr. Jorge Lima
- Dr. Henrique do Rosário

#### *Caso Clínico I:*

Doente do sexo feminino, 27 anos de idade, solteira. Aos 13 anos consultou o seu médico por edema bimalleolar. As análises mostravam proteinúria/hipoproteinémia e a biópsia renal uma glomerulonefrite esclerosante segmentar e focal. O edema desapareceu com dieta hipocalórica e diuréticos e a doente manteve-se assintomática até Dezembro de 1994. Nessa altura começou a notar moderada astenia e adinamia.

O exame objectivo mostrou apenas ligeira palidez. As análises mostraram: Hb 5,8g/dL; glicémia 90mg/dL; creatininémia 540 $\mu$ mol/L; ureia plasmática 25mmol/L; depuração da creatinina 15mL/min; proteinémia 6,0g/dL; colesterol 200mg/dL, triglicéridos 280mg/dL; calcémia 8,4mg/dL, fosfatémia 5,0mg/dL, reserva alcalina 17mEq/L; pH 7,28; P<sub>CO2</sub> 35mmHg; paratormona 250pg/mL; K<sup>+</sup> 5,3mEq/L; Na<sup>+</sup> 140mEq/L e Cl<sup>-</sup> 110mEq/L.

*Caso Clínico II:*

Doente do sexo masculino, 19 anos. Sem queixas até há 2 meses, altura em que iniciou queixas de cefaleias, náuseas e vômitos matinais. Há cerca de 1 mês começou a notar edema palpebral matutino e bímaleolar vespertino. Refere nictúria 3 vezes.

Por agravamento desta sintomatologia recorreu ao Serviço de Urgência. O exame objectivo mostrava palidez e hipertensão arterial. A ecografia renal revelou rins de dimensões muito reduzidas.

Os exames analíticos mostraram: Hb 6,0g/dL, glicémia 120 mg/dL, creatininémia 1185 $\mu$ mol/L; ureia plasmática 54mmol/L, depuração da creatinina 3,0mL/min; colesterol 180mg/dL; triglicéridos 160mg/dL, calcémia 7,5mg/dL; fosfatémia 6,0mg/dL; paratormona 280pg/mL; reserva alcalina 15mEq/L; K<sup>+</sup> 6,0mEq/L; Na<sup>+</sup> 138mEq/L.

**Questões**

1. Diagnóstico?
2. Que análise melhor caracteriza a função renal deste doente?
3. A doente I manteve-se quase assintomática em oposição ao doente II. Qual é a razão?
4. Quais das substâncias analisadas podem ser consideradas toxinas urémicas?
5. O doente II teve edema e nictúria. Porquê?
6. O K<sup>+</sup> manteve-se normal na doente I e apenas ligeiramente elevado no doente II. É habitual esta normalidade ou quase normalidade nestes graus de Insuficiência Renal?
7. Ambos os doentes têm acidose metabólica. Qual é o mecanismo desta acidose nos urémicos?
8. A calcémia está baixa e a fosfatémia e a paratormona elevadas. Qual é o mecanismo fisiológico destas alterações?
9. O colesterol está normal e os triglicéridos elevados apenas num dos doentes. Qual é o tipo de dislipidémia nos doentes com Insuficiência Renal?
10. A glicémia em jejum é normal na doente I e ligeiramente elevada no doente II. Isto significa que o doente II tem diabetes mellitus?
11. Como justifica a diminuição dos níveis de hemoglobina em ambos os doentes?

**Regulação do Potássio Corporal:**

- Mecanismos reguladores da distribuição transcelular de K<sup>+</sup> (concentração intracelular de K<sup>+</sup>; pH; hormonas pancreáticas; catecolaminas; aldosterona; osmolalidade; exercício físico).

- Regulação do balanço corporal de  $K^+$  (transporte gastrointestinal *versus* excreção renal).

### **Metabolismo Lipídico na Insuficiência Renal:**

- Hipercolesterolemia e de hipertrigliceridemia;  $\uparrow$ VLDL,  $\uparrow$ LDL/HDL.
- Mecanismo principal urémia-dependente: desregulação da actividade da LpL e da lipase hepática.

### **Metabolismo Fosfocálcico:**

- Hormonas que regulam o metabolismo fosfocálcico (Vitamina D, Paratormona e Calcitonina).
- Regulação da produção de  $1,25(OH)_2D_3$  (vitamina D,  $Ca^{2+}$ , Paratormona, fosfato inorgânico, acidose metabólica, estrogénio e progesterona, hormonas hipofisárias, insulina, glicocorticóides).
- Acções da vitamina D, particularmente a nível renal.
- Papel do  $Ca^{2+}$  e do  $Mg^{2+}$  na secreção da Paratormona.
- Acções da Paratormona na rim (adenilato ciclase e AMP cíclico,  $Ca^{2+}$ , fosfato) e no osso.
- Acção renal da Calcitonina.

### **Inter-relação Rim-Eritropoiese:**

Eritropoetina:

- Estrutura bioquímica.
- Síntese renal.
- Papel chave na homeostasia do  $O_2$  através da regulação da capacidade de transporte de oxigénio pelo sangue.
- HIF-1 (factor induzível pela hipóxia, com capacidade de fixação ao DNA e conseqüente activação da transcrição da Eritropoetina).

### **Valores de Referência:**

Glicémia	<100 mg/dL
Creatininémia	<96 $\mu$ mol/L
Urémia	<8 $\mu$ mol/L
Depuração da creatinina	>90 ml/min
Colesterolemia	<220 mg/dL
Trigliceridémia	<180 mg/dL
Calcémia	9,5-10,5 mg/dL
Fosfatémia	3,5-4,5 mg/dL
Paratormona	<90 pg/dL

Na <sup>+</sup>	135-145 mEq/L
K <sup>+</sup>	3,5-4,5 mEq/L
Cl <sup>-</sup>	95-100 mEq/L
pH	7,35-7,45
pCO <sub>2</sub>	40 mmHg
Reserva alcalina	22-24 mEq/L
Proteinémia	60-70 mg/dL



### III SEMINÁRIO

#### **Tema: HEPATOPATIAS. FUNDAMENTOS ESTRUTURAIS, BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS**

##### **Subtemas:**

##### **Intervenientes:**

Docentes convidados:

- Prof. Dr. José Velosa (Cadeira de Medicina II)
- Dr. Lucas Batista (Instituto de Anatomia Normal)
- Dra. Ana Júlia Oliveira Pedro (Instituto de Anatomia Normal)
- Dr. José Mirones (Instituto de Histologia)
- Prof<sup>ª</sup> Dra. Cristina Marques (Instituto de Fisiologia)
- Dr. M. Raimundo (Instituto de Fisiologia)

Docentes do Instituto de Bioquímica/FML.

- Dr. Jorge Lima (Instituto de Química Fisiológica)
- Dr. Henrique do Rosário (Instituto de Química Fisiológica)

#### **ANATOMIA DO FÍGADO, DAS VIAS BILIARES E DO SISTEMA PORTA**

Localização; configuração exterior; meios de fixação; vias biliares intra e extra-hepáticas; segmentação do fígado segundo a veia porta e segundo as veias hepáticas ou supra-hepáticas; vascularização hepática; drenagem linfática e inervação hepática e das vias biliares; sistema porta hepático.

Histologia Hepática.

Estrutura do Fígado.

Conceitos de Lóbulo Clássico e Ácino.

Veia Centro-Lobular e Espaços Porta.

Sinusóides. Espaço de Disse.

Hepatócitos.

##### **GLOSSÁRIO:**

*Lóbulo clássico* – unidade estrutural do parênquima hepático, que em corte se apresenta como uma área hexagonal em que placas/cordões de hepatócitos se dispõem radialmente em torno de uma veia central, tributária das veias supra-hepáticas, tendo à periferia vários espaços porta.

*Ácino* – unidade funcional do parênquima hepático, formada por uma massa ovóide de células parenquimatosas, dispostas em torno de um eixo constituído por cada arteríola terminal, vénula e ducto biliar que saem lateralmente de um espaço porta. Em cada extremo do ácino encontra-se uma veia centro-lobular do lóbulo clássico, agora designada veia hepática terminal.

*Veia Centro-Lobular* – veia que ocupa o centro do lóbulo clássico, tributária das veias supra-hepáticas.

*Espaço porta* – área triangular de tecido conjuntivo contendo um ducto biliar, um ramo da artéria hepática e um ramo da veia porta, rodeadas por uma placa limitante de células hepáticas.

*Sinusóides* – pequenos canais vasculares (10-30 µm de diâmetro), revestidos por endotélio descontínuo e fenestrado. As suas paredes seguem a superfície das placas e cordões de hepatocitos, apesar de separados destes por um espaço (Espaço de Disse).

*Espaço de Disse* – espaço perisinusoidal, entre os sinusóides e os hepatocitos, onde se processa a transferência de substâncias do sangue que percorre os sinusóides para os hepatocitos e vice-versa.

### **Fisiologia da Circulação Hepática**

*Características Principais:* duplo aporte de sangue (venoso e arterial) ao fígado, e arranjo microcirculatório acinar, do qual dependem as funções do parênquima hepático.

*Ácino Hepático:* (modelo de Rappaport)

- Unidade estrutural, microcirculatória e funcional do fígado

*Unidade Microcirculatória do Ácino Hepático*

- Distribuição intrahepática dos vasos sanguíneos sua relação com os canalículos biliares
- Características especiais dos sinusóides (capilares) hepáticos
- Relação anatomo-funcional das células do parênquima acinar com a sua circulação
- Hemodinâmica da unidade microcirculatória

*Regulação da Circulação Hepática*

- Importância para o funcionamento do órgão
- Regulação extrínseca ao órgão: Circulação arterial – Débito e Pressão; Circulação portal – Débito e Pressão
- Regulação intrínseca ao órgão:
- Reciprocidade dos débitos arterial e portal
- Hipóteses de explicação: Mecanismo miogénico; “Tampão arterial hepático”; Mecanismo hemodinâmico

## PRINCIPAIS FUNÇÕES BIOQUÍMICAS DO FÍGADO

### 1. *Metabolismo Glicídico*

Glicogénese; Glicogenólise; Gliconeogénese; Homeostasia da glicémia

### 2. *Metabolismo Proteico*

Interconversão de aminoácidos; Transaminação e desaminação oxidativa; Síntese da ureia; Síntese proteica: albumina, proteínas plasmáticas, factores da coagulação, hemoproteínas.

