



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

Via glicolítica e sua importância na manutenção da vida

Versão final corrigida

Adalberto Fernandes Pereira dos Santos

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Ciências Biomédicas
(2º ciclo de estudos)

Orientador: Prof. Doutor António José Geraudes de Mendonça

Covilhã, Junho de 2018

Dedicatória

Dedico este trabalho a todos os estudantes do primeiro ano do curso de Medicina da Universidade Agostinho Neto, Angola.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço aos meus pais Mateus dos Santos e Maria Filomena dos Santos, pelo apoio incondicional apesar da distância, o que torna tudo mais simples para mim nesta empreitada.

Em segundo lugar, agradeço ao meu orientador Prof. Doutor António Mendonça, pela dedicação e empenho na realização deste trabalho, por suportar minhas ignorâncias sobre determinados assuntos, pelos ensinamentos, por estar sempre disponível para tornar o trabalho cada vez melhor.

Agradeço também aos meus colegas do mestrado em Ciências Biomédicas, pela ajuda pontual e objetiva tornando mais fácil a realização deste trabalho.

Agradeço ainda o Ministério do Ensino Superior, à direção da Faculdade de Medicina da Universidade Agostinho Neto, Angola e à Universidade da Beira Interior, Portugal, por tornarem possível a realização de mais uma etapa importante na minha vida.

A todos, que de forma direta ou indireta estiveram envolvidos na realização deste trabalho, o meu muito obrigado.

Resumo

A via glicolítica é das mais importantes para a manutenção do organismo humano, podendo ainda estar na base do entendimento de um grande número de patologias. Neste trabalho apresenta-se uma descrição atualizada da via glicolítica e da sua importância para o organismo humano, relacionando alterações no seu funcionamento com situações clínicas simples. Para a realização deste trabalho, foram feitas pesquisas bibliográficas em livros de texto de bioquímica geral e bioquímica médica, bem como, em bases de dados (*Pubmed, Web of Science e SciELO*).

A glicólise consiste na divisão de uma molécula de glicose, que contem seis átomos carbonos, em duas moléculas com três átomos de carbono. O principal objetivo desta divisão é a obtenção de energia, que é armazenada em forma de ATP. O 6-fosfato de glicose, é um intermediário da via glicolítica que serve de precursor para a síntese de outras moléculas em outras vias metabólicas. O funcionamento da via glicolítica apresenta implicações a vários níveis sobre o organismo. Assim são consideradas neste trabalho: diabetes *mellitus*, acidente vascular cerebral, anemias hemolíticas e cancro.

A Bioquímica fornece subsídios importantes à medicina permitindo-lhe encontrar novas formas de tratamento para diversas doenças. A relação entre a Bioquímica e a Medicina é muito mais estreita do que parece.

Palavras-chave

Via glicolítica, Cancro, Diabetes *mellitus*, AVC, Anemias hemolíticas.

Abstract

The glycolytic pathway is one of the most important for the maintenance of the human organism and may also be the basis for understanding a large number of pathologies. This work presents an updated description of the glycolytic pathway and its importance for the human organism, relating changes in its functioning with simple clinical situations. For the accomplishment of this work, bibliographical research was done in textbooks of general biochemistry and medical biochemistry, as well as in databases (Pubmed, Web of Science and SciELO).

Glycolysis consists in the division of a glucose molecule, which contains six carbon atoms, into two molecules with three carbon atoms. The main purpose of this division is to obtain energy, which is stored in the form of ATP. Glucose 6-phosphate is an intermediate in the glycolytic pathway that serves as a precursor for the synthesis of other molecules in other metabolic pathways. The functioning of the glycolytic pathway has implications at various levels on the organism. The following are considered in this study: diabetes mellitus, stroke, hemolytic anemia and cancer.

Biochemistry provides important subsidies to medicine allowing you to find new ways of treating various diseases. The relationship between biochemistry and medicine is much narrower than it seems.

Keywords

Glycolytic pathway, Cancer, Diabetes mellitus, Stroke, Hemolytic anemias.

Índice

Capítulo I	1
1. Introdução	2
1.1 Objetivos do trabalho	3
1.2 Metodologia	3
Capítulo II	4
2. Uma visão geral sobre a via glicolítica	5
2.1 Digestão dos glúcidos	5
2.2 Absorção dos glúcidos e transportadores de membrana	6
2.3 Via glicolítica como um processo catabólico da glicose	11
2.3.1 As etapas da via glicolítica	13
2.3.1.1 Fase preparatória	13
2.3.1.1.1 Resumo da fase preparatória	17
2.3.1.1.2 Fase de retorno energético	17
2.3.1.2.1 Resumo da fase de retorno energético	21
2.3.2 Balanço energético	21
Capítulo III	22
3. Catabolismo anaeróbio da glicose	23
3.1 Síntese de 2,3-bisfosfoglicerato	23
3.2 Formação de lactato	24
Capítulo IV	26
4. Regulação da via glicolítica	27
4.1 Regulação pelas hexocinases	27
4.2 Regulação pela fosfofrutocinase	28
4.2.1 Mecanismo de regulação da fosfofrutocinase-1 por ATP e AMP	29
4.2.2 Mecanismo de regulação da fosfofrutocinase-1 por 2,6-bisfosfo de frutose	29
4.2.3 Mecanismo de regulação da PFK-1 pelo citrato	29
4.3 Regulação pela piruvato cinase	30
4.4 Regulação hormonal	31
Capítulo V	33
5. Importância da via glicolítica para o organismo	34
Capítulo VI	36
6. Via glicolítica, uma olhar sobre a clínica	37
6.1 Via glicolítica e Diabetes <i>mellitus</i>	37
6.2 Via glicolítica e acidente vascular cerebral isquémico	38
6.3 Via glicolítica e anemias hemolíticas hereditárias	39
6.3.1 Anemia hemolítica por deficiência da hexocinase.	39
6.3.2 Anemia hemolítica por deficiência da piruvato cinase (PK)	39
6.4 Via glicolítica e cancro	39

Capítulo VII.....	41
7. Conclusões.....	42
Capítulo VIII.....	43
8. Referências bibliográficas	44
8.1 Cibergrafia.....	54

Lista de Figuras

Figura 1. Mecanismo de transporte (simporte e uniporte) dos glúcidos pela membrana do enterócito, mediante transportadores transmembranares (SGLT1, GLUTs).....	8
Figura 2. Captação de glicose mediada por GLUTs em diferentes células e tecidos.	9
Figura 3. Secreção da insulina pelas células B do pâncreas (Adaptado de www.enfermagemnovidade.com.br , 2016).	10
Figura 4. Via de sinalização da insulina com a translocação da vesícula de GLUT4 para a membrana (Adaptado www.betacell.org , 2004).	11
Figura 5. Destinos do piruvato no organismo humano.	11
Figura 6. Visão geral da via glicolítica.	13
Figura 7. Reação de fosforilação da glicose (Adaptado de Nelson e Cox, 2017).....	14
Figura 8. Reação de isomerização do 6-fosfato de glicose (Adaptado de Nelson e Cox, 2017).15	
Figura 9. Reação de fosforilação do 6-fosfato de frutose (Adaptado de Nelson e Cox, 2017). 15	
Figura 10. Clivagem do 1,6-bisfosfato de frutose pela aldolase (Adaptado de Nelson e Cox, 2017).	16
Figura 11. Reação de isomerização da di-hidroxicetona- fosfato (Adaptado de Nelson e Cox, 2017).	17
Figura 12. Fosforilação oxidativa do 3-fosfato de gliceraldeído (Adaptado de Nelson e Cox, 2017).	18
Figura 13. Reação de desfosforilação do 1,3-bisfosfoglicerato (Adaptado de Nelson e Cox, 2017).	19
Figura 14. Reação de isomerização do 3-fosfoglicerato (Adaptado de Nelson e Cox, 2017). ..	19
Figura 15. Desidratação do 2-fosfoglicerato (Adaptado de Nelson e Cox,2017).	20
Figura 16. Reação de desfosforilação do fosfoenolpiruvato (Adaptado de Nelson e Cox, 2017).	21
Figura 17. Síntese de 2,3-bisfosfoglicerato (Adaptado de Puri e Monro, 2018).....	24
Figura 18. Redução do piruvato a lactato (Adaptado de Meisenberg e Simmons, 2016).	25
Figura 19. Mecanismo de inibição da hexocinase por acumulação de 6-fosfato de frutose devido aos níveis altos de ATP.....	27
Figura 20. Visão resumida dos pontos de regulação da segunda e decima reação da via glicolítica. Os símbolos + e x representam os processos de ativação e inibição respetivamente.	30
Figura 21. Mecanismo de ativação da via glicolítica pela insulina. (+) - ativação; seta em 2,6 bisfosfato de frutose indica aumento.	31
Figura 22. Mecanismo de inibição da via glicolítica pelo glucagon. (X) - inibição; seta em 2,6 bisfosfato de frutose indica diminuição.	32

Figura 23. Redução da glutathiona oxidada pelo NADPH e a ação da glutathiona reduzida sobre as espécies reativas de oxigénio (ROS). 34

Lista de Acrónimos

1,6-BPF	1,6-bisfosfato de frutose
6-P-G	6-fosfato de glicose
ΔG	Variação de energia livre de Gibbs
ADP	Difosfato de adenosina
AMPc	Monofosfato cíclico de adenosina
ATP	Trifosfato de adenosina
AVC	Acidente vascular cerebral
DM	Diabetes <i>mellitus</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FPK	Fosfofrutocinase
GIP	Peptídeo inibidor gástrico (<i>Gastric inhibitory polypeptide</i>)
GKRP	Proteína reguladora da glucocinase (Glucokinase regulatory protein)
GLP-1	Peptídeo semelhante ao Glucagon (<i>glucagon-like peptide-1</i>)
GLUTs	Transportadores de glucose (<i>Glucose transporters</i>)
GSH	Glutationa reduzida
GSSG	Glutationa oxidada
LDH	Lactato desidrogenase
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido
NADPH	Fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida reduzido
Rib	Ribose
ROS	Espécies reativas de oxigénio (<i>Reactive Oxygen Species</i>)
SGLUT	Transportadores de glicose dependente de sódio (<i>Sodium-dependent glucose transporters</i>)

Capítulo I

Introdução

1. Introdução

Para um melhor entendimento dos processos patológicos é necessário entendermos o que é fisiológico, e para entendermos melhor os processos fisiológicos é importante termos um conhecimento apurado dos processos bioquímicos. Assim sendo, a Bioquímica joga um papel muito importante para o melhor entendimento das situações clínicas, abrindo horizontes para a melhor compreensão da saúde e tratamento efetivo da doença, tornando-se cada vez mais um grande aliado para a Medicina (Rodwell *et al.*, 2015).

A melhor forma de entender o organismo humano é perceber de forma detalhada o seu funcionamento, e isso pode ser conseguido compreendendo os processos metabólicos que nele ocorrem (Baynes e Dominiczak, 2014).