### 3. *Metabolismo Lipídico*

Síntese de ácidos gordos e lipoproteínas endógenas; Síntese de corpos cetónicos; Síntese de colesterol e ácidos biliares.

### 4. *Mecanismos de Destoxificação*

### 5. *Metabolismo Hormonal*

Inactivação ou modificação de hormonas endógenas: insulina, glicagina, tiroxina, triiodotironina, glicocorticóides, aldosterona, estrogénios, testosterona

### 6. *Armazenamento*

Glicogénio, vitaminas (A, B12, ác. fólico), ferro

### 7. *Metabolismo e Excreção da Bilirrubina*

## Enzimologia Hepática e das Vias Biliares:

Aminotransferases (aspartato aminotransferase -AST; alanina aminotransferase -ALT); Fosfatase alcalina; 5'-Nucleotidase; Desidrogenase láctica; Coli-  
nesterase.

## SECREÇÃO BILIAR

Função da Bília

Componentes da Bília

Mecanismos de Secreção Biliar

Concentração da Bília na Vesícula Biliar

Regulação do Esvaziamento da Vesícula Biliar

Circulação Entero-Hepática dos Sais biliares

Controlo da Síntese e Secreção dos Ácidos biliares

## Tema: Alteração das Enzimas Hepáticas e das Funções de Síntese e de Excreção

### *Caso clínico*

Um doente de 46 anos, sexo masculino, recorreu ao S. Urgência devido a queda com fractura de uma costela. Referia desde há 3 semanas náuseas,

anorexia, dor no hipocôndrio dto, urina escura e fezes hipocólicas. Negava febre, calafrios e prurido. Tinha até então sido sempre saudável, negando a ingestão de medicamentos, transfusões de sangue e comportamentos de risco para a hepatite vírica. Referia o consumo de álcool desde há vários anos quantificado em cerca de 200 g/dia.

Apresentava febre 38 °C, icterícia das escleróticas, aranhas vasculares na face e no tronco, e o fígado era palpável 5 cm abaixo do rebordo costal. Não tinha esplenomegália, ascite ou edemas.

As investigações revelaram anemia macrocítica ligeira, leucocitose, glicémia 40mg/dl, bilirrubina total 4 mg/dL, bilirrubina directa 3.0 mg/dL, aspartato aminotransferase 120 UI/L, alanina aminotransferase 50 UI/L,  $\gamma$ -glutamiltanspeptidase 400 UI/L, fosfatase alcalina 120 UI/L, albumina sérica 2.9 g/dL,  $\gamma$ -globulina 2,4 g/dL, colesterol 320 mg/dL, tempo de protrombina 16/11 seg (50%). A ecografia hepática mostrou apenas um fígado aumentado de volume. Foi efectuada biópsia hepática que revelou alterações histológicas compatíveis com hepatite e cirrose alcoólicas.

### Questões:

- 1 – As análises apresentadas revelam lesão, alterações de síntese e de excreção do hepatócito. Identifique-as.
- 2 – Qual é a alteração analítica mais importante neste doente?
- 3 – Como se explica bioquimicamente a elevação das transaminases e porque há disparidade entre elas?
- 4 – Este doente apresenta elevação da fosfatase alcalina. Qual é a função hepática afectada?
- 5 – Que conjunto de análises traduzem a alteração dessa função hepática?
- 6 – A  $\gamma$ -glutamiltanspeptidase está desproporcionalmente elevada. Porquê?
- 7 – Que outras enzimas poderiam ser pesquisadas?
- 8 – Porque está a bilirrubina elevada?
- 9 – A elevação do colesterol é primária ou secundária?
- 10 – O tempo de protrombina está prolongado. Porquê? Nos casos de colestase prolongada o tempo de protrombina também está prolongado porquê?
- 11 – A  $\gamma$ -globulina está elevada e a albumina está diminuída. Como se interpretam estas alterações?
- 12 – Porque está a glicémia baixa?
- 13 – A doença hepática é responsável pela hipoglicémia? Ou o álcool?

**Hepatopatias e homeostasia da glicémia**

Regulação fisiológica pela interação entre o metabolismo hepático e as ações da insulina (hepáticas e periféricas).

Metabolismo hepático do etanol e modificações que induz a nível dos processos bioquímicos do hepatócito.

Cirrose e alterações da regulação da glicémia; disfunção do metabolismo hepático e das ações hormonais.

Que tipos celulares contêm transaminases em concentrações relevantes?

**AST:** Fígado; Músculo cardíaco; Músculo estriado; Rim; Pâncreas; Cérebro; Pulmões.

**ALT:** Fígado

**Qual é a importância das transaminases nas doenças do fígado?**

A\* Conceito de hepatite aguda e crónica

– *Hepatite aguda*: Inflamação aguda do fígado que se caracteriza bioquimicamente por elevação acentuada das transaminases (> 300 UI/L)

– *Hepatite crónica*: persistência das transaminases elevadas para além de 6 meses

B\* Monitorizar a eficácia do tratamento das hepatites crónicas (B, C e Delta, autoimune, etc)

**ELEVAÇÃO DAS TRANSAMINASES:**

*Muito acentuada* (> 10 x N)

Hepatite aguda vírica (A, B, C, D,E)

Intoxicações (CCl<sub>4</sub>; P, cogumelos)

Isquemia aguda do fígado

*Moderada* (< 10 x N)

Cirrose hepática

Hepatite alcoólica

Hepatite crónica

Obstrução biliar

**Doenças não hepatológicas em que as transaminases (AST) podem estar elevadas**

*Cardíacas*: Infarto do miocárdio

*Musculares*: Miosite; Distrofias

**Qual é o comportamento das transaminases na hepatite aguda e crónica?**

*Hepatite aguda*: brusca elevação seguida de diminuição gradual até a normalização

*Hepatite crónica*: elevação mantidas em forma de planalto ou com agudizações

**Que tipos celulares contêm fosfatase alcalina em concentração relevante ?**

Fígado; Osso; Placenta; Intestino delgado

**Fosfatase alcalina normalmente elevada**

Crianças; Gravidez (3º trimestre); Idosos; Grupos sanguíneos O e B

**ELEVAÇÃO DA FOSFATASE ALCALINA**

*Muito acentuada* (> 3 x N) *Moderada* (< 3 x N)

\* Obstrução biliar (cálculos, tumores das v. biliares)

\* Doenças inflamatórias das v. biliares

\* Hepatite aguda

\* Cirrose hepática

\* Metástases hepáticas

\* Granulomas

**Enzimas hepáticas cuja elevação traduz Colestase**Mais usadas clinicamente:

Fosfatase alcalina  
γ-glutamiltanspeptidase

Outras:

5'-Nucleotidase  
Leucina aminopeptidase

**Valores de referência:**

Aspartato aminotransferase < 27 UI/L

Bilirrubina total < 1 mg/dL

Fosfatase alcalina < 90 UI/L

γ-globulina < 1,6 g/dL

Glicémia 60-100 mg/dL

Alanina aminotransferase < 29UI/L

γ-glutamiltanspeptidase < 30 UI/L

Albumina > 3,0 g/dL

T. protrombina 80-100%

Colesterol < 250 mg/dl

**LÉXICO**

*Aranhas vasculares* – Angiomas cutâneos com a forma de estrela que surgem na face, parte superior do tronco e membros superiores de doentes com insuficiência hepática.

*Ascite* – Presença de líquido na cavidade abdominal.

*Biopsia* – Colheita de fragmento tecidual para exame histológico.

*Cirrose* – Transformação nodular e fibrótica do fígado.

*Colestase* – Síndrome (conjunto de sintomas ou sinais) definido clinicamente por prurido, icterícia e urina escura. Bioquimicamente por fosfatase alcalina elevada.

*Distrofia muscular* – Doença hereditária, degenerativa e atrofica, do músculo.

*Ecografia* – Exame de imagem que regista as diferentes propriedades acústi-

cas dos tecidos. Muito útil para o fígado, podendo detectar lesões ocupando espaço, dilatação das vias biliares, litíase, etc.

*Esplenomegália* – Aumento de volume do baço.

*Glicemia* – Glicose presente no sangue.

*Hepatite* – Inflamação do fígado caracterizada bioquimicamente por elevação das transaminases.

*Hepatite vírica* – Hepatites A, B, C, D, E.

*Icterícia* – Coloração amarelada da pele e/ou das escleróticas.

*Infarto* – Necrose tecidual por isquemia

*Leucocitose* – Aumento do número de glóbulos brancos no sangue.

*Miosite* – Inflamação do músculo

*T. protrombina* – Duração da conversão da protrombina em trombina. Estão envolvidos os factores da coagulação I, II, V, VII e X, todos produzidos pelo fígado. Pode ser expresso em segundos ou taxa.

*Xantoma* – Acumulação de lípidos na pele sob a forma de placas amarelo-esbranquiçadas.

#### IV SEMINÁRIO

### **Tema: MALABSORÇÃO. FUNDAMENTOS ESTRUTURAIS, BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS**

#### **Subtemas:**

#### **Intervenientes:**

Docentes convidados:

- Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ermelinda Camilo (Cadeira de Medicina II)
- Prof. Dr. Carlos E. Plancha (Instituto de Histologia)
- Dr. Miguel Raimundo (Instituto de Fisiologia)

Docentes do Instituto de Bioquímica/FML:

- Dr. Henrique Sobral do Rosário
- Dr. Jorge Lima

### **SÍNDROMA DE DIARREIA – CASO CLÍNICO**

#### *I – Anamnese e Observação:*

M.E.G.B., sexo feminino, 73 anos de idade, viúva, doméstica. Refere aos 4 anos de idade “peritonite tuberculosa”, tendo sido submetida a radioterapia abdominal. Desde os 13 anos tem episódios de diarreia caracterizados por 4-5 dejetões/dia de fezes líquidas, com lenteria (restos alimentares), sem sangue ou dores abdominais. Estes episódios tinham em regra duração superior a um mês, com intervalos livres de 2-3 meses. Controlava a diarreia com dieta sem leite e vegetais.

Aos 67 anos teve crise de diarreia profusa com desidratação, levando ao 1<sup>o</sup> internamento. Aos 69 anos ocorreu 2<sup>o</sup> internamento com diagnóstico de “colite de irradiação”. Desde os 71 anos apresenta diarreia permanente, com 4-5 dejetões diurnas e nocturnas de maior volume, emagrecimento (de 12 kg), adinamia, dores ósseas generalizadas, edemas dos membros inferiores. Todos estes sintomas se agravaram progressivamente e determinaram 3<sup>o</sup> internamento.

À observação estava apirética, desidratada e prostrada. Pesava 32 kg (índice de massa corporal de 13 kg/m<sup>2</sup>), com fusão das massas musculares e do tecido adiposo. Tinha palidez da pele e mucosas e edemas de declive e dos membros inferiores até à raiz das coxas (sinal de godet ++). Auscultação detectou ferveres subcrepitantes do 1/3 inferior de ambos os campos pulmo-



nares. Reptação de ansas intestinais visível na inspeção abdominal, com ruídos hidro-aéreos mantidos. Ulceração cutânea (com 3-4 cm de diâmetro) ao nível do maléolo interno da perna direita.

### Questões:

1. O que define diarreia?
2. Tem esta doente uma diarreia crónica? Justificação.
3. Em caso afirmativo, com quantos anos de duração?
4. Há na anamnese e na observação alguns indicadores de:
  - a) repercussões sistémicas e/ou malnutrição?
  - b) porção do tubo digestivo envolvida?
  - c) malabsorção?

### II – Avaliação laboratorial:

#### a) Fase 1 (geral):

Análises	Valores da doente	Valores de referência
glicémia		80-100 mg/dL
sódio	132 mEq/L	136-145 mEq/L
potássio		4,0-5,3 mEq/L
cálcio		9-11 mg/dL
fósforo		2,5-5,0 mg/dL
magnésio		1,8-2,4 mg/dL
fosfatase alcalina	490 U/L	50-180 U/L
proteínas totais		66-87 g/L
albumina		3,0-4,6 g/L
colesterol		180-250 mg/dL
hemoglobina		13,5-15,5 g/dL
vol. glob. médio	95	85-94

Complete, explicando, o Quadro de Análises acima mostrado.

#### b) Fase 2 (má-absorção):

Análises	Valores da doente	Valores de referência
ferro		V.R.: 9-27 $\mu$ mol/L
vit. B12		V.R.: 148-443 pmol/L

Que espera encontrar nestas análises?

#### Teste de Schilling:

- excreção urinária/24horas – 1,5% (V.R.: 11-28%)
- idem, após adição de factor intrínseco – sem alterações.

*Prova da D-xilose:*

– excreção urinária/5horas – 5% (V.R.: >20%)

*Doseamento de gorduras fecais:* 7,2 g/24horas (V.R.: <4,7g/24h).

*III – Biópsia do intestino delgado (diagnóstico definitivo):**Fisiologia -Motilidade do Tracto Digestivo Inferior*

## 1. Motilidade do Intestino Delgado:

- a) Padrão da actividade eléctrica.
- b) Padrão da actividade motora.
- c) Reflexos intestinais.
- d) Complexo Mioeléctrico Migratório.

## 2. Motilidade do Cólon:

- a) Padrão da actividade eléctrica.
- b) Motilidade da porção terminal.
- c) Motilidade da porção distal.
- d) Reflexos cólicos.

**Histologia Intestinal**

- Estrutura histológica do tubo digestivo. Mucosa, sub-mucosa, muscular e adventícia.
- Porções envolvidas na fragmentação e transporte de alimentos, na digestão, na absorção de água e nutrientes e na formação do bolo fecal.
- Características da mucosa do intestino delgado. Epitélio, lâmina própria e *muscularis mucosae*. Vilosidades e criptas. Tecido linfóide associado à mucosa do tubo digestivo.
- Tipos celulares no epitélio intestinal: enterocitos, células caliciformes, células entero-endócrinas, células de Paneth e células precursoras.
- Proliferação e diferenciação celulares no epitélio intestinal.
- Diferenciações morfo-funcionais no enterocito. Complexos juncionais intercelulares: junções oclusivas, adesivas e de comunicação. Domínio membrana apical: microvilosidades e transportadores. Região pericelular apical: glicocálice. Domínio membrana baso-lateral: transportadores. Região pericelular baso-lateral: lâmina basal.

## BIOQUÍMICA DA DIGESTÃO E ABSORÇÃO

### 1. *Glúcidos*

Digestão e absorção.

### 2. *Proteínas:*

Digestão no estômago, duodeno e intestino delgado.

Absorção dos produtos de digestão.

### 3. *Lípidos:*

Função do estômago.

Digestão e formação de micelas.

Absorção dos produtos de digestão.

Formação e transporte dos quilomicra.

### 4. *Ferro:*

Ferro ionizado versus ferro hémico.

Fe<sup>2+</sup> como forma mais solúvel; mecanismos de absorção.

Enterocito como regulador da absorção.

### 5. *Vitamina B<sub>12</sub>:*

Ligação a proteínas da dieta.

Importância da glicoproteína R e do factor intrínseco.

### 7. *Cálcio:*

Absorção activa intestinal do cálcio.

Proteínas ligadoras de cálcio: membrana apical e citosol; canais iónicos baso-laterais.

Regulação da absorção de cálcio: Vitamina D e PTH.

Associação com absorção de fosfato e magnésio.

### 8. *Sódio / potássio / cloreto / bicarbonato:*

Processos de absorção dependentes do segmento intestinal.

Mecanismos de transporte activo versus difusão.

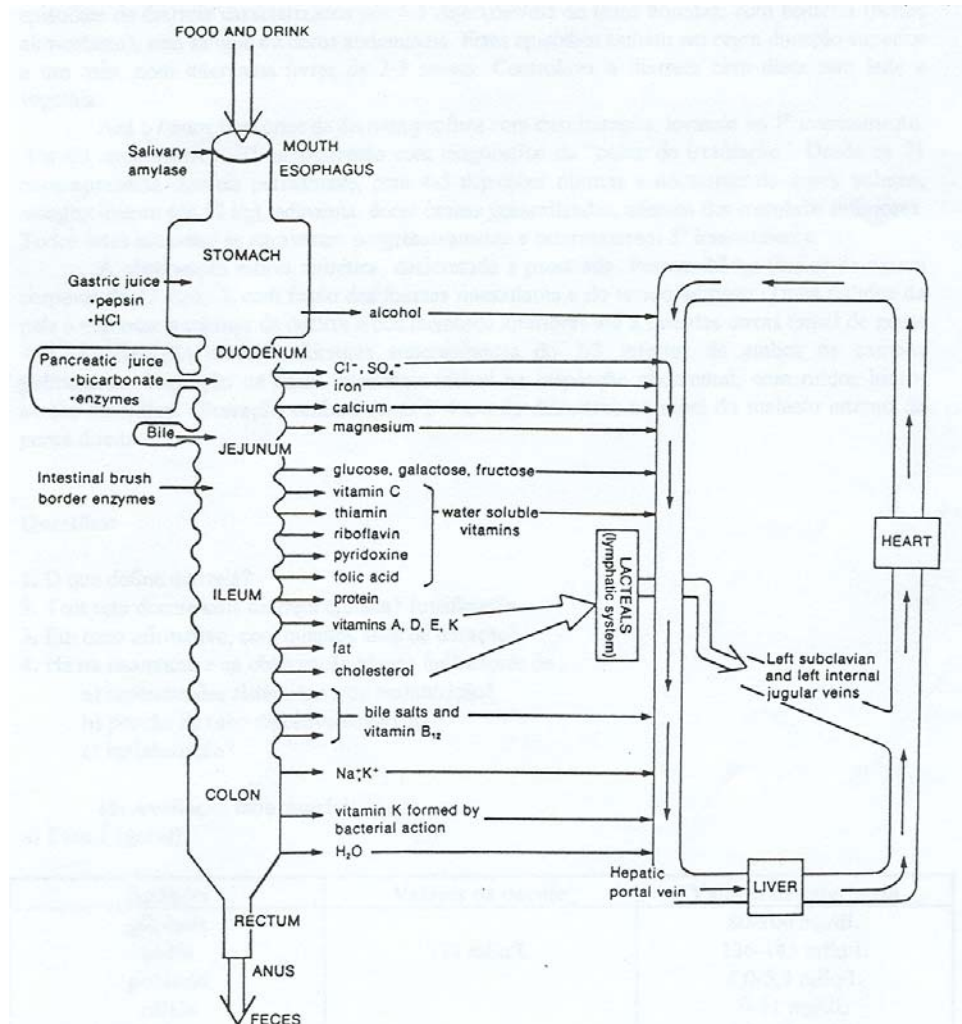
## OBJECTIVOS DE APRENDIZAGEM

O quadro clínico como resultante e indicador de desequilíbrios estruturais, bioquímicos e fisiológicos.

1. Causa *versus* Efeito: doença / qualidade de vida / vida.
2. Relevância da análise e reflexão sobre os sintomas e sinais = factos da história e observação clínica.
3. Conscencialização de que sintomas e sinais resultam de causas (mecanismos): reflexão sobre potenciais mecanismos; o que é subjacente a ...
4. Noção de doença e comorbilidades.
5. A articulação optimizada (necessidades de conhecimentos e valorização) determina a hierarquização responsável de gastos e atitudes para atingir objectivos = máxima eficácia com menores custos.
6. Exames auxiliares de diagnóstico: porquê?, quais?, quando?, para quê? = objectivos claros pré-definidos.

Cada exame (análise ou outro) tem de ser pedido com fundamentação em hipóteses (no real e no possível), isto é, tem de servir para confirmar/objectivar/valorizar algo que foi suspeitado através da integração do conhecimento de mecanismos potenciais na situação clínica concreta daquele individuo concreto (Ser humano psíquico e físico).