O estudo das vias metabólicas é, um elemento chave para melhor compreensão de muitos processos fisiológicos e patológicos que ocorrem no organismo humano. A via glicolítica é das mais importantes para a manutenção do organismo humano, podendo ainda estar na base do entendimento de um grande número de patologias (Rodwell *et al.*, 2015).

O estudo da via glicolítica por parte dos estudantes de Medicina da Universidade Agostinho Neto, Angola, não tem sido uma tarefa fácil, pela alegada complexidade dos conteúdos. Neste âmbito, propusemo-nos realizar este trabalho que visa efetuar uma incursão aprofundada, sintética e clara, com conteúdos científicos atualizados, sobre a via glicolítica e sua importância para o organismo humano, relacionando alterações no seu funcionamento com situações clínicas simples. Em suma, pretende-se preparar um texto pedagógico, tornando perceptível para os estudantes aspetos complexos, valorizando assim a importância da Bioquímica para o melhor entendimento da Medicina.

O curso de Medicina da Universidade Agostinho Neto está dividido em dois ciclos: Ciclo básico e Ciclo clínico. A disciplina de Bioquímica Metabólica figura no ciclo básico do curso, onde são lecionados os aspetos ligados ao metabolismo celular. Tem uma carga horária semanal de oito horas, divididas em seis horas de aulas teóricas e duas de aulas práticas (Mateus *et al.*, 2012).

A disciplina está organizada por temas, sendo que cada tema tem normalmente a duração de duas horas. Dependendo da complexidade e extensão dos conteúdos, alguns temas têm quatro horas de aulas, divididos em duas sessões (Mateus *et al.*, 2012).

A via glicolítica é um dos temas abordados nesta disciplina, sendo dado em duas sessões. Deste modo, os conteúdos deste trabalho poderão ser aplicados no tema sobre a via glicolítica, sendo então lecionada em quatro horas, divididas em duas sessões.

No final da leção deste tema, apoiado nos conteúdos deste trabalho, os alunos deverão ser capazes de alcançar os seguintes objetivos:

- I. Descrever as reações da via glicolítica.
- II. Diferenciar as etapas da via glicolítica.
- III. Compreender a importância das enzimas em cada fase da via glicolítica.
- IV. Compreender a importância da via glicolítica para o melhor entendimento dos processos patológicos.
- V. Relacionar aspectos clínicos com a via glicolítica.

1.1 Objetivos do trabalho

O objetivo geral do trabalho consiste em abordar a importância da via glicolítica na manutenção da vida numa perspectiva pedagógica.

Objetivos Específicos:

- i. Descrever a via glicolítica.
- ii. Demonstrar a importância da via glicolítica no organismo humano.
- iii. Relacionar alterações na via glicolítica com aspectos clínicos.

1.2 Metodologia

Para a realização deste trabalho, foram feitas pesquisas bibliográficas em livros de texto de Bioquímica geral e Bioquímica Médica, bem como, em artigos científicos disponíveis em bases de dados como a *Pubmed*, *Web of Science* e a *SciELO*, no período de Fevereiro a Junho do ano 2018. Para a pesquisa de informação sobre o tema foram usadas as seguintes palavras chave: Glycolysis; hexokinase; pyruvate kinase; glucose; insulin; diabetes; anemia; free radicals.

Capítulo II

Uma visão geral sobre a via glicolítica

2. Uma visão geral sobre a via glicolítica

As células do organismo humano necessitam de energia para realizar as suas funções. Esta energia é obtida a partir da ingestão de alimentos. Vários são os nutrientes obtidos numa dieta alimentar que permitem a produção de energia para a célula. A melhor fonte para a obtenção de energia instantânea são os glúcidos ou açúcares (polissacáridos e oligossacáridos), através do catabolismo da glicose numa via metabólica denominada via glicolítica (Quintas *et al.*, 2008; Nelson e Cox, 2017). Esta via degrada tanto glúcidos vindo diretamente da ingestão de alimentos como glúcidos convertidos a partir de outras biomoléculas como lípidos e proteínas (Nelson e Cox, 2017). O objetivo final desta via é fornecer trifosfato de adenosina (ATP) que é a molécula que armazena a energia usada pela célula permitindo a manutenção da vida. A via glicolítica, é a via mais importante para o organismo humano, podendo fornecer o combustível necessário para a célula, assim como moléculas importantes para realização de outras funções no organismo, como por exemplo síntese de proteínas e lípidos. (Quintas *et al.*, 2008; Devlin, 2010; Rodwell *et al.*, 2015; Nelson e Cox, 2017)

O único glúcido que pode ser degradado na via glicolítica é a D-glicose por ser um monossacárido. No entanto, grande parte dos alimentos fornecem glúcidos mais complexos ao organismo como o amido e a sacarose que são polissacáridos e oligossacáridos, respetivamente (Quintas *et al.*, 2008). Assim sendo, o organismo humano deve apresentar estratégias para obter glicose a partir destas moléculas mais complexas (Devlin, 2010). A primeira estratégia do organismo para permitir a utilização da glicose na via glicolítica, a partir de glúcidos mais complexos, é a sua própria digestão, promovendo posteriormente a absorção da glicose para a maior parte das células do organismo (Devlin, 2010).

2.1 Digestão dos glúcidos

O processo de digestão dos glúcidos obtidos da dieta alimentar começa na boca com a ação da enzima amilase salivar, que inicia o processo hidrolisando as ligações α -1,4 da glicose na molécula do amido permitindo a formação de um oligossacárido (Nichols *et al.*, 2018).

A amilase salivar não tem capacidade para hidrolisar as ligações α -1,6 da glicose na molécula do amido, sendo a amilase pancreática no intestino delgado a realizar esta reação. Ambas as enzimas não coabitam até à fase seguinte da digestão, uma vez que o pH ácido do estômago inibe a amilase salivar (Devlin, 2010; Da Silva e Mura, 2016; Cohen *et al.*, 2018). O estômago é desprovido de enzimas para a digestão dos glúcidos, devendo por isso, os mesmos serem apenas transformados num bolo alimentar denominado quimo. Este é transportado posteriormente para o intestino delgado na sua porção inicial, o duodeno, para continuar o processo de digestão dos glúcidos (Da Silva e Mura, 2016).

No intestino delgado, para além da amilase pancreática proveniente do pâncreas, existem ainda outras enzimas típicas deste órgão, como a sacarase que degrada a sacarose, lactase que

degrada a lactose e maltase que degrada a maltose, obtendo-se assim monossacáridos como a glicose, galactose e frutose (Devlin, 2010; Nichols *et al.*, 2018). Todo este processo no intestino delgado (local onde grande parte da digestão é realizada) ocorre não só no lúmen, mas principalmente a nível da borda de escova do enterócito. No final deste processo, estes monossacáridos precisam atravessar a membrana do enterócito para posteriormente passarem para os capilares na corrente sanguínea, a fim de serem absorvidos pelas mais diversas células e tecidos (Fig. 1) (Devlin, 2010; Da Silva e Mura, 2016).

A deficiência ou ausência das enzimas intestinais, podem causar problemas de saúde ao ser humano (Nichols *et al.*, 2018). A lactase é a enzima, que com alguma frequência, se encontra em déficit ou mesmo ausente no organismo, levando a uma situação clínica de intolerância a lactose. Indivíduos com essa condição, não toleram a ingestão de leite, apresentando um quadro clínico caracterizado por flatulência, diarreia e concomitantemente perda de peso, principalmente em crianças. Estes indivíduos, podem consumir iogurte apesar deste possuir lactose. A diferença, é que lactose do iogurte fica parcialmente hidrolisada devido o processo de fermentação na sua produção (Devlin, 2010; Nichols *et al.*, 2018; Cohen *et al.*, 2018).

2.2 Absorção dos glúcidos e transportadores de membrana

Os monossacáridos resultantes da hidrólise dos polissacáridos e oligossacáridos são bastante hidrofílicos, necessitando de transportadores específicos para atravessarem a membrana do enterócito. Esta é formada por uma bicamada lipídica, tanto na parte apical como na parte baso lateral do enterócito. A entrada destes glúcidos (glicose, galactose e frutose) para o interior do enterócito, bem como para a corrente sanguínea é mediada por duas famílias de transportadores proteicos específicos para os monossacáridos, que são os transportadores de glicose (GLUTs), e os transportadores de glicose dependente de sódio (SGLT) (Fig. 1) (Devlin, 2010; Da Silva e Mura, 2016).

No polo apical do enterócito (Fig. 1), a glicose é transportada para o seu interior por uma proteína transmembranar denominada transportador de glicose dependente de sódio¹ (SGLT1). Esta proteína transporta a glicose do lúmen intestinal para o interior da célula epitelial (enterócito) contra o gradiente de concentração. Este mecanismo é realizado a favor do gradiente de concentração de Na⁺, uma vez que no lúmen intestinal, a concentração de Na⁺ é maior do que no interior da célula (Sala-rabanal *et al.*, 2018).

O SGLT1 depende indiretamente da hidrólise de ATP que mantém a bomba de sódio-potássio. Por essa razão, é considerado um transportador ativo secundário (Baynes e Dominiczak, 2014). O transportador SGLT1 faz um tipo de transporte denominado *simporte*, que é caracterizado pelo transporte de dois íons ou substâncias diferentes na mesma direção (Fig. 1), diferenciando-se do mecanismo antiporte em que há transporte de íons ou substâncias diferentes em direções opostas. A glicose é transportada para o interior da célula epitelial contra o seu gradiente de concentração, sempre que o íon sódio for transportado na mesma direção a favor do gradiente

de concentração Na^+ (Devlin, 2010; Baynes e Dominiczak, 2014; Dellepiane *et al.*, 2018). A galactose é transportada também via SGLT1 no polo apical da mesma forma que a glicose (Fig. 1), um mecanismo que é idêntico ao que ocorre nas células do tubo renal. Podemos então dizer que a glicose e a galactose nas células do intestino delgado e do tubo renal são transportadas contra o gradiente de concentração pelo SGLT1 (Sala-rabanal *et al.*, 2018; Dellepiane *et al.*, 2018).

O mecanismo antiporte feito pelo SGLT1 permite perceber porque se deve oferecer água, sódio e glicose em simultâneo a um indivíduo desidratado. A captação da glicose para o interior da célula é facilitada pela presença de Na^+ , e a água acompanha o maior gradiente de soluto (glicose). Assim, administrar apenas glicose ou água a um indivíduo desidratado não resolveria o problema. São necessários os três elementos em simultâneo (glicose, água e Na^+) para restabelecer a hidratação celular (Lieberman e Peet, 2017).

No polo apical do enterócito (Fig. 1), a frutose é transportada por uma proteína denominada transportador de glicose 5 (GLUT 5). Esta, efetua um transporte *uniporte* que é a favor do gradiente de concentração, não envolvendo gasto de energia, e por isso é considerado um transporte passivo (Devlin, 2010; Deal *et al.*, 2018).