7. Prioridades: risco de vida / qualidade de vida = decisões/intervenções atempadas.



**VI SEMINÁRIO****Tema: BIOQUÍMICA DO EQUILÍBRIO ÁCIDO-BASE****Subtemas:****Intervenientes:**

Docentes convidados:

- Prof. Doutor A. Vaz Carneiro (Cadeira de Medicina III-A)
- Prof. Doutor F. Coelho Rosa (Cadeira de Pediatria III)

Docentes do Instituto de Bioquímica/FML:

- Dr. Jorge Lima (Assistente)
- Dr. Henrique Sobral do Rosário (Assistente)

**Casos Clínicos****1. Homem com alteração da consciência**

- homem de 55 anos com bronquite crónica conhecida
- desde há uns dias instalou-se um quadro de tosse + expectoração + febre
- transportado ao banco do H. S. Maria por confusão mental progredindo para coma superficial

Análises à entrada:

**SORO:**

Creatinina (mg/dL)	0,5
Na <sup>+</sup> (mEq/L)	139
K <sup>+</sup> (mEq/L)	4,7
Cl <sup>+</sup> (mEq/L)	100
HCO <sub>3</sub> (mEq/L)	32

**GASIMETRIA ARTERIAL**

pH	7,22
PaCO <sub>2</sub> (mmHg)	80
PaO <sub>2</sub> (mmHg)	50
[H <sup>+</sup> ] (mEq/L)	60

## 2. Mulher com ataque de pânico

- mulher de 28 anos de idade, referindo ser “muito nervosa” desde a adolescência
- após uma discussão familiar, desenvolve um quadro de histeria com hiperpneia + contracturas musculares + parestesias
- é trazida ao banco por este quadro

Análises à entrada:

*SORO:*

Creatinina (mg/dL)	1,1
Na <sup>+</sup> (mEq/L)	135
K <sup>+</sup> (mEq/L)	3,2
Cl <sup>+</sup> (mEq/L)	105
HCO <sub>3</sub> (mEq/L)	22

GASIMETRIA ARTERIAL

pH	7,59
PaCO <sub>2</sub> (mmHg)	24
PaO <sub>2</sub> (mmHg)	90
[H <sup>+</sup> ] (mEq/L)	26

## 3. Homem com traumatismo craniano

- homem de 44 anos de idade, internado com traumatismo craniano após acidente de viação
- à entrada estava agitado e teve uma pequena convulsão; uma TAC demonstrou um hematoma intra-parenquimatoso esquerdo
- à entrada o doente tinha uma TA de 80/60 mmHg, um pulso de 120 pp/mn e uma frequência respiratória de 45/mn

Análises à entrada:

*SORO:*

Creatinina (mg/dL)	1,4
Na <sup>+</sup> (mEq/L)	154
K <sup>+</sup> (mEq/L)	4,5
Cl <sup>+</sup> (mEq/L)	122
HCO <sub>3</sub> (mEq/L)	21

## GASIMETRIA ARTERIAL

pH	7,49
PaCO <sub>2</sub> (mmHg)	28
PaO <sub>2</sub> (mmHg)	80
[H <sup>+</sup> ] (mEq/L)	32

**4. Mulher com falência renal, respiratória e caroiaca**

- mulher de 29 anos internada com hipertensão arterial grave, oligúria e edema pulmonar
- gravidez anterior complicada por eclâmpsia
- notou diminuição do volume da urina, cefaleias e edemas periféricos

Análises à entrada:

*SORO:*

Creatinina (mg/dL)	2,0
Na <sup>+</sup> (mEq/L)	132
K <sup>+</sup> (mEq/L)	4,5
Cl <sup>+</sup> (mEq/L)	106
HCO <sub>3</sub> (mEq/L)	13

## GASIMETRIA ARTERIAL

pH	7,34
PaCO <sub>2</sub> (mmHg)	38
PaO <sub>2</sub> (mmHg)	56
[H <sup>+</sup> ] (mEq/L)	46

Valores de Referência

*SORO:*

Creatinina	0,6 – 1,2 (mg/dL)
Na <sup>+</sup>	136 – 142 (mEq/L)
K <sup>+</sup>	3,6 – 5 (mEq/L)
Cl <sup>+</sup>	95 – 103 (mEq/L)
HCO <sub>3</sub>	24 (mEq/L)

## GASIMETRIA ARTERIAL:

pH	7,24
PaCO <sub>2</sub>	40 (mmHg)
PaO <sub>2</sub>	95 – 100 (mmHg)
[H <sup>+</sup> ]	40 (mEq/L)

## BREVES NOÇÕES SOBRE EQUILÍBRIO ÁCIDO-BASE

A. Vaz Carneiro

### 1. Conceitos básicos da fisiologia ácido-básica

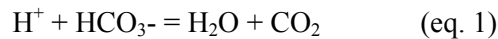
Glossário de termos usados neste texto:

- H<sup>+</sup> – hidrogenião
- [H<sup>+</sup>] – concentração de hidrogeniões
- HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> ou HCO<sub>3</sub> – ião bicarbonato
- [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>]p – concentração plasmática de bicarbonato
- PaCO<sub>2</sub> – pressão parcial de anidrido carbónico no sangue arterial
- Cl<sup>-</sup> ou Cl – ião cloro
- Na<sup>+</sup> – ião sódio
- a-b – ácido base

A resposta homeostática do organismo às variações da concentração plasmática de H<sup>+</sup> ([H<sup>+</sup>]p) – que normalmente se expressa sob a forma de pH (pH = -log [H<sup>+</sup>]) – processa-se em três estádios sequenciais:

- 1) tamponamento químico imediato por solutos-tampão intra e extracelulares
- 2) alteração da ventilação pulmonar (minutos a horas mais tarde) tendo como resultante a modulação da pressão arterial de CO<sub>2</sub> (PaCO<sub>2</sub>)
- 3) alterações da excreção renal de H<sup>+</sup> (horas a dias mais tarde), com consequente regulação da concentração plasmática de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> ([HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>]p) num novo estado de equilíbrio.

A homeostase do equilíbrio ácido-básico (a-b) pode ser facilmente compreendida em termos do sistema-tampão bicarbonato:



Em estado de equilíbrio, a relação entre estes compostos pode ser exprimida pela equação de Henderson:

$$[\text{H}^+] = \frac{24 \times \text{PaCO}_2}{[\text{HCO}_3^-]_p} \quad (\text{eq. 2})$$

ou pela equação de Henderson-Hasselbach

$$\text{pH} = 6,10 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]_p}{0,03 \times \text{PaCO}_2} \quad (\text{eq. 3})$$



Este sistema tem papel central na manutenção do equilíbrio ácido-base, porque a  $[\text{HCO}_3^-]_p$  pode ser regulada pela excreção renal de  $\text{H}^+$ , e, independentemente, a  $\text{PaCO}_2$  pode ser regulada através da ventilação pulmonar. Em circunstâncias fisiológicas normais, existe um estado de equilíbrio, devido ao facto dos índices de produção de  $\text{H}^+$  e de  $\text{CO}_2$  serem equilibrados pelos seus índices de excreção. Assim, a  $[\text{H}^+]$  é mantida dentro de limites relativamente pequenos (quadro I):

Quadro I – Valores normais ácido-base

Plasma	pH	$[\text{H}^+]$ nanomol/L	$\text{PaCO}_2$ mmHg	$[\text{HCO}_3^-]_p$
ARTERIAL	7,37-7,43	37-43	36-44	22-26
VENOSO	7,32-7,38	42-48	42-50	23-27

As alterações da homeostase ácido-base definem-se utilizando os seguintes termos:

**Acidémia:** subida da  $[\text{H}^+]$ , com baixa do pH

**Alcalémia:** baixa da  $[\text{H}^+]$ , com subida do pH

**Nonnocápnia:**  $\text{PaCO}_2$  normal

**Hipercápnia:** subida da  $\text{PaCO}_2$

**Hipocápnia:** baixa da  $\text{PaCO}_2$

**Nonnobicarbonatémia:**  $[\text{HCO}_3^-]_p$  normal

**Hiperbicarbonatémia:** subida da  $[\text{HCO}_3^-]_p$

**Hipobicarbonatémia:** baixa da  $[\text{HCO}_3^-]_p$

**Acidose:** processo fisiopatológico tendente a acidificar o organismo

**Alcalose:** processo fisiopatológico tendente a alcalinizar o organismo

**Acidose metabólica:** alteração do equilíbrio ácido-básico iniciada por redução da  $[\text{HCO}_3^-]_p$

**Acidose Respiratória:** alteração do equilíbrio ácido-base iniciado por aumento da  $\text{PaCO}_2$ .

**Alcalose Metabólica:** alteração do equilíbrio ácido-base iniciado por aumento da  $[\text{HCO}_3^-]_p$ .

**Alcalose Respiratória:** alteração do equilíbrio ácido-base iniciado por diminuição da  $\text{PaCO}_2$ .

**Alterações simples do equilíbrio a-b:** presença de uma alteração primária juntamente com a respectiva resposta secundária.

**Alterações mistas do equilíbrio a-b:** presença simultânea de duas ou mais alterações primárias (por ex. acidose respiratória + alcalose metabólica).

Como se pode constatar, as alterações clínicas do equilíbrio a-b classificam-se de acordo com a variável fisiológica que é directamente afectada pelo processo fisiopatológico inicial:  $[\text{HCO}_3^-]_p$  ou  $\text{PaCO}_2$ . Assim, as que se caracterizam por alteração inicial (subida ou descida) da concentração plasmática de bicarbonato ( $[\text{HCO}_3^-]_p$ ) designam-se por metabólicas, enquanto que as alterações do equilíbrio a-b caracterizadas por subida ou descida inicial da pressão parcial de anidrido carbónico ( $\text{PaCO}_2$ ) se designam por respiratórias. O processo inicial responsável pela irrupção de cada uma destas quatro alterações principais do equilíbrio a-b (acidose e alcalose metabólicas e acidose e alcalose respiratórias), provoca não só uma mudança da acidez plasmática, mas também o início de uma série de processos fisiológicos secundários de resposta àquela, que vão alterar o valor do outro membro-par do sistema tampão bicarbonato; por outras palavras, as alterações metabólicas induzem respostas secundárias ventilatórias que alteram a  $\text{PaCO}_2$ , enquanto que as alterações respiratórias induzem respostas secundárias renais que vão alterar a  $[\text{HCO}_3^-]_p$  (quadro II).