A entrada destes monossacáridos para o interior do enterócito dependem não só dos transportadores de membrana, mas também das suas concentrações no lúmen intestinal e de um conjunto de outros fatores, como por exemplo o *stress* ou os níveis de adrenalina, que não serão abordados neste trabalho. Por exemplo, um aumento da glicose no lúmen intestinal, ativa a síntese de SGLT1 a nível das microvilosidades do enterócito, promovendo a sua absorção (Devlin, 2010; Röder *et al.*, 2014).

Após os monossacáridos chegarem ao interior do enterócito, precisam agora passar para os capilares e concentrarem-se na corrente sanguínea para serem absorvidos por todas as células que necessitam de glicose. Os monossacáridos passam para a corrente sanguínea através de transportadores de membrana situados no polo baso lateral do enterócito (Fig.1). Este transporte é feito a favor do gradiente de concentração por difusão passiva (Da Silva and Mura, 2016). O transportador envolvido neste processo é uma proteína denominada transportador de glicose 2 (GLUT2) pertencente a família dos GLUTs, que são transportadores que não dependem de Na^+ (Deal *et al.*, 2018).

O GLUT2 não é específico para a D-glicose, podendo transportar todos os monossacáridos presentes no enterócito (Devlin, 2010; Deal *et al.*, 2018). O GLUT2 pode transportar a D-glicose nos dois sentidos (do enterócito para a corrente sanguínea e da corrente sanguínea para o enterócito, quando este for escasso no seu interior). No entanto, esse transporte inverso é apenas verificado para a D-glicose, uma vez que a presença dos outros monossacáridos na corrente sanguínea no estado de jejum não é verificável (Baynes e Dominiczak, 2014). Estando

na corrente sanguínea, os monossacáridos são transportados até ao fígado onde haverá conversão de todos os monossacáridos em glicose (Lieberman e Peet, 2017).

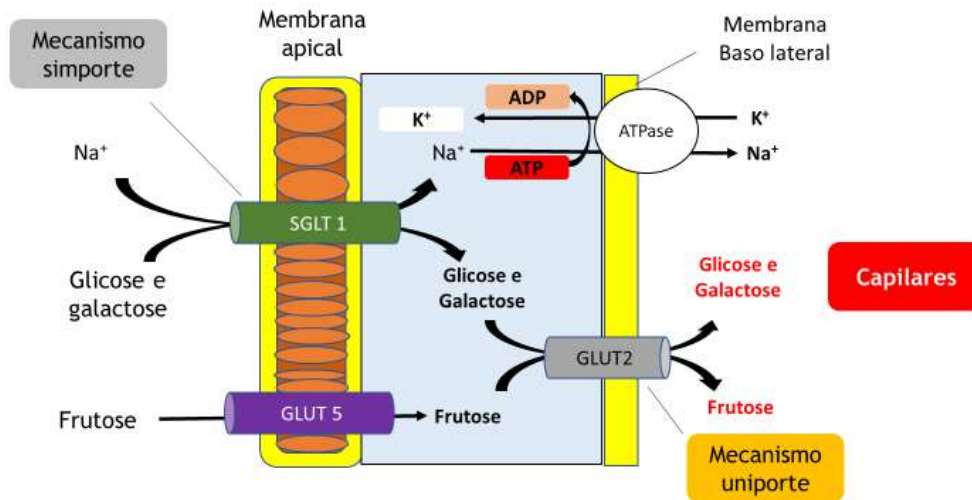


Figura 1. Mecanismo de transporte (simporte e uniporte) dos glúcidos pela membrana do enterócito, mediante transportadores transmembranares (SGLT1, GLUTs).

A absorção da glicose pelas restantes células do organismo, é igualmente mediada pela família de transportadores membranares (GLUTs) que podem ser sensíveis a insulina, ou não. Cada isoforma desta família será específica no transporte de glicose para determinados tecidos (Fig. 2). Assim, o GLUT1 é específico para o transporte da glicose nas células da barreira hematoencefálica, rim, eritrócito e cérebro. O GLUT2 transporta a glicose, por exemplo, nos hepatócitos, nas células betas do pâncreas, células epiteliais do intestino delgado no polo baso lateral e túbulo renal. O GLUT3 é o principal transportador de glicose para as células neuronais (Deal *et al.*, 2018). O GLUT4 é específico para o transporte da glicose nas células do tecido adiposo, músculos esquelético e cardíaco, sendo este sensível a insulina (Meisenberg e Simmons, 2016; Wei *et al.*, 2017; Deal *et al.*, 2018).

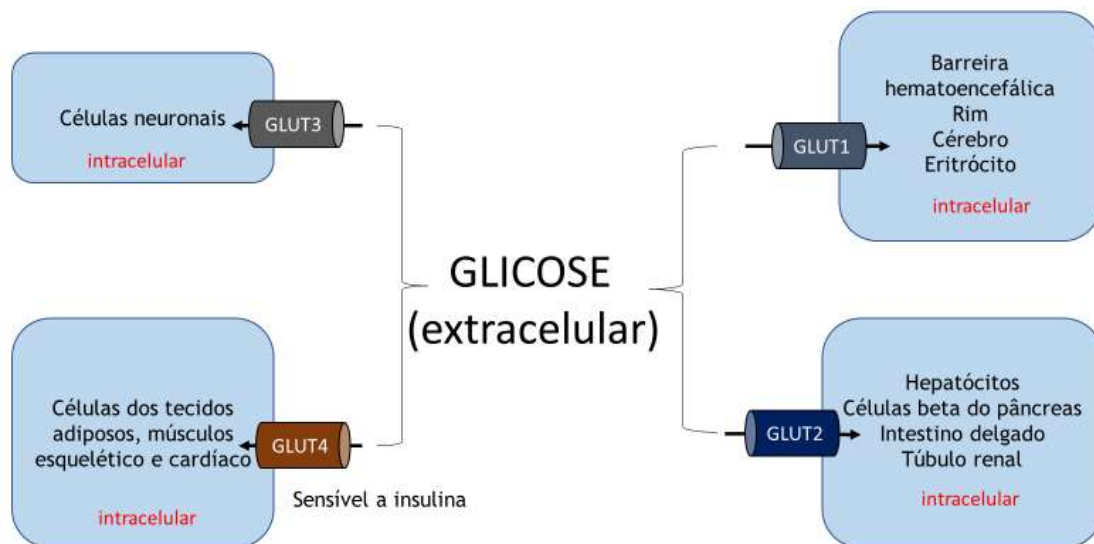


Figura 2. Captação de glicose mediada por GLUTs em diferentes células e tecidos.

Nem todas as células do organismo necessitam de insulina para a absorção da glicose (Baynes e Dominiczak, 2014). As células de órgãos como o pâncreas, o fígado e o cérebro não precisam da ação da insulina para absorverem glicose, sendo considerados órgãos não sensíveis a insulina. Já o coração, o músculo esquelético e o tecido adiposo são dependentes de insulina para a absorção da glicose. Isso deve-se à característica do transportador que as células destes órgãos possuem nas suas membranas. Células cujo o transportador é o GLUT4 são dependentes de insulina para a absorção de glicose (Meisenberg e Simmons, 2016; Deal *et al.*, 2018).

As células β do pâncreas produzem um polipeptídeo de cadeia simples constituído por 82 resíduos de aminoácidos denominado de pré-pró-insulina. Esta biomolécula, sofre um conjunto de reações até à formação da pró-insulina (insulina imatura). A pró-insulina é clivada, originando a insulina madura e o peptídeo *c* que são armazenados nas ilhotas das células β do pâncreas (Kasper *et al.*, 2015; Lieberman e Peet, 2017; Holst *et al.*, 2018).

A presença de glicose no lúmen intestinal desencadeia a produção de incretinas (hormonas gastrointestinais produzidas pelas células L e K), denominadas de polipeptídeo insulínico dependente de glicose ou peptídeo inibidor gástrico (GIP) e peptídeo semelhante ao Glucagon 1 (GLP-1, glucagon-like peptide 1), estas hormonas, vão potencializar a secreção de insulina no pâncreas por influência da glicose (Kasper *et al.*, 2015; Da Silva e Mura, 2016; Holst *et al.*, 2018).

A secreção da insulina começa com a entrada da glicose no pâncreas mediada pelo GLUT2 (Fig 3). A glicose é metabolizada no pâncreas produzindo ATP. Deste modo, os canais de K^+ serão inibidos pelo ATP por serem sensíveis a este, o que levará a despolarização da membrana das células β do pâncreas promovendo um influxo de cálcio que é dependente de voltagem. O cálcio

estando no interior das células β vai estimular a secreção de insulina para a corrente sanguínea (Fig.3) (Kasper *et al.*, 2015; Lieberman e Peet, 2017).

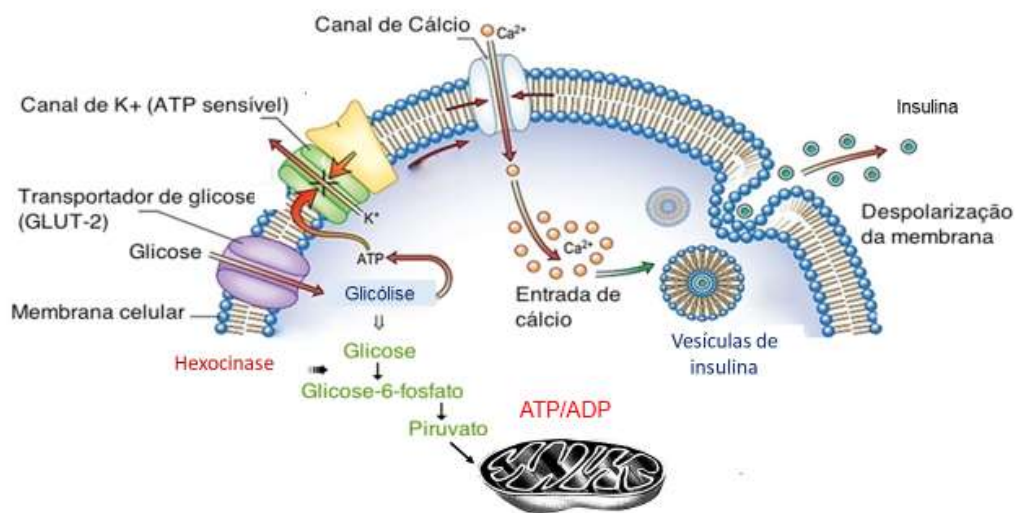


Figura 3. Secreção da insulina pelas células B do pâncreas (Adaptado de www.enfermagemnovidade.com.br, 2016).

Os tecidos sensíveis a insulina, aumentam a capacidade de captação de glicose nas suas células com a secreção desta hormona. Estas células apresentam na sua membrana recetores de insulina que ao se ligarem a esta, estimulam a atividade intrínseca de tirosina quinase o que leva a auto fosforilação do recetor (Fig.4). Tudo isso, promove a ativação de um conjunto de sinalizadores intracelulares, despoletando uma cascata de reações que culmina com a deslocação de vesículas de GLUT4 no interior destas células para as suas membranas plasmáticas. Deste modo, aumentarão os transportadores de glicose através do GLUT4 na membrana destas células, facilitando a sua captação (Kasper *et al.*, 2015; Lieberman e Peet, 2017).

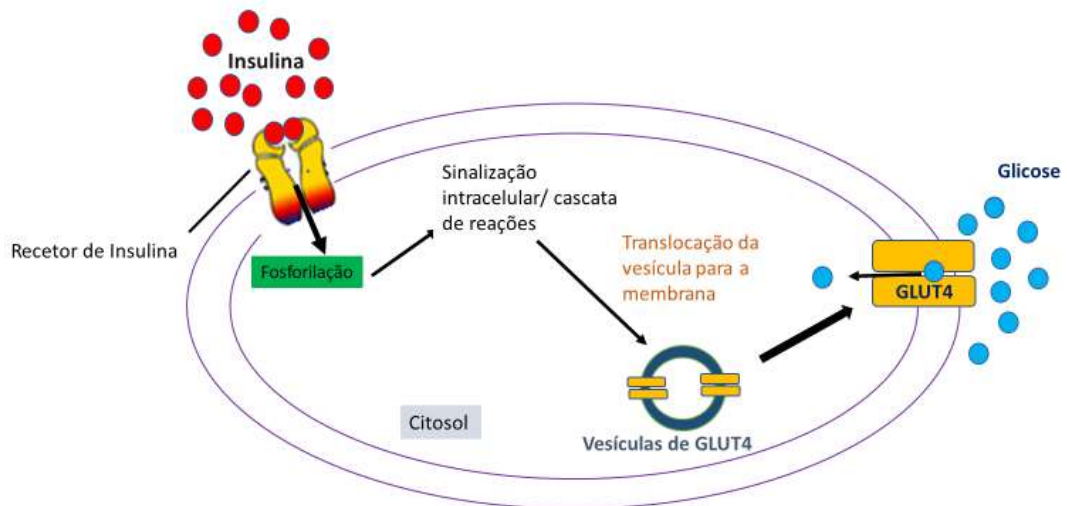


Figura 4. Via de sinalização da insulina com a translocação da vesícula de GLUT4 para a membrana (Adaptado www.betacell.org, 2004).

2.3 Via glicolítica como um processo catabólico da glicose

A D-glicose é a única molécula capaz de ser degradada pela via glicolítica, tendo por isso um papel de destaque no metabolismo dos glúcidos (Figura 5) (Quintas *et al.*, 2008).

As células do organismo humano só são capazes de utilizar isómeros D dos monossacáridos, por essa razão, vamos referir-nos a D-glicose como simplesmente glicose de agora em diante (Nelson e Cox, 2017).

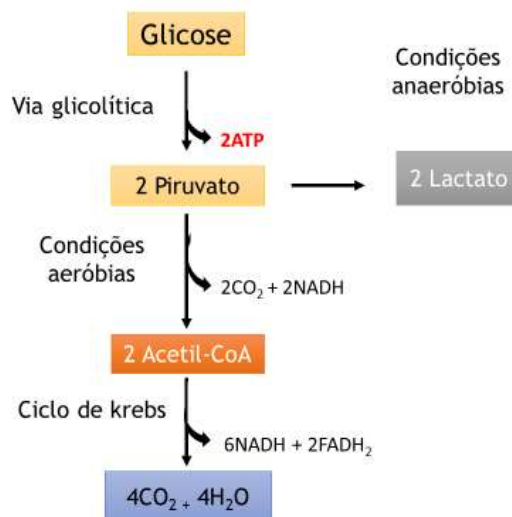


Figura 5. Destinos do piruvato no organismo humano.

A palavra glicólise, é etimologicamente oriunda do grego *glykys*, que na sua tradução mais fiel significa doce ou açúcar e *lysis* significa divisão ou quebra. No entanto, a glicólise consiste na divisão de uma molécula de glicose, que contem seis átomos carbonos, para duas com três átomos de carbono. O principal objetivo desta divisão é a obtenção de energia, que é armazenada em forma de ATP, conseguida com quebra de ligações entre átomos de carbonos da glicose (Quintas *et al.*, 2008; Nelson e Cox, 2017). São necessárias dez reações, envolvendo igual número de enzimas para degradarem a glicose através da via glicolítica. Todas as reações nesta via ocorrem no citosol da célula. As células são capazes de transformar uma molécula de glicose, em duas moléculas de piruvato (Fig. 7). Dependendo das condições de oxigenação das células, o piruvato produzido na via glicolítica poderá ter destinos diferentes (Fig.5) (Lieberman e Peet, 2017; Nelson e Cox, 2017; Shanmugasundaram, 2018).

Na presença de oxigênio, o piruvato será transformado em acetil-CoA (Fig.5), que vai ser oxidado no ciclo de krebs ou ciclo do ácido cítrico produzindo NADH e FADH₂ que são transportadores de elétrons, permitindo assim, a produção de altas quantidades de ATP na fosforilação oxidativa e cadeia transportadora de elétrons. Por esta via, a célula oxida a glicose até a produção de CO₂ e H₂O, o que se pode ver demonstrado na figura 5 (Meisenberg and Simmons, 2016; Shanmugasundaram, 2018).

Na ausência de oxigênio, o piruvato produzido na via glicolítica é convertido em lactato pela enzima lactato desidrogenase (Fig. 5), sendo este o produto final da via glicolítica. Este processo acontece por exemplo no músculo esquelético quando submetido a atividade física intensa. Existem células que adotam essa estratégia de degradação da glicose mesmo na presença de oxigênio, como é o caso do eritrócito. Isto deve-se ao fato do mesmo não possuir mitocôndria, visto que o processo de oxidação da glicose até à formação de CO₂ e H₂O ocorre na mitocôndria (Nelson e Cox, 2017; Lieberman e Peet, 2017; Shanmugasundaram, 2018).

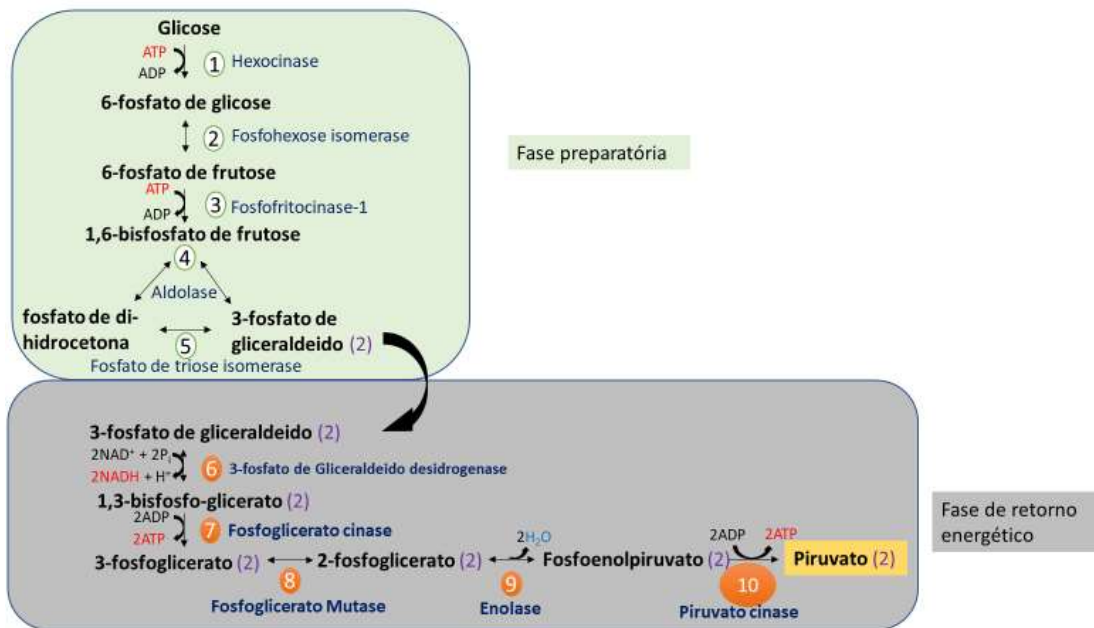


Figura 6. Visão geral da via glicolítica.

2.3.1 As etapas da via glicolítica

A via glicolítica é dividida em duas etapas. A primeira etapa é a fase preparatória da via glicolítica, e a segunda é a fase de retorno energético ou fase de retribuição (Quintas *et al.*, 2008; Devlin, 2010).

2.3.1.1 Fase preparatória

Esta fase, é caracterizada pelo consumo de duas moléculas de ATP, envolvendo cinco reações e igual número de enzimas (Fig.6). É a fase em que a molécula da glicose é preparada para ser clivada e produzir ATP. Podemos ainda subdividir esta fase em dois estágios distintos. Um primeiro estágio em que há utilização de duas moléculas de ATP para a fosforilação da glicose e de 6-fosfato de frutose, e um segundo estágio em que há clivagem dos intermediários fosforilados anteriormente tal como será apresentado aquando da 4ª reação (Quintas *et al.*, 2008; Devlin, 2010).

A fase Preparatória inicia-se com a entrada da glicose no interior da célula. Após a sua entrada, a glicose é fosforilada no carbono 6, dando origem a 6-fosfato de glicose (6-P-G). Esta reação (Fig. 7) é catalisada por uma enzima denominada hexocinase. A hexocinase, é uma transferase pertencente à subclasse das cinases (Meisenberg e Simmons, 2016). Têm esse nome, porque transferem um grupo fosfato de uma molécula de ATP para o seu aceitador final, que neste caso é a glicose (Quintas *et al.*, 2008; Meisenberg e Simmons, 2016; Nelson e Cox, 2017).

A fosforilação da glicose, tem como principal objetivo impedir o seu retorno para o espaço extracelular. Isso acontece porque os transportadores de glicose da membrana das células não transportam glicose fosforilada. Assim, ainda que a concentração da glicose seja maior no

interior da célula, não se dará a sua difusão para o espaço extracelular (Quintas *et al.*, 2008; Baynes e Dominiczak, 2014). Deste modo, a célula não precisará gastar energia para manter a glicose no seu interior. Uma outra razão para a fosforilação da glicose, deve-se ao fato de os açúcares fosforilados diminuir a energia de ativação e aumentarem a especificidade das enzimas, facilitando as reações na via glicolítica (Nelson e Cox, 2017).

A hexocinase só realizará a sua função catalítica se existir Mg^{2+} , porque na verdade, o verdadeiro substrato desta enzima é um complexo formado por ATP e Mg^{2+} ($MgATP^{2+}$) (Nelson e Cox, 2017). Para além da hexocinase, quase todas as enzimas da via glicolítica precisam de Mg^{2+} como cofator para a sua atividade catalítica (Nelson e Cox, 2017). A hexocinase, não é uma enzima específica para a glicose, porque ela catalisa também a fosforilação de outros monossacáridos como a frutose e a manose (Quintas *et al.*, 2008).