**Quadro II** – As 4 alterações principais do equilíbrio a-b

TIPO	Alteração primária	Resposta secundária	Mecanismo da resposta secundária
ACIDOSE METABÓLICA	diminuição da $[\text{HCO}_3^-]_p$	diminuição da $\text{PaCO}_2$	hiperventilação
ALCALOSE METABÓLICA	aumento da $[\text{HCO}_3^-]_p$	aumento da $\text{PaCO}_2$	hipoventilação
ACIDOSE RESPIRATÓRIA	aumento da $\text{PaCO}_2$	aumento da $[\text{HCO}_3^-]_p$	titulação dos solutos tampão tecidulares, com aumento transitório da excreção de ácido e aumento mantido da reabsorção de $\text{HCO}_3^-$ pelo rim
ALCALOSE RESPIRATÓRIA	diminuição da $\text{PaCO}_2$	diminuição da $[\text{HCO}_3^-]_p$	titulação dos solutos tampão tecidulares, com supressão transitória da excreção de ácido e redução mantida da reabsorção de $\text{HCO}_3^-$ pelo rim

## 2. Avaliação clínica das alterações do equilíbrio ácido-base

As alterações do equilíbrio ácido-base devem ser sistematicamente procuradas por duas razões fundamentais: em primeiro lugar, para obter a sua correcção, e em segundo lugar, porque aquelas podem ser a indicação inicial da existência de uma situação patológica subjacente. Tendo em vista a complexidade e a variabilidade de expressão das alterações a-b, é conveniente uma abordagem sistemática, quando de posse dos valores laboratoriais mínimos para uma interpretação inicial correcta (gasometria arterial, ionograma sérico). A referida abordagem obtém-se respondendo às seguintes questões:

1. Existe alteração do equilíbrio ácido-base?
2. De que tipo de alteração primária (metabólica ou respiratória) se trata?
3. É uma alteração simples ou mista?
4. Qual a sua etiologia?

1. Existe alteração do equilíbrio ácido-base?

Muitas vezes, a descoberta de uma alteração do equilíbrio – a-b é puramente casual, na interpretação de gases no sangue ou ionograma de rotina. A necessidade de se obter gasometria arterial deve basear-se na história e no exame clínico do doente, e no conhecimento das patologias que provocam mais frequentemente alterações do pH sérico:

Acidose metabólica:	Sépsis, insuficiência renal, coma, diarreia, ceto-cetose diabética, insuficiência hepática, ingestão crónica de salicilatos e certas intoxicações (metanol, etc.)
Alcalose metabólica:	vómitos/aspiração gástrica, uso de diuréticos (não incluídos os poupadores de potássio).
Acidose respiratória:	paragem cárdio-respiratória, coma, DPCO, intoxicação por sedativos
Alcalose respiratória:	sépsis, embolismo pulmonar, insuficiência hepática, intoxicação por salicilatos (fase inicial)

Baseados nestes quadros clínicos, a obtenção dos gases no sangue pode dar o diagnóstico correcto na maior parte dos casos. Raramente, os valores de pH, PaCO<sub>2</sub> e HCO<sub>3</sub> podem estar dentro dos limites da normalidade e mesmo assim haver alteração do equilíbrio a-b: por ex: situações mistas (acidose e alcalose metabólicas no mesmo doente).

2. De que tipo de alteração primária se trata?

Uma vez que se tenha chegado à conclusão de que existe alteração do equilíbrio a-b, é fundamental caracterizá-la em metabólica ou respiratória (vide supra). Para isso, torna-se necessário estudar os valores de pH e de PaCO<sub>2</sub> e de HCO<sub>3</sub> dos gases do sangue, usando o quadro III para obtenção do diagnóstico inicial.

**Quadro III** – Padrões de alterações primárias -ácido-base

pH	[HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ]p mEq/L	PaCO <sub>2</sub> mmHg	Diagnóstico
< 7,35	< 24	< 40	Acidose metabólica
> 7,45	< 24	< 40	Alcalose respiratória
< 7,35	> 24	> 40	Acidose respiratória
> 7,45	> 24	> 40	Alcalose metabólica

### 3. É alteração simples ou mista?

A descrição inicial do transtorno ácido-base usando este quadro nem sempre é correcto porque pode estar-se na presença simultânea de mais do que um processo primário. Para o esclarecimento desta questão, há que estudar se as respostas secundárias (compensadoras) às alterações primárias do equilíbrio ácido-base são as que se encontrariam em condições normais. As respostas secundárias às alterações primárias do equilíbrio ácido-base, em condições fisiológicas normais, são bem previsíveis e estão definidas no quadro IV:

**Quadro IV** – Regras para interpretação de alterações do equilíbrio ácido-base

ALTERAÇÃO A-B	REGRA
ACIDOSE METABÓLICA	por cada mEq de $[\text{HCO}_3^-]_p$ inferior a 24 mEq/L, a $\text{PaCO}_2$ deve baixar 1 a 1,5 mmHg
ALCALOSE METABÓLICA	por cada mEq de $[\text{HCO}_3^-]_p$ superior a 24 mEq/L, a $\text{PaCO}_2$ deve subir 0,25 a 1 mmHg
ACIDOSE RESPIRATÓRIA AGUDA	por cada 10 mmHg de $\text{PaCO}_2$ superior a 40, a $[\text{HCO}_3^-]$ deve subir 1 mEq/L
ACIDOSE RESPIRATÓRIA CRÓNICA	por cada 10 mmHg de $\text{PaCO}_2$ superior a 40, a $[\text{HCO}_3^-]$ deve subir 4 mEq/L
ALCALOSE RESPIRATÓRIA AGUDA	por cada 10 mmHg de $\text{PaCO}_2$ inferior a 40, a $[\text{HCO}_3^-]$ deve baixar 1 a 3 mEq/L (mínimo 18 mEq/L)
ALCALOSE RESPIRATÓRIA CRÓNICA	por cada 10 mmHg de $\text{PaCO}_2$ inferior a 40, a $[\text{HCO}_3^-]$ deve baixar 2 a 5 mEq/L (mínimo 14 mEq/L)

Ao aplicar este quadro (ou, em seu lugar, um nomograma baseado nas mesmas relações) dever-se-á ter em mente vários pontos cruciais: (1) se as alterações do equilíbrio a-b forem de muito pequena amplitude, pode ser difícil a sua caracterização, já que os valores cairão dentro dos limites da normalidade; (2) o facto dos valores serem sobreponíveis aos calculados utilizando esta tabela, não nos dá garantia da existência de uma alteração simples; a clínica e restantes testes laboratoriais deverão confirmar o possível diagnóstico; (3) estes valores são baseados em estudos feitos em estados de equilíbrio, pelo que se não deverão aplicar tão directamente em situações de rápida evolução clínica.

### 4. Qual a etiologia da alteração ácido-base encontrada?

A lista de situações capazes de provocar alterações do equilíbrio a-b é demasiada extensa para ser incluída nestes textos de apoio. Limitar-nos-emos a citar algumas das mais frequentes.

#### *Acidose metabólica*

No diagnóstico diferencial de acidose metabólica o valor mais importante é o do hiato aniónico (“anion gap”). Este é a diferença entre a concentração de sódio no plasma e dos aniões mais importantes (cloretos e bicarbonato):

$$A.G. = Na^+ - (Cl + HCO_3) \quad (eq.4)$$

Valor normal: 10 a 14 mEq/L

**Quadro V** – “Anion gap” no diagnóstico diferencial da acidose metabólica

A. “Anion gap” normal (acidose hiperclorêmica):
diarreia acidoses tubulares renais (tipo 1, 2 e 4) insuficiência renal moderada (IFG > 20 ml/mn) doenças tubulo-intersticiais hiperalimentação parentérica
B. “Anion gap” aumentado
cetose diabética, alcoólica acidose láctica insuficiência renal aguda insuficiência renal crônica terminal (IFG > 10 ml/mn) intoxicações (salicilatos, etilenoglicol, metanol, etc.) rabdomiólise

*Alcalose metabólica*

Na alcalose metabólica, é a concentração de cloretos na urina o valor mais útil no diagnóstico diferencial:

**Quadro VI** – Concentração de cloretos na urina em doentes com alcalose metabólica

< 15 mEq/L	> 20 mEq/L
Vômitos	Excesso de mineralocorticóides
Aspiração naso-gástrica	Sindr. Cushing e de Bartter
Diuréticos	Administração de HCO <sub>3</sub>
Pós-hipercápnia	Hipokaliémia (< 2 mEq/L)

*Acidose Respiratória*

As causas de acidose respiratória podem, numa maneira geral, ser divididas em vários grupos, não havendo nenhum teste específico para a sua diferenciação: inibição do centro respiratório medular (intoxicações, paragem cardíaca), alterações da parede e dos músculos torácicos (cifoescoliose, polio, s. de Guillain-Barré), obstrução das vias aéreas (corpo estranho, laringoespasmo), alterações da difusão gasosa (DPCO, ARDS, edema pulmonar) e ventilação mecânica.

### *Alcalose respiratória*

A alcalose respiratória é a mais rara das 4 alterações principais do equilíbrio a-b e pode ser causada por situações que provocam hipoxémia (embolismo pulmonar, ICC, anemia grave, pneumonia intersticial), por doença pulmonar, por estimulação directa dos centros respiratórios medulares (sépsis, insuficiência hepática, A VC, histeria) e por ventilação mecânica.