Com a formação de 6-fosfato de glicose, está concluída a primeira reação desta etapa (Lieberman e Peet, 2017). Esta reação constitui o primeiro ponto de regulação da via glicolítica (Devlin, 2010; Nelson e Cox, 2017). Esta reação é exergónica porque a reação de hidrólise de ATP apresenta $\Delta G'^{\circ} < 0$ ($\Delta G'^{\circ} = -16,7$ kJ/mol) que compensa a variação da energia de Gibbs da reação de fosforilação que apresenta $\Delta G'^{\circ}$ positivo, e nas condições intracelulares esta reação é fisiologicamente irreversível (Nelson e Cox, 2017).

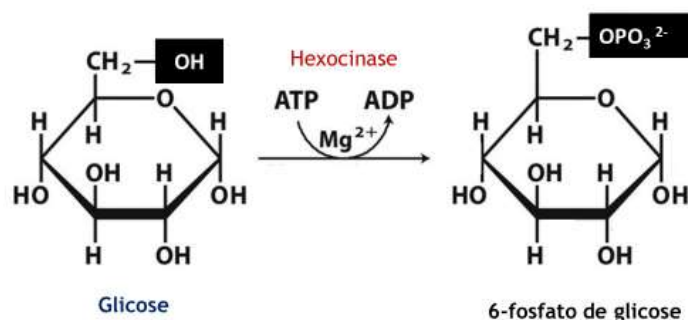


Figura 7. Reação de fosforilação da glicose (Adaptado de Nelson e Cox, 2017).

Na segunda reação (Fig. 8), verifica-se a isomerização do 6-fosfato de glicose que consiste na conversão de uma aldose numa cetose, transformando-se em 6-fosfato de frutose (Meisenberg e Simmons, 2016). Esta reação é catalisada pela fosfohexose isomerase ou fosfoglicose isomerase (Quintas *et al.*, 2008). O principal objetivo desta reação, é preparar a molécula para uma segunda fosforilação na etapa seguinte. Isso será possível, devido à libertação do grupo hidroximetil do anel, facilitando a fosforilação da 6-P-F no carbono 1 (Quintas *et al.*, 2008). Esta reação é endergónica e tem a variação de energia livre padrão reduzida. O seu $\Delta G'^{\circ} > 0$ ($\Delta G'^{\circ} = 1,7$ kJ/mol) permite que a mesma ocorra facilmente nos dois sentidos (reação reversível). Uma vez que o número de átomos de cada elemento químico presente em ambas

as moléculas (6-fosfato de glicose e 6-fosfato de frutose) é o mesmo, esta reação é chamada de **reação de isomerização** (Nelson e Cox, 2017).

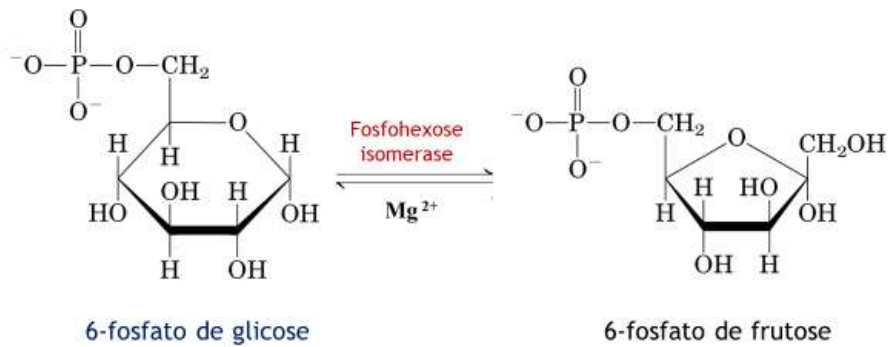


Figura 8. Reação de isomerização do 6-fosfato de glicose (Adaptado de Nelson e Cox, 2017).

Na terceira reação (Fig. 9), é utilizada a 2ª molécula de ATP na via glicolítica. Verifica-se a fosforilação de 6-fosfato de frutose no carbono 1 por ação de uma outra transferase, a enzima fosfofrutocinase-1 (PFK-1), formando o 1,6-bisfosfato de frutose (1,6-BPF) (Quintas *et al.*, 2008). O dador de grupo fosfato é novamente a molécula de ATP (Fig. 9). Nesta reação a desfosforilação do ATP liberta uma quantidade considerável de energia que compensa a energia necessária para a fosforilação do 6-fosfato de glicose tornando a reação global exergónica, ($\Delta G^\circ = -14,2 \text{ kJ/mol}$) e fisiologicamente irreversível. Constitui o segundo ponto de regulação da via glicolítica. Diferente do primeiro ponto de regulação pela hexocinase, a PFK-1 é a enzima chave e limitante da via glicolítica, tornando o terceiro passo o mais importante de todo o processo (Devlin, 2010; Meisenberg e Simmons, 2016). Isso deve-se ao facto de que nas reações anteriores, os intermediários poderiam ter outros destinos que não fosse a via glicolítica, o que não acontece com o 1,6-bisfosfato de frutose, cujo único destino é a via glicolítica (Nelson e Cox, 2017).

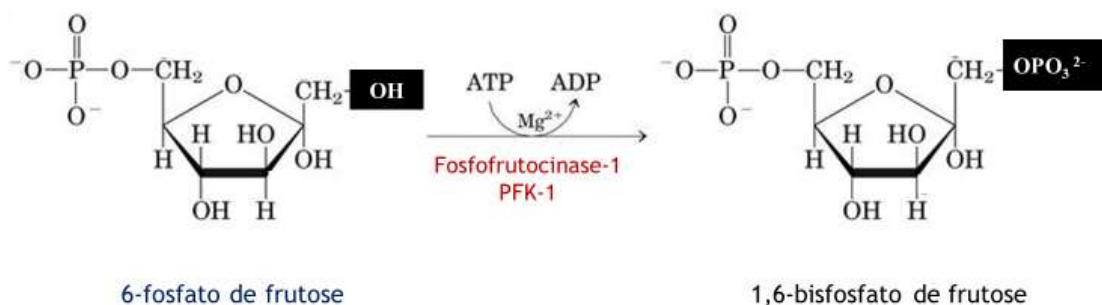


Figura 9. Reação de fosforilação do 6-fosfato de frutose (Adaptado de Nelson e Cox, 2017).

Na quarta reação (Fig. 10), dá-se o início do segundo estágio da etapa preparatória, que consiste na clivagem do intermediário fosforilado nas reações anteriores, o 1,6-bisfosfato de frutose (Devlin, 2010). O 1,6-bisfosfato de frutose é clivado originando dois isômeros (uma cetotriose e uma aldotriose), que são, o fosfato de di-hidroxiacetona e o 3-fosfato de gliceraldeído, respectivamente (Baynes e Dominiczak, 2014). Os três primeiros carbonos do 1,6-bisfosfato de frutose dão origem a cetotriose, e os restantes carbonos originam a aldotriose (Meisenberg e Simmons, 2016). A reação, tem uma variação de energia livre padrão positiva ($\Delta G'^{\circ} = 23,8 \text{ kJ/mol}$), tornando-a facilmente reversível (Nelson e Cox, 2017). É catalisada por uma aldolase denominada 1,6-bisfosfato de frutose aldolase, que é habitualmente chamada apenas de aldolase (Quintas *et al.*, 2008; Nelson e Cox, 2017). A reação utiliza o íon Zn^{2+} como cofator (Fig. 10) (Nelson e Cox, 2017).



Figura 10. Clivagem do 1,6-bisfosfato de frutose pela aldolase (Adaptado de Nelson e Cox, 2017).

Das duas trioses formadas na reação anterior, apenas o 3-fosfato de gliceraldeído tem condições estruturais para dar continuidade à via glicolítica. Assim sendo, o fosfato de di-hidroxiacetona é rapidamente convertido em 3-fosfato de gliceraldeído, constituindo assim a quinta e última reação da fase preparatória (Baynes e Dominiczak, 2014).

A quinta reação (Fig 11), tem como objetivo a conversão do fosfato de di-hidroxiacetona em 3-fosfato de gliceraldeído (Quintas *et al.*, 2008). A fosfato de triose isomerase, também chamada de triose-fosfato isomerase, é a enzima que catalisa esta **reação de isomerização** (Quintas *et al.*, 2008) cuja variação de energia de Gibbs padrão ($\Delta G'^{\circ} = 7,5 \text{ kJ/mol}$) indica ser endergônica e reversível (Nelson e Cox, 2017). A partir deste momento, duas moléculas de 3-fosfato de gliceraldeído estarão disponíveis para dar continuidade a via glicolítica (Meisenberg e Simmons, 2016). Com esta reação, está terminada a fase preparatória, bem como, o segundo estágio da primeira fase da via glicolítica (Devlin, 2010).

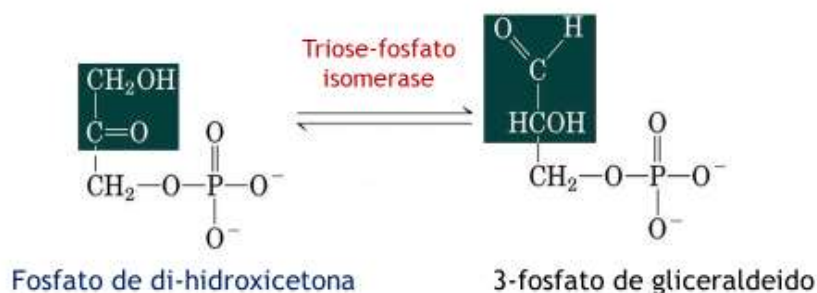


Figura 11. Reação de isomerização da di-hidroxicetona- fosfato (Adaptado de Nelson e Cox, 2017).

2.3.1.1.1 Resumo da fase preparatória

A fase preparatória tem como objetivo a preparação da glicose para a produção de ATP. Nesta fase, há consumo de ATP que serve para fosforilar uma hexose no carbono 1 e 6 em momentos diferentes, facilitando a sua clivagem posteriormente. Esta fase, é caracterizada por cinco reações (1ª Fosforilação; 2ª Isomerização; 3ª fosforilação; 4ª clivagem; 5ª Isomerização), sendo duas de fosforilação, duas de isomerização e uma de clivagem. É ainda caracterizada por dois estágios distintos (1º estágio envolve as três primeiras reações e o 2º estágio envolve a quarta reação), um em que há consumo de ATP, e um outro, em que há clivagem do intermediário fosforilado, o 1,6 bisfosfato de frutose (Quintas *et al.*, 2008; Devlin, 2010). Globalmente, por cada molécula de glicose que reage formam-se duas moléculas de 3-fosfato de gliceraldeído que entram na fase de retorno energético (Quintas *et al.*, 2008).