### **3. Regras práticas no diagnóstico de alterações do equilíbrio ácido-base**

1. Obtenha ionograma e gasometria arterial simultaneamente.
2. Compare os valores de  $[\text{HCO}_3^-]_p$  do ionograma (que é medido directamente) e dos gases no sangue (que é calculado pelo computador do aparelho utilizando a equação de Henderson-Hasselbalch, baseando-se nos valores medidos de pH e de  $\text{PaCO}_2$ ). Se houver diferença superior a 1-2 mEq/L, calcule a  $[\text{HCO}_3^-]_p$  dos gases, utilizando a equação de Henderson:

$$[\text{H}^+] \text{ (nEq/L)} = \frac{\text{PaCO}_2 \text{ (mmHg)}}{[\text{HCO}_3^-]_p \text{ (mEq/L)}} \times 24$$

Para isso, deverá converter o pH em  $[\text{H}^+]$ , utilizando uma tabela própria. Alternativamente, poderá obter esta conversão utilizando a seguinte mnemónica: a um pH de 7,40 corresponde uma  $[\text{H}^+]$  de 40 mEq/L: entre pH 7,20 e 7,50, cada mudança de 0,01 no pH corresponde uma mudança de  $[\text{H}^+]$  de 1 mEq/L, na direcção oposta. Por ex.: a um pH de 7,41 corresponde uma  $[\text{H}^+]$  de 39, e a um pH de 7,39 corresponde uma  $[\text{H}^+]$  de 41 (e assim por diante).

3. Calcule o “anion gap”.
4. Calcule o grau de compensação que espera encontrar, utilizando o quadro IV.
5. Compare a mudança da concentração sérica de  $\text{Na}^+$  com  $\text{Cl}^-$ , o “anion gap” com a concentração sérica de bicarbonato, e o  $\text{Cl}^-$  com  $[\text{HCO}_3^-]_p$ .

### Referências

1. Rase BD. Clinical Physiology of Acid-Base and Electrolyte Disorders. McGraw-Hill International Editions. 1994
2. Adrogue HJ, Wessan DE. Acid-Base. Blackwell Scientific Publications. 1994
3. Martin L. All you Really Need to Know to Interpret Arterial Blood Gases. Lea & Febiger. 1992

## VIII SEMINÁRIO

### Tema: ATEROSCLEROSE E TROMBOSE

#### Subtemas:

#### Intervenientes:

Docentes convidados:

- Prof. Dr. Fausto Pinto (Medicina III-A)
- Prof. Dr. António José Cidadão (Instituto de Histologia)
- Dr. Mário Marques (Instituto de Fisiologia)

Docentes do Instituto de Bioquímica/FML:

- Dr. Henrique Sobral do Rosário

#### Clínica da aterosclerose

##### *I – Significado das apresentações clínicas.*

A aterosclerose é a principal responsável pela mortalidade e morbidade no Mundo Ocidental. A sua localização arterial pode assumir vários aspectos, originando várias situações patológicas, das quais as mais frequentes são os acidentes vasculares cerebrais (A VC), os síndromes isquémicas do miocárdio (angina instável ou enfarte agudo do miocárdio) e insuficiência arterial periférica.

##### *II – Como avaliar a gravidade da doença isquémica?*

É hoje em dia possível avaliar a gravidade da doença aterosclerótica, quer antes desta se manifestar quer após ter ocorrido um evento arterial, neste caso para fazer a chamada estratificação do risco. Assim, em relação à aterosclerose coronária, para além dos elementos de ordem clínica (por exemplo, história de angina de peito de esforço) há um conjunto de métodos que nos permitem avaliar a sua gravidade. Incluem-se nestes os métodos não-invasivos (por exemplo, electrocardiograma, ecocardiograma, cintigrafia de perfusão) e os invasivos (como a angiografia coronária). É ainda possível não só avaliar a morfologia da árvore coronária mas também a sua vasomotricidade, através de testes de estimulação utilizando determinados fármacos. Assim, utilizando ergonovína é possível diagnosticar espasmo coronário, e o uso de acetilcolina permite-nos avaliar se a função endotelial está intacta,

originando vasodilatação se o endotélio estiver íntegro (através da libertação de monóxido de azoto), ou vasoconstrição se houver disfunção endotelial. Existem ainda outros métodos que nos permitem avaliar mais detalhadamente a morfologia da placa aterosclerótica (ultrassonografia intracoronária) e o fluxo sanguíneo coronário, incluindo a reserva de fluxo coronário, índice também da função da microcirculação coronária (Doppler intracoronário).

### *III – Como intervir na história natural da aterosclerose?*

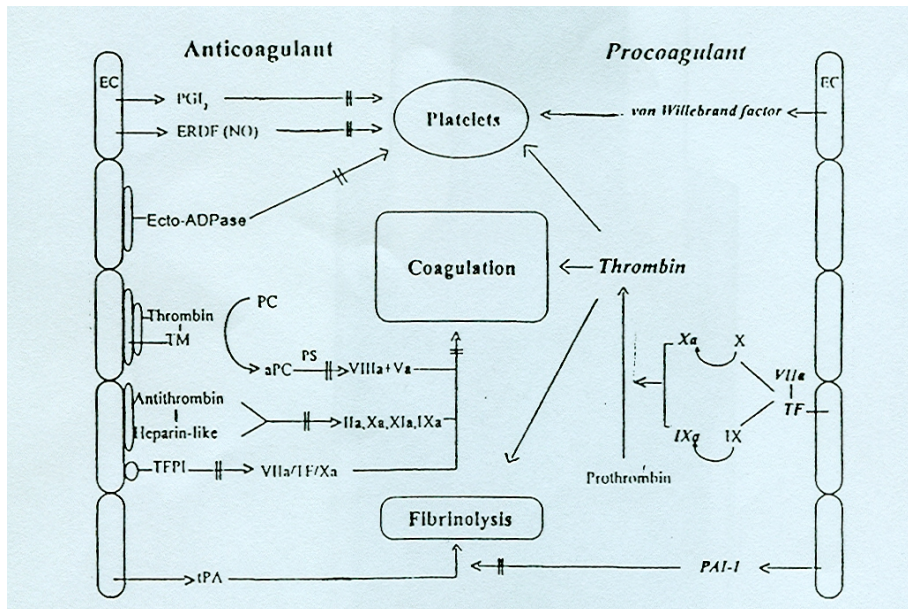
De que forma é que podemos intervir na história natural da aterosclerose, como a coronária? Em primeiro lugar através da chamada prevenção primária, procurando corrigir os factores de risco que hoje em dia sabemos serem responsáveis pelo desenvolvimento da aterosclerose. Entre estes os mais importantes são a hipertensão arterial, a hipercolesterolemia, a diabetes mellitus e o tabagismo, pelo que a identificação destas situações é fundamental, dado que a sua correcção permite interferir dramaticamente no desenvolvimento de complicações graves. Uma vez feito o diagnóstico de isquémia do miocárdio é possível interferir através do recurso a fármacos (por exemplo, antagonistas dos canais de cálcio, nitratos, bloqueadores dos receptores  $\beta$ -adrenérgicos) ou revascularizando os territórios em sofrimento, quer por métodos de intervenção (por exemplo, angioplastia por balão), quer por métodos cirúrgicos (“bypass” aorto-coronário).

### **Mecanismos bioquímicos de regulação da função da parede vascular**

- *NO (monóxido de azoto):*
  - síntese endotelial por intermédio da enzima NO sintase (isoenzima endotelial); dependência da arginina.
  - mecanismo de acção:  $\oplus$  da Guanil ciclase, com GMPc como 2<sup>o</sup> mensageiro.
  - acção a nível do músculo liso vascular – relaxamento muscular.
  - acções vasculares acessórias: inibição da adesão e activação plaquetária; inibição da adesão e migração leucocitária.
- *Endotelina:*
  - molécula peptídica (21 a.a.); endotelina I como isoforma endotelial.
  - acção na célula-alvo: 2 sub-tipos de receptores membranares ( $ET_A$  e  $ET_B$ , com diferentes localizações);  $\oplus$  da via dos fosfoinositóis e despolarização da membrana celular.
  - acção a nível do músculo liso vascular – contracção muscular, por  $\uparrow$  do  $Ca^{2+}$  intracelular.
  - acções vasculares acessórias: activação leucocitária; mitogénio e co-mitogénio celular (células musculares lisas, fibroblastos).



- **Inervação da parede vascular:**
  - diferentes tipos de terminações nervosas vasculares: inervação vegetativa simpática (norepinefrina; ATP); inervação purinérgica (ATP); inervação sensitiva peptidérgica (substância P; CGRP; ATP).
  - interacções tróficas entre endotélio e terminações nervosas vasculares como reguladoras da função da parede vascular.
- **Endotélio como superfície anti-coagulante versus pro-coagulante:**



**Bibliografia:**

- The L-arginine-nitric oxide pathway: role in atherosclerosis and therapeutic implications. *Atherosclerosis* 1996; 127:1-11
- The role of endothelin in coronary atherosclerosis. *Mayo Clin. Proc.* 1996; 71:769-777.
- Role of endothelium in thrombosis and hemostasis. *Annu. Rev. Med.* 1996; 47:315-331.

**Caso clínico**

*Parte I*

Um homem de 55 anos veio à Consulta de Cardiologia por queixas de dor retrosternal.

Tinha história de hipertensão arterial desde há 10 anos controlada medicamente, e de hipercolesterolemia. Refere desde há 2 meses episódios de mal estar retrosternal, com irradiação à mandíbula e membro superior esquerdo, relacionados sobretudo com as emoções mas também desencadeados pelo frio, com duração de 4-5 minutos. Realizou ECG em repouso que é normal; fez prova de esforço em tapete rolante que é inconclusiva; e fez um Holter (registo ECG durante 24 horas) que mostra alterações da repolarização ventricular com infradesnivelamento do segmento ST-T com cerca de 3 mm, sem relação com qualquer esforço. É iniciada terapêutica com nitratos,  $\beta$ -bloqueantes e ácido acetilsalicílico.

Ao fim de 1 mês o doente refere ausência de melhoria significativa dos sintomas, pelo que foi recomendada realização de coronariografia, a qual revelou irregularidades do lúmen das artérias coronárias, sem estreitamentos significativos (<50%). Foi realizado teste de provocação com a ergonovina que desencadeou espasmo da artéria coronária direita, no seu segmento médio, numa zona com uma lesão de 30% de estenose antes da ergonovina, acompanhado de dor retrosternal e de alterações do ECG. O doente é então medicado com diltiazem (antagonista dos canais de cálcio), mantendo os nitratos e o ácido acetilsalicílico.

Após a terapêutica instituída refere melhoria das queixas, tendo ficado assintomático.

## *Parte II*

Cerca de 1 ano depois, na sequência duma emoção (morte de familiar), refere episódio de dor retrosternal, transfixiva, prolongada, com sensação de náuseas, e hipersudorese, pelo que recorre ao Serviço de Urgência após 3 horas de dor. Aí é diagnosticado enfarte agudo do miocárdio da parede anterior em evolução, pelo que fez trombólise com rtPA, com critérios de reperfusão, tendo uma evolução clínica não complicada.

Fez prova de esforço pré-alta que desencadeou isquémia do miocárdio, pelo que repetiu cateterismo coronário. Este demonstrou a existência duma lesão crítica da artéria descendente anterior esquerda, que foi submetida a PTCA (angioplastia por balão) com bom resultado. O doente teve alta medicado com captopril (inibidor da enzima de conversão da angiotensina), nitratos, diltiazem e ácido acetilsalicílico, encontrando-se clinicamente bem ao fim de 6 meses de “follow-up”.

## **Clínica da aterosclerose**

- Significado das apresentações clínicas. Isquémia do miocárdio. O que é a angina de peito? Síndrome isquémico agudo (enfarte agudo do miocárdio *versus* angina instável). Acidentes vasculares cerebrais.

Insuficiência arterial periférica.

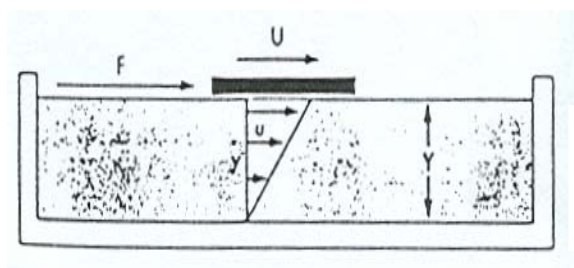
- Como avaliar a gravidade da doença isquémica? Métodos de imagem: não invasivos (electrocardiograma, ecocardiograma, cintigrafia de perfusão); invasivos (angiografia). Como avaliar a função endotelial? Avaliação da vasomotricidade (por exemplo, com acetilcolina) e fluxo (por exemplo com adenosina ou papaverina).
- Como intervir na história natural da aterosclerose? Prevenção primária (factores de risco – tabagismo, hipertensão arterial, hipercolesterolemia, diabetes mellitus, obesidade, sedentarismo); Prevenção secundária (correção dos factores de risco, papel dos antiagregantes plaquetários); Prevenção terciária (terapêutica médica, de intervenção – angioplastia por balão, cirurgia).

### **Aterosclerose e factores hemodinâmicos**

As lesões ateroscleróticas são mais frequentes na circulação sistémica, nas artérias, em zonas de fluxo em turbilhão (ramificações, curvaturas e dilatações fusiformes) e apresentam graus de gravidade muito variáveis de território para território vascular. Assim, os territórios vasculares que mais frequentemente provocam manifestações clínicas devidas a aterosclerose são as artérias musculares de tamanho médio (coronárias, carótidas, basilar, vertebrais, ilíacas e femurais) e as artérias de grande calibre (aorta), sendo neste caso frequentes as lesões de tipo aneurismático. Estes factos sugerem fortemente a implicação de factores biofísicos do fluxo sanguíneo na génese, localização e gravidade destas lesões.

A primeira evidência da importância do “stress” hemodinâmico na génese das lesões ateroscleróticas data de 1916 (Halsted) em que a dilatação pós-estenótica de vasos foi atribuída a “fadiga” da parede vascular. Em 1968, Holman responsabiliza as vibrações associadas ao fluxo em turbilhão por esse facto. Em 1973, Ross reúne as teorias de Virchow, em que as lesões eram atribuídas a danos ligeiros mas contínuos, e Rokitansky, em que pequenos trombos murais no local da lesão estimulavam o crescimento de células musculares lisas que se incorporavam nas lesões do vaso, e formou a teoria da “response-to-injury hypothesis of atherosclerosis”. Por outras palavras, a agressão continuada do vaso vai acabar por “fatigar” o vaso, que sofre importantes transformações estruturais e bioquímicas que acabam por conduzir às lesões ateroscleróticas – “teoria de fadiga da aterosclerose”.

Para que seja possível entender, do ponto de vista biofísico, os principais determinantes que justificam esta hipótese sobre a génese e localização das lesões ateroscleróticas nos vasos, será fundamental definir tensão de cisalhamento e velocidade de cisalhamento.



Tensão de cisalhamento =  $F / A$

Shear rate =  $du / dy$

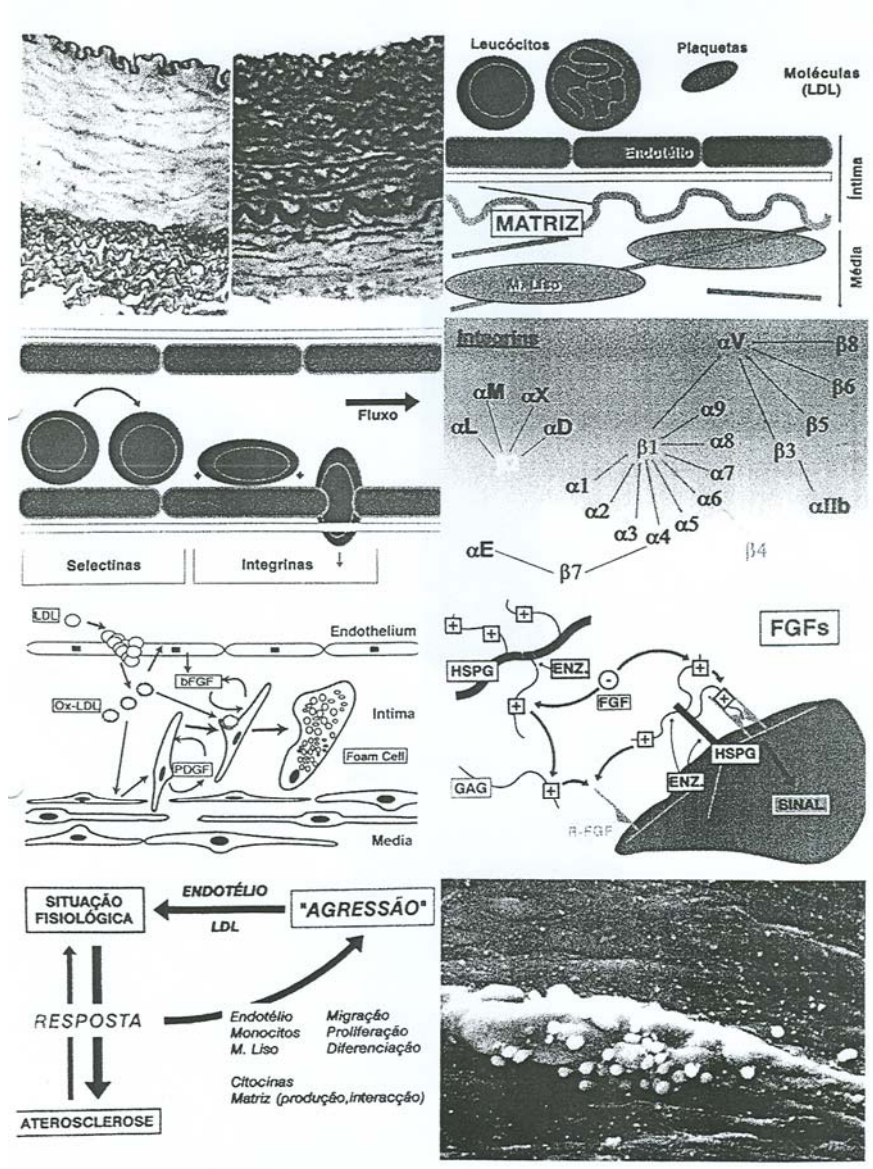
Viscosidade =  $(F/A) / (u/y)$

Os gradientes de tensão de cisalhamento são fundamentais para a gênese das placas de ateroma (Oshinsky, 1995). Assim, são esses gradientes que provocam “stress” hemodinâmico, causando proliferação de células endoteliais, proliferação do tecido conjuntivo subendotelial e perda da tensão das fibras elásticas. Esta “hipótese de fadiga” da aterosclerose foi comprovada por Stehbens, em 1990, onde foi induzida aterosclerose em aneurismas, em fistulas arterio-venosas e em anastomoses vasculares em U, efectuadas experimentalmente em animais com dieta pobre em colesterol.

Particularmente interessantes são os recentes trabalhos de Topper e col. (Boston), do final de 1996, que demonstram que o principal determinante biofísico para a gênese da aterosclerose é a diferente expressão dos genes da superóxido dismutase do manganésio, da ciclo-oxigenase 2 e da sintetase do monóxido de azoto (substâncias anti-ateroscleróticas) consoante a tensão de cisalhamento se verifica em fluxo laminar ou em turbilhão. Com efeito, enquanto que no primeiro caso a expressão daqueles genes, no segundo tal não se verifica. Poderemos afirmar que esta será a consequência química do fenómeno físico.

*Bibliografia principal:*

- Braunwald E “Heart Disease – A textbook of cardiovascular Medicine”. Ed. Saunders Company, 1992.
- Stehbens WE, Davis PF, Martin BJ “Hemodynamic induction of atherosclerosis”. Liepsch DW (ed.): Blood flow in large arteries: Application to atherogenesis and clinical medicine. Basel, 1990, vol. 15, pp 1-12.



## X SEMINÁRIO

**Tema: OSSO. ESTRUTURA, METABOLISMO E FUNÇÕES**

**Subtemas:**

**Intervenientes:**

Docentes convidados:

- Prof. Dr. Viana Queiroz (Unidade de Reumatologia/HSM)
- Dr. J.A. Pereira da Silva (Instituto de Histologia e Embriologia/FML)
- Dr. Francisco Sampaio (Instituto de Fisiologia/FML)

Docente do Instituto de Bioquímica/FML:

- Dra. Ana Forjaz de Lacerda (Assistente)
- Dr. Jorge Lima (Assistente)

### **Caso clínico**

#### *Identificação*

J.A.A., sexo masculino, raça branca, 65 anos de idade, casado, agricultor, natural de Odemira e residente em Alvalade.