2.3.1.2 Fase de retorno energético

A fase de retorno energético é caracterizada por um único estágio, em que há uma reação de oxidação-redução, síntese de quatro moléculas ATP e duas de NADH (Fig. 6) (Devlin, 2010; Meisenberg e Simmons, 2016). Apesar da formação de quatro moléculas de ATP, o rendimento líquido da via glicolítica é apenas de duas moléculas de ATP, uma vez que as outras duas moléculas são utilizadas para repor o ATP gasto na fase preparatória. Por isso, esta fase também é chamada de fase de pagamento (Nelson e Cox, 2017).

A primeira reação da fase de retorno energética é a sexta da via glicolítica (Fig 12) que consiste na fosforilação do carbono 1 do 3-fosfato de gliceraldeído, formando o 1,3-bisfosfoglicerato (Machado *et al.*, 2018). A enzima que catalisa esta reação é a 3-fosfato de gliceraldeído desidrogenase (Machado *et al.*, 2018; Tästensen e Schönheit, 2018). Neste passo, o dador de grupo fosfato já não é o ATP, mas sim o fosfato inorgânico. A fosforilação do carbono 1 do 3-fosfato de gliceraldeído, faz com que exista um processo de oxidação (perda de um par de

eletrões e um próton H^+) no grupo aldeído desta molécula. Por esta razão, a reação é chamada de **fosforilação oxidativa**. Trata-se de uma reação endergónica, seu $\Delta G'^{\circ} > 0$ ($\Delta G'^{\circ} = 6,3$ kJ/mol) demonstra que o processo é reversível (Devlin, 2010; Rodwell *et al.*, 2015; Machado *et al.*, 2018). O NAD^+ é utilizado como cofator para aceitar os eletrões e o próton H^+ , levando à sua redução a $NADH$ (Devlin, 2010).

Níveis elevados de espécies reativas de oxigénio (ROS) podem inibir a atividade da 3-fosfato de gliceraldeído desidrogenase (Lieberman e Peet, 2017). Indivíduos diabéticos tipo 2 podem ter uma produção elevada de ROS, inativando a 3-fosfato de gliceraldeído desidrogenase, o que condiciona a continuidade da via glicolítica a nível dos espermatozoides. Este aspeto diminui a motilidade do espermatozoide levando a infertilidade em diabéticos (Liu *et al.*, 2018).



Figura 12. Fosforilação oxidativa do 3-fosfato de gliceraldeído (Adaptado de Nelson e Cox, 2017).

Na sétima reação (Fig. 13), há a **desfosforilação** do 1,3-bisfosfoglicerato para formar o 3-fosfoglicerato (Serimbetov *et al.*, 2017). Esta reação, é catalisada pela fosfoglicerato-cinase na presença de Mg^{+2} , que por ser uma transferase, transfere um grupo fosfato do carbono 1 do substrato (1,3-bisfosfoglicerato) para o ADP produzindo assim ATP para além de 3-fosfoglicerato. Para além da desfosforilação da molécula de 1,3-bisfosfoglicerato, há também a fosforilação a nível do substrato de ADP, formando ATP (Villafranz *et al.*, 2018). Por essa razão, esse processo é chamado de fosforilação a nível do substrato, distinguindo-a da fosforilação mitocondrial (processo de síntese de ATP pela mitocôndria) (Meisenberg e Simmons, 2016; Nelson e Cox, 2017). Estão assim sintetizadas as primeiras moléculas de ATP na fase de retorno energético, uma vez que foram utilizadas duas moléculas de 1,3-bisfosfoglicerato e cada uma delas leva a produção de uma molécula de ATP (Lieberman e Peet, 2017). A reação assume-se como exergónica por apresentar $\Delta G'^{\circ} < 0$ ($\Delta G'^{\circ} = -18,5$ kJ/mol), mas apesar disso o processo é reversível. O valor negativo de $\Delta G'^{\circ}$ deve-se ao fato desta reação estar acoplada ao processo anterior tendo em comum o mesmo intermediário (1,3 bisfosfoglicerato), isto faz com que o consumo deste intermediário seja maior tornando os seus níveis baixos no citosol (Nelson e Cox, 2017).

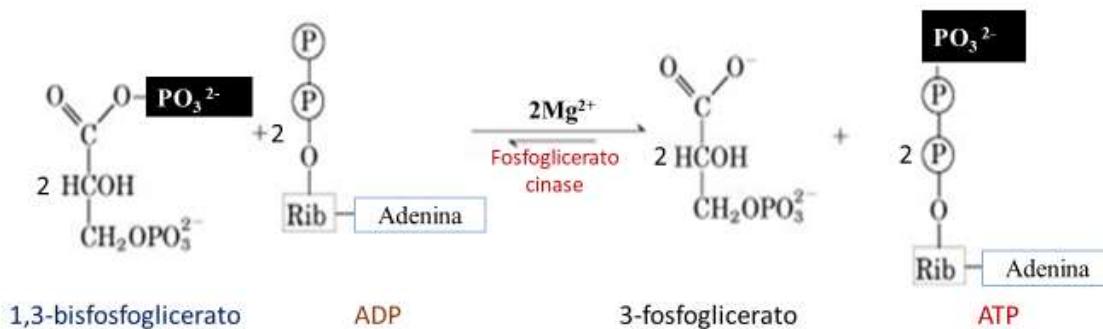


Figura 13. Reação de desfosforilação do 1,3-bisfosfoglicerato (Adaptado de Nelson e Cox, 2017).

Na oitava reação (Fig. 14), há **isomerização** do 3-fosfoglicerato originando o 2-fosfoglicerato. Esta reação é catalisada pela fosfoglicerato mutase, que transfere o grupo fosforilo do terceiro carbono para o segundo (Hong e Lee, 2018). Esta transferência ocorre em duas etapas de forma reversível, uma vez que $\Delta G^{\circ} = 4,4 \text{ kJ/mol}$. Na primeira etapa, forma-se um intermediário duplamente fosforilado, o 2,3-bisfosfoglicerato, à custa da transferência de um grupo fosfato efetuada pela enzima. Na segunda etapa, a enzima é regenerada, é retirado o grupo fosfato do terceiro carbono do intermediário formado na etapa anterior, dando origem ao 2-fosfoglicerato (Nelson e Cox, 2017).

O 2,3-bisfosfoglicerato é um composto importante para o eritrócito, funcionando como um regulador da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio. Apesar de ser um intermediário nessa etapa da via glicolítica, esta não é a via clássica de formação de 2,3-bisfosfoglicerato (Puri e Monro, 2018). Este assunto é abordado no capítulo 3.

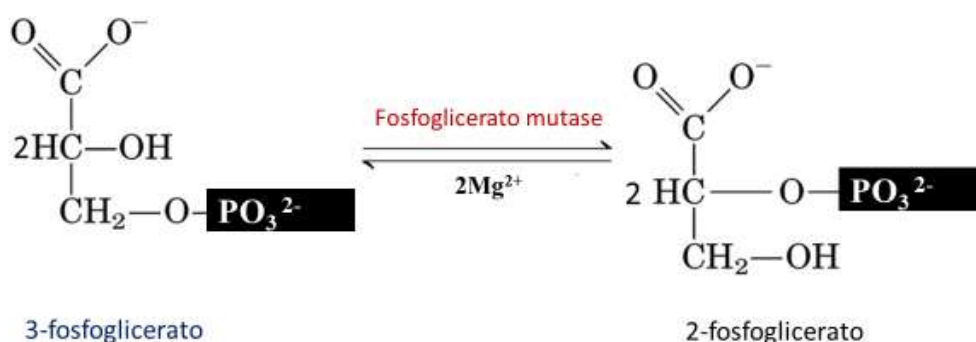


Figura 14. Reação de isomerização do 3-fosfoglicerato (Adaptado de Nelson e Cox, 2017).

Na nona reação da via glicolítica (Fig. 15), há formação de um composto com elevado valor energético, possibilitando a formação de ATP na décima reação. Este passo é caracterizado pela **desidratação** do 2-fosfoglicerato, formando assim o fosfoenolpiruvato (S. Zhang *et al.*, 2018). A enzima responsável pela catálise desta reação é a enolase que utiliza o Mg^{+2} como

cofator (Nelson e Cox, 2017). A variação da energia de Gibbs da reação ($\Delta G^{\circ} = 7,5 \text{ kJ/mol}$) demonstra que a mesma é endergônica e reversível (Nelson e Cox, 2017).

A enzima enolase pode ser inibida por iões de Flúor. O Flúor faz parte da composição das pastas dentrificas porque protege os dentes da cárie dentária (Meisenberg e Simmons, 2016). O mecanismo desta proteção, consiste na inibição da enolase das bactérias presentes nos dentes, interrompendo a via glicolítica e condicionando assim a formação de ácido láctico, que é o principal responsável para a formação da cárie dentária. (Meisenberg e Simmons, 2016; Thurnheer e Belibasakis, 2018). A enolase é ainda usada como marcador precoce do cancro do pulmão. Uma vez que as células cancerígenas usam a via glicolítica para a sua manutenção, uma das enzimas que eleva a sua expressão no organismo de forma precoce é a enolase, podendo ser detetada através de testes específicos (Zhang e Dong, 2017).

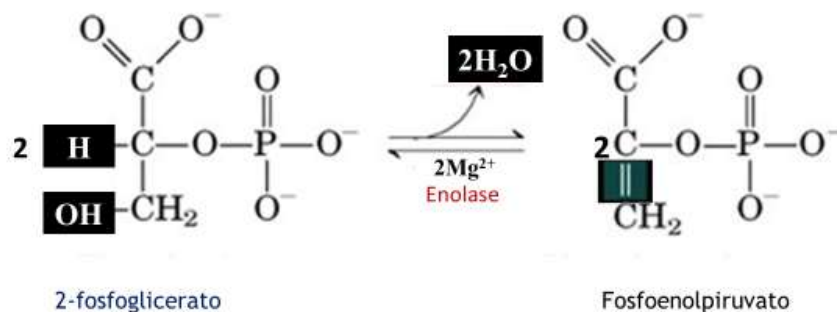


Figura 15. Desidratação do 2-fosfoglicerato (Adaptado de Nelson e Cox,2017).

A décima e última reação, caracteriza-se pela **desfosforilação do fosfoenolpiruvato** dando origem ao piruvato e ATP (Fig. 16). A enzima que catalisa esta reação é a piruvato cinase, que necessita de Mg^{+2} e K^+ , e constitui o último ponto de regulação da via glicolítica (Nelson e Cox, 2017; Lee *et al.*,2018). A reação é exergónica, ($\Delta G^{\circ} = -31,4 \text{ kJ/mol}$) e irreversível (Nelson e Cox, 2017).

Muitos estudos sobre novas estratégias de tratamento de cancro, apontam a piruvato cinase como o novo alvo terapêutico. A piruvato cinase, sendo uma das enzimas limitantes da via glicolítica, se for conseguida a sua inibição nas células cancerígenas, pode condicionar a sobrevivência e proliferação das mesmas, uma vez que estas usam mais glicose que as células normais para a formação de lactato (Seng Tee *et al.*, 2017; Ning *et al.*, 2018).

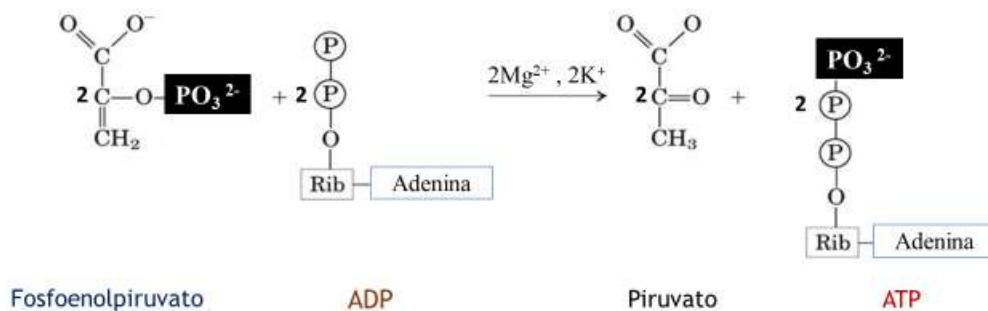


Figura 16. Reação de desfosforilação do fosfoenolpiruvato (Adaptado de Nelson e Cox, 2017).

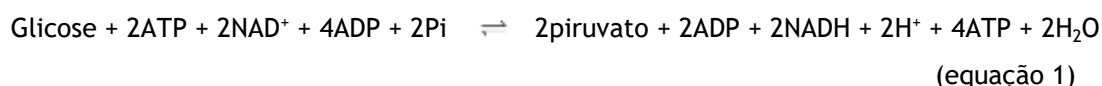
2.3.1.2.1 Resumo da fase de retorno energético

Esta fase é caracterizada pela produção de moléculas que conservam energia, como o ATP e NADH, bem como a reposição das moléculas de ATP consumidas na fase anterior. A fase de retorno energético, ao contrário da fase anterior, apresenta um único ponto de regulação enzimática, através da piruvato cinase na décima reação (Devlin, 2010; Lieberman e Peet, 2017). A fase de retorno energético é constituída por cinco reações, sendo uma de **fosforilação oxidativa** (sexta reação), duas de **desfosforilação** (sétima e décima reação), uma de **isomerização** (oitava) e uma de **desidratação** (nona reação) (Nelson e Cox, 2017).

Com o término desta fase, estão assim cumpridas todas as etapas catabólicas da glicose na via glicolítica. Os seus intermediários poderão ser encaminhados para outras vias metabólicas para a produção de mais ATP e outros compostos essenciais para o organismo (Lieberman e Peet, 2017).

2.3.2 Balanço energético

Com o catabolismo da glicose concluído na via glicolítica, podemos perceber de forma simplificada o que foi consumido durante o processo e o que foi produzido. Isto dá-nos a possibilidade de entendermos a quantidade de energia produzida pela via glicolítica em forma de ATP e NADH, bem como o rendimento energético líquido da mesma (Meisenberg e Simmons, 2016; Lieberman e Peet, 2017). O balanço energético da via glicolítica pode ser apresentado na equação 1 (Nelson e Cox, 2017).



Se somarmos o lado direito com o esquerdo, simplificando os termos idêntico, obteremos a equação global da via glicolítica (equação 2) e o seu rendimento líquido, lembrando que para cada molécula de glicose se formam duas moléculas de piruvato (Nelson e Cox, 2017).



Capítulo III

Catabolismo anaeróbico da glicose

3. Catabolismo anaeróbio da glicose

O catabolismo anaeróbio da glicose é idêntico ao aeróbio. A diferença consiste apenas no seu produto final. Na ausência de oxigénio a via glicolítica não é interrompida, mas sim reformulada quanto ao seu produto final. Neste caso, o produto final da via é o lactato em vez do piruvato (ver figura 5 no capítulo 2) (Baynes e Dominiczak, 2014).

Nas situações de hipoxia tecidual como na malária, as células deixam de produzir piruvato na via glicolítica como produto final, dando origem ao lactato. Esta situação, leva a uma condição clínica, denominada por acidose láctica por acumulação deste produto na corrente sanguínea que pode ser fatal ao indivíduo (Kasper *et al.*, 2015; Karnad *et al.*, 2018).

Existem células no organismo que realizam o catabolismo da glicose pela via glicolítica de forma anaeróbia mesmo na presença de oxigénio. Um exemplo clássico é o eritrócito, pelo facto do mesmo não possuir mitocôndria, como já foi referido no capítulo 2 (Lieberman e Peet, 2017).

Como todos os passos da glicólise aeróbia são idênticos à glicólise anaeróbia, focaremos apenas dois pontos importantes da via glicolítica no eritrócito que o diferem das células que utilizam oxigénio em condições normais e possuem mitocôndria. O primeiro aspeto está relacionado com o sétimo passo da via glicolítica, e o segundo tem haver com o produto final da via glicolítica nos eritrócitos.

3.1 Síntese de 2,3-bisfosfoglicerato

Nas células que utilizam oxigénio e possuem mitocôndria, a sétima reação está desenhada para desfosforilar o 1,3-bisfosfoglicerato e formar 3-fosfoglicerato e ATP. Nos eritrócitos grande parte deste intermediário (1,3-bisfosfoglicerato) é utilizado para a síntese de 2,3-bisfosfoglicerato, provocando um desvio na rota da glicólise (Fig. 17) (Wang *et al.*, 2016; Puri e Monro, 2018). Assim, o eritrócito utiliza a enzima 2,3-bisfosfoglicerato mutase para a catálise desta reação (Lieberman e Peet, 2017). No caso de excesso de 2,3-bisfosfoglicerato no eritrócito, o mesmo poderá voltar a ser incorporado na via glicolítica através da sua conversão em 3-fosfoglicerato pela enzima 2,3-bisfosfoglicerato fosfatase como apresentado na Figura 17 (Lieberman e Peet, 2017).

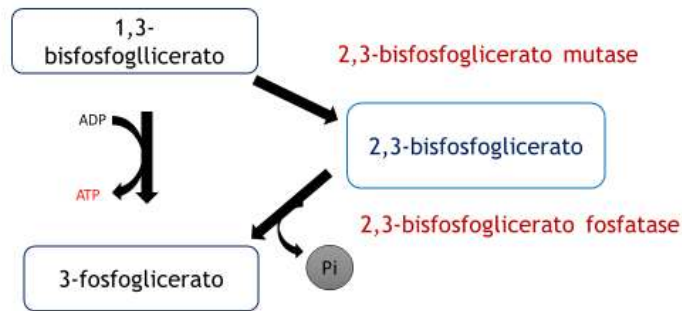


Figura 17. Síntese de 2,3-bisfosfoglicerato (Adaptado de Puri e Monro, 2018).

Numa situação de hemorragia excessiva, há um aumento significativo da síntese do 2,3-bisfosfoglicerato, permitindo maior libertação de oxigénio nos tecidos, uma vez que esse composto diminui a afinidade da hemoglobina para com o oxigénio (Lier *et al.*, 2018).

3.2 Formação de lactato

O produto final da via glicolítica nos eritrócitos é o lactato, diferente do que acontece na presença de oxigénio em células que possuem mitocôndria (Meisenberg e Simmons, 2016).

A produção de lactato no eritrócito, deve-se ao fato, destas células precisarem reoxidar o NADH formado ao longo da via glicolítica, para um novo processo de glicólise (Lieberman e Peet, 2017). Em células que possuem mitocôndria, e na presença de oxigénio, a reoxidação do NADH a NAD^+ realiza-se nos complexos da cadeia respiratória, um processo que acontece na mitocôndria da célula, fazendo com que não exista formação de lactato (Nelson e Cox, 2017).

Nos eritrócitos, a conversão do piruvato em lactato é catalisada pela enzima lactato desidrogenase, na presença de NADH (Fig. 18) (Mali *et al.*, 2017). O NADH funciona como um dador de eletrões, necessários para a redução do piruvato, formando assim, lactato e NAD^+ (Lieberman e Peet, 2017). Esta reação é idêntica em todas as células que realizam glicólise na ausência de oxigénio, logo, todas as células do organismo humano possuem a enzima lactato desidrogenase (Baynes e Dominiczak, 2014).



Figura 18. Redução do piruvato a lactato (Adaptado de Meisenberg e Simmons, 2016).

Níveis elevados da enzima lactato desidrogenase (LDH) no plasma humano, pode ser indicativo de destruição dos eritrócitos. Por esta razão, a mesma é utilizada na Medicina para auxiliar no diagnóstico de várias patologias, como por exemplo as anemias hemolíticas (Li *et al.*, 2017; Adegoke *et al.*, 2017).

Capítulo IV
Regulação da via glicolítica

4. Regulação da via glicolítica

Para evitar desperdícios, ou déficit de substratos, a via glicolítica é devidamente regulada de modo a manter constante os níveis de ATP e de precursores biossintéticos para o correto funcionamento da célula. A regulação da via glicolítica é feita a nível enzimático e hormonal. A hexocinase, a fosfofrutocinase-1 e a piruvato cinase, são as enzimas responsáveis pela regulação da via glicolítica, conforme referido no capítulo 2 (Nelson e Cox, 2017; Ausina *et al.*, 2018). Do ponto de vista hormonal, destacaremos as funções da insulina e do glucagon na regulação da via glicólica (Devlin, 2010).

4.1 Regulação pelas hexocinases

A hexocinase constitui o primeiro ponto de regulação da via glicolítica. A enzima catalisa a primeira reação da via, que consiste na formação de 6-fosfato de glicose a partir da glicose (Moreno e Cantos, 2018)

O organismo humano possui quatro isoforma dessa enzima (I, II, III e IV), que estão distribuídas por tecidos diferentes (Rodwell, *et al.*, 2015). As isoenzimas I, II e III encontram-se expressas na maior parte dos tecidos do organismo humano. Estas, têm um Km muito baixo (0,1mM), tendo por isso alta afinidade a glicose (Moreno e Cantos, 2018). Deste modo, elas são inibidas de forma alostérea pelos níveis elevados de 6-fosfato de glicose, que é o seu produto, regulando a entrada de glicose na célula (Lieberman e Peet, 2017).

Níveis elevados de ATP na célula desaceleram a via glicolítica permitindo a acumulação de vários intermediários. Um dos intermediários que se acumula nestas situações é o 6-fosfato de frutose. Esta acumulação conduz conseqüentemente à acumulação de 6-fosfato de glicose, e à inibição da hexocinase, diminuindo assim a entrada de glicose na célula (Fig. 19) (Lieberman e Peet, 2017).