#### *Motivo de Consulta*

Dorso-lombalgias, astenia, sensação de aumento de volume do crânio e surdez progressiva.

#### *Doença Actual*

Refere haver sido sempre saudável até há cerca de 10 anos, quando pela primeira vez notou dores na coluna lombo-sagrada, agravadas pelo esforço e aliviando em poucos minutos com o repouso. A partir dessa data notou igualmente aumento do perímetro craniano, referindo a necessidade frequente de “mudar de chapéus” (sic). Apesar das queixas, e como estas surgissem e desaparecessem sem terapêutica, não consultou o médico.

Há cerca de 5 anos ocorreu agravamento das queixas anteriormente referidas e progressiva diminuição da acuidade auditiva. Consultou então o médico, que lhe prescreveu analgésicos e vitaminas, tendo referido algumas melhoras.

Nos últimos 3 anos tem havido agravamento progressivo das dores, e desde há alguns meses notou “encurvamento” (sic) dos membros inferiores, o que o levou a recorrer à Consulta de Reumatologia do Hospital de Santa Maria.

O doente nega ter tomado quaisquer outros fármacos. Nega também outras queixas, nomeadamente emagrecimento, rigidez matinal, compromisso articular periférico, febre, sudação nocturna, alterações recentes dos hábitos intestinais, alterações urinárias, dor torácica, tosse, expectoração e dispneia.

#### *Antecedentes Pessoais*

Hábitos tabágicos (10 cigarros/dia) até há 4 anos, data em que deixou de fumar. Hábitos alcoólicos moderados (2,5 dL vinho/dia). Hipertensão conhecida desde há 4 anos, irregularmente tratada com um diurético. Nega outras doenças, nomeadamente diabetes, sífilis, tuberculose, gota, febre reumática.

#### *Antecedentes Familiares*

Irrelevantes. Nega história familiar de doenças reumáticas, diabetes mellitus, sífilis, hipertensão, gota e tuberculose.

#### *Exame Objectivo*

Razoável estado geral e de nutrição. Idade aparente semelhante à real. Apirético. Frequência cardíaca 80 pulsações/minuto. Tensão arterial 160/95 mmHg. Pele e mucosas coradas e hidratadas. Sem edemas ou adenopatias.

Conformação craniana normal, com discreto prognatismo. Fácies incharacterístico. Acuidade auditiva diminuída bilateralmente. Tórax e abdómen sem alterações. Varismo discreto dos membros inferiores. Movimentos moderadamente limitados e dolorosos na coluna dorso-lombar e em ambas as articulações coxo-femorais.

Restante exame sem alterações apreciáveis.

#### *Exames Complementares*

Laboratoriais	Doente	Referência	
Sangue	Hb (g/dL)	15,1	13,5 – 17,5
	Ht (%)	45	41 – 53
	Leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	8,6	4,5 – 11
	VS 1ª hora (mm)	7	0 – 20
	Ureia (mmol/L)	6,9	3,6 – 7,1
	Glicose (mmol/L)	5,2	3,9 – 6,4
	Creatinina ( $\mu\text{mol/L}$ )	93	< 133
	Acido úrico (mmol/L)	0,4	0,18 – 0,48
	Colesterol (mmol/L)	7,3	5,2 – 7,2
	Triglicéridos (mmol/L)	1,1	<1,8
	VDRL	negativo	negativo

	Fosfatase alcalina (U/L)	255	20 – 70
	Fosfatase ácida (U/L)	10,2	0,5 – 11
	Cálcio (mmol/L)	2,2	2,1 – 2,6
	Fósforo (mmol/L)	1,16	0,97 – 1,45
	Proteínas totais (g/L)	78	55 – 80
Urina	Cálcio (mmol/24h)	1,1	0,13 – 1
	Fósforo (mmol/24h)	25	13 – 42
	Hidroxirolina (mg/24h)	86	15 – 43

### *Radiografia do Tórax*

Ambos os campos pulmonares sem lesões. Calcificação aórtica. Aumento discreto da sombra cardíaca.

### *Radiografia do Crânio*

Calote craniana hipertrofiada; observam-se numerosas zonas de osteoesclerose com contornos mal definidos e formas e volumes variáveis, disseminados entre zonas de aspecto algodono.

### *Radiografia da Coluna Lombar, Bacia e Fêmures*

Aumento das vértebras L2 e L4. Intenso e disseminado processo de osteopénia e osteocondensação nos ossos da bacia e terço superior de ambos os fêmures. Varismo.

### *Cintiarafia Óssea*

Extensa hiperfixação de <sup>99m</sup>rC na calote craneana, assim como na região ilíaca direita, na zona da articulação escapulo-humeral direita, nas últimas vértebras dorsais e no terço superior de ambos os fêmures. Assimetria das articulações sacro-ilíacas.

### *Bióssia Óssea*

Desorganização estrutural das trabéculas, que se apresentam com aumento do número de lamelas.

### *Audiograma*

Surdez de transmissão bilateral.

### **Discussão Diagnóstica**

Face ao quadro clínico descrito, de que destacamos o aumento do volume do crânio, o encurvamento dos membros inferiores, a surdez progressiva, a elevação da fosfatase alcalina e da hidroxiprolinúria das 24 horas,



assim como os aspectos radiológicos e histológicos evidenciados, pensamos estar perante uma forma polioestótica de DOENÇA ÓSSEA DE PAGET. A doença estava numa fase evolutiva, dadas as alterações laboratoriais encontradas.

### Terapêutica

Como em qualquer outra doença crónica, é fundamental a educação do doente e da sua família. Enfatizaram-se em especial as medidas gerais de protecção do aparelho locomotor, que permitem ao doente sentir-se mais confortável e apto a colaborar. Foram prescritos analgésicos, assim como calcitonina por via intra-nasal.

### Evolução

Ocorreu melhoria das queixas álgicas, verificando-se um maior bem estar do doente e diminuição da necessidade de utilização de analgésicos, de tal forma que o doente passou a ser seguido apenas no seu Centro de Saúde, pelo médico de família.

No entanto, cerca de 3 anos mais tarde, o doente voltou de novo à nossa Consulta, contando que desde há cerca de 6 meses se voltara a verificar um aumento das dores ósseas, tornando-se cada vez mais dependente de analgesia. Um mês antes tinha tido um episódio de dor lombar tão intenso que havia recorrido ao Serviço de Urgência do Hospital local, onde, depois de realizarem uma ecografia renal, lhe disseram que tinha “pedras nos rins” (sic).

Da avaliação laboratoria destacava-se agora:

		<i>Doente</i>	<i>Referência</i>
Sangue	Hb (g/dL)	15,4	13,5 – 17,5
	Leucócitos ( $\times 10^3 \text{mm}^3$ )	7,3	4,5 – 11
	VS 1ª hora (mm)	6	0 – 20
	Ureia (mmol/L)	8	3,6 – 7,1
	Creatinina ( $\mu\text{mol/L}$ )	107	< 133
	Acido úrico (mmol/L)	0,37	0,18 – 0,48
	Fosfatase alcalina (U/L)	186	30 – 100
	Cálcio (mmol/L)	3,2	2,1 – 2,6
	Fósforo (mmol/L)	1,16	0,97 – 1,45
	1,25-(OH) <sub>2</sub> D ( $\mu\text{mol/L}$ )	59	12 – 46
	PTH (pmol/L)	8,3	1 – 5
	Calcitonina (ng/L)	24	< 36
	Osteocalcina (ng/mL)	14,4	1,6 – 9,2
Urina	Cálcio (mmol/24h)	2,5	0,13 – 1
	Hidroxirolina (mg/24h)	65	15 – 43

Fez-se assim o diagnóstico de HIPERPARATIROIDISMO, uma complicação rara da doença de Paget. O doente foi medicado com analgésicos, continuando em vigilância regular na Consulta de Reumatologia.

### **Palavras – Chave**

Biomecânica, calcificação, cálcio, calcitonina, calcitriol, canais de Volkman, colagénio, deformação, elasticidade, factores de crescimento, fosfatase alcalina, fósforo, hidroxapatite, hidroxiprolina, hormona do crescimento, lacunas de Howship, lamelas ósseas, massa óssea, matriz óssea, mineralização, osso compacto, osso esponjoso, osso primário, osso secundário, osteoblasto, osteocalcina, osteócito, osteoclasto, osteogénese, osteóide, paratormona, periosteio, plasticidade, proteínas da matriz, reabsorção, remodelação, rigidez, sistemas de Havers, somatostatina, tensão, viscosidade, vitamina D.

### **Léxico**

<sup>99m</sup>TC – Isótopo radioactivo utilizado na realização de exames cintigráficos (Medicina Nuclear)

*Adenopatias* – Aumento de volume de gânglios linfáticos

*Analgésicos* – Fármacos utilizados para aliviar a dor

*Apirexia* – Estado não febril

*Artralgias* – Dores articulares

*Astenia* – Falta de forças

*Diabetes Mellitus* – Doença endócrino-metabólica causada pela deficiência absoluta ou relativa de insulina

*Dispneia* – Dificuldade respiratória

*Diurético* – Fármaco que aumenta a excreção de água pelo rim, alterando a reabsorção de determinados iões

*Gota* – Doença articular causada pela deposição de cristais de ácido úrico

*Prognatismo* – Procidência anterior do maxilar inferior

*Sífilis* – Doença infecciosa de transmissão sexual

*Varismo* – Encurvamento de ossos, convexo para o exterior

*Poliostótico* – Com envolvimento de múltiplos ossos

*Osteopénia* – Diminuição da densidade óssea

*Osteocondensação* – Aumento da densidade óssea

Execução Gráfica  
Colibri – Artes Gráficas  
Faculdade de Letras  
Alameda da Universidade  
1600-214 Lisboa  
Telef. / Fax 21 796 40 38  
[www.edi-colibri.pt](http://www.edi-colibri.pt)  
[colibri@edi-colibri.pt](mailto:colibri@edi-colibri.pt)