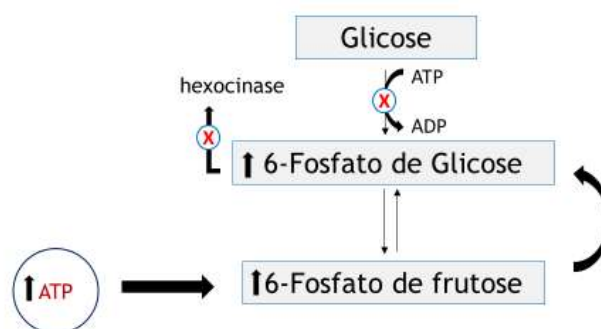


Figura 19. Mecanismo de inibição da hexocinase por acumulação de 6-fosfato de frutose devido aos níveis altos de ATP

A hexocinase IV (ou glucocinase) é uma isoenzima que se encontra principalmente no fígado e células β do pâncreas. (Navas *et al.*, 2013; Lu *et al.*, 2018). Diferente das outras hexocinases, a glucocinase tem o Km alto (10mM), o que significa que tem pouca afinidade com a glicose, não sendo por isso inibida pela 6-fosfato de glicose. Isso permite a continuidade da via glicolítica no fígado mesmo em situações em que o ATP esteja elevado, o que permite a síntese de glicogénio e ácidos gordos que são formas de armazenar a glicose em excesso evitando o seu desperdício (Lieberman e Peet, 2017; Song *et al.*, 2018).

A glucocinase só é funcional em altos níveis de glicose no fígado. Quando os níveis de glicose na corrente sanguínea baixam, ela não permite que o fígado utilize a glicose, e esta fica disponível para outros tecidos. Deste modo, a glucocinase regula a utilização da glicose no fígado, com repercussão para os outros tecidos e células (Liu *et al.*, 2018).

No pâncreas, a glucocinase promove a formação de 6-fosfato de glicose, quando a concentração de glicose estiver elevada na corrente sanguínea, levando assim à secreção de insulina. Isto permite a utilização de glicose pelas células sensíveis a insulina, e a sinalização para a remoção da glicose em excesso da corrente sanguínea (Berg, *et al.*, 2015; Lu *et al.*, 2018).

A glucocinase, é inativada quando se liga a uma proteína denominada proteína reguladora da glucocinase (GKRP). Esta proteína liberta-se da enzima quando as concentrações de frutose estão baixas ou quando existem níveis altos de glicose, ativando deste modo a enzima (Watanabe *et al.*, 2018).

A deficiência da hexocinase nos glóbulos vermelhos leva a um tipo de distúrbio hereditário raro, caracterizado por anemia hemolítica. Os glóbulos vermelhos dependem exclusivamente da via glicolítica para produzir ATP, deste modo, uma deficiência nesta enzima compromete a síntese de ATP na célula, tornando a mesma incapaz para a sua função. Isto conduz a uma destruição precoce das hemácias por hemólise levando a anemia (Koralkova *et al.*, 2016).

Deficiências na glucocinase, por mutação no seu gene a nível do pâncreas, podem levar a um estado de hiperglicemia (aumento de glicose na corrente sanguínea) assintomática em jejum, causando um subtipo de diabetes denominada MODY (Diabetes de início na maturidade dos jovens). É uma doença rara, autossómica dominante que se caracteriza por manifestações clínicas precoces, diagnosticada normalmente antes dos 25 anos (X. Li *et al.*, 2018).

4.2 Regulação pela fosfofrutocinase

A Fosfofrutocinase-1 (PFK-1) é a principal enzima no processo de regulação da via glicolítica. Ela determina a entrada de glicose na via glicolítica, atuando ao nível da conversão de 6-fosfato de frutose a 1,6-bisfosfato de frutose. (Lieberman e Peet, 2017; Ausina *et al.*, 2018).

Vários substratos e diferentes moléculas estão implicados na ativação e inibição da fosfofrutocinase-1, podendo a mesma ser regulada por vários mecanismos (Meisenberg e Simmons, 2016; Ausina *et al.*, 2018).

4.2.1 Mecanismo de regulação da fosfofrutocinase-1 por ATP e AMP

Estas moléculas regulam de forma alostérea a enzima. Níveis altos de ATP na célula modificam a conformação da enzima levando à sua inibição (Fig. 20). O AMP tem uma ação inversa ao se ligar à enzima. Níveis altos de AMP modificam num sentido diferente a conformação da enzima fazendo com que a mesma tenha maior afinidade pelo seu substrato (6-fosfato de frutose) levando assim a ativação da enzima (Lieberman e Peet, 2017; F. Li *et al.*, 2018).

4.2.2 Mecanismo de regulação da fosfofrutocinase-1 por 2,6-bisfosfato de frutose

O 2,6-bisfosfato de frutose não é um intermediário da via glicolítica, sendo sintetizado por uma enzima denominada fosfofrutocinase-2 (PFK-2) (Lieberman e Peet, 2017). A PFK-2 é uma enzima que não é referenciada na via glicolítica por não intervir de forma direta no processo, mas ela é de grande importância para a ativação da PFK-1 (Lieberman e Peet, 2017).

A PFK-2 é considerada uma enzima bifuncional por possuir um domínio de cinase e um domínio de fosfatase. Concentrações elevadas de glicose promovem maior secreção de insulina pelo pâncreas, e esta, ativa o domínio de cinase da PFK-2. Esta por sua vez fosforila o 6-fosfato de frutose na posição dois, formando o 2,6-bisfosfato de frutose que apresenta atividade moduladora, por via alostérea, da PFK-1 (Fig. 20) (Lee *et al.*, 2018; Ausina *et al.*, 2018). Além disso, reduz a inibição da PFK-1 devido ao valor de pH intracelular e à concentração de ATP e citrato (Lee *et al.*, 2018).

O domínio de fosfatase da PFK-2 é ativado em situação de jejum pelo glucagon. Nesta condição, a enzima hidrolisa o 2,6-bisfosfato de frutose formando novamente o 6-fosfato de frutose (Lieberman e Peet, 2017). A nível do fígado, a PFK-2 pode ser regulada por uma proteína-cinase dependente de AMPc. Níveis altos de AMPc na célula ativam a proteína-cinase, que por sua vez fosforila a enzima. Com a fosforilação, a atividade de cinase fica inibida e ativa-se o domínio de fosfatase, diminuindo assim os níveis de 2,6-bisfosfato de frutose nas situações de jejum (Lieberman e Peet, 2017).

4.2.3 Mecanismo de regulação da PFK-1 pelo citrato

O citrato é um intermediário do ciclo do ácido cítrico que tem grande importância na regulação da PFK-1. Níveis aumentados de citrato na célula inibem de forma alostérea a PFK-1 levando a célula a diminuir o consumo de glicose impedindo assim a formação de mais citrato pelo ciclo do ácido cítrico (Fig.20) (Lieberman e Peet, 2017; Andrejic e Legi, 2018)

Existem ainda outras moléculas como o ADP, que tem influência na regulação da PFK-1. Níveis elevados de ADP na célula ativam a enzima, permitindo a entrada de glicose na célula e a ativação da via glicolítica (Fig. 20) (Nelson e Cox, 2017; Andrejc e Legi, 2018)

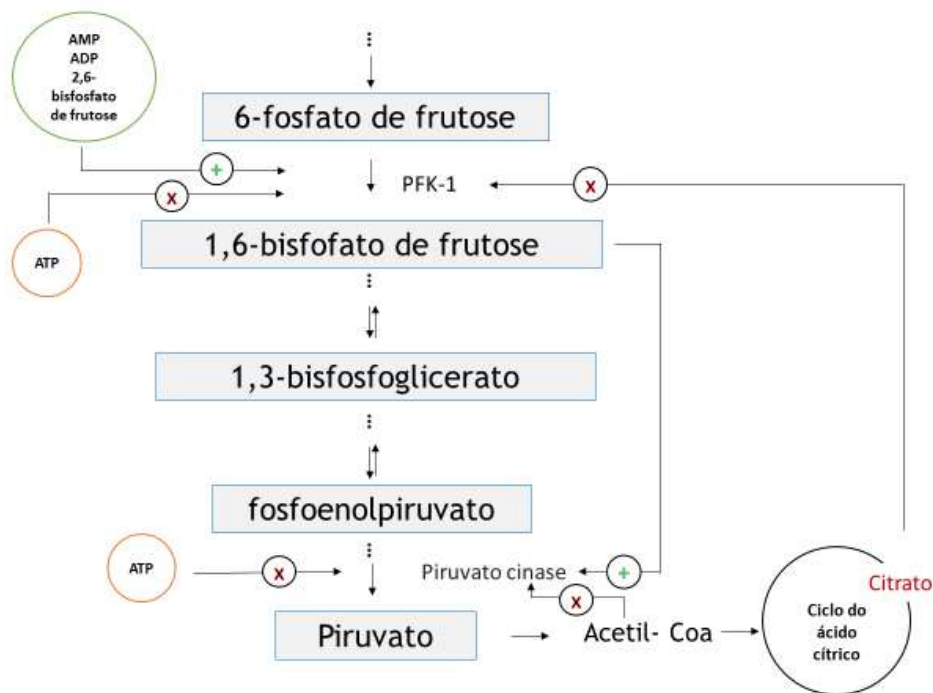


Figura 20. Visão resumida dos pontos de regulação da segunda e decima reação da via glicolítica. Os símbolos + e x representam os processos de ativação e inibição respetivamente.

4.3 Regulação pela piruvato cinase

O papel desempenhado pela piruvato cinase na regulação da via glicolítica, depende do tecido em que a mesma se localiza. Nos seres humanos, existem quatro isoformas desta enzima distribuídas em vários tecidos. As Isoformas presentes no cérebro e musculo não contribuem para a regulação da via glicolítica nas células destes tecidos. Isto deve-se ao fato das mesmas não possuírem locais para a ligação de efetores alosténeos (Lieberman e Peet, 2017; Yuan *et al.*, 2018).

A isoforma da piruvato cinase presente no fígado, possui sítios de ligação para determinadas moléculas como o ATP e o 1,6-bisfosfato de frutose, permitindo a sua regulação alostérea (Yuan *et al.*, 2018). Níveis elevados de 1,6-bisfosfato de frutose ativam a enzima permitindo a continuidade da via glicolítica e a síntese de ATP (Fig. 20) (Gavriilidou *et al.*, 2018). Quando a célula possui um alto teor de ATP, esta molécula liga-se à enzima provocando a sua inibição (Fig. 20). Deste modo, haverá redução na síntese de piruvato diminuindo a formação de ATP (Lieberman e Peet, 2017).

4.4 Regulação hormonal

A insulina e o glucagon são hormonas produzidas pelo pâncreas, pelas células β e α respetivamente. Desempenham um papel importante na regulação da via glicolítica. Garantem a disponibilidade de substratos de forma contínua para a síntese de ATP. Tendo em conta as necessidades celulares, elas permitem a mobilização ou o armazenamento de substratos que geram ATP para a célula. Ambas, são consideradas responsáveis pela homeostase da glicose na corrente sanguínea, embora muitos autores defendam que esta função recai sobre o fígado (Lieberman e Peet, 2017; N. Zhang *et al.*, 2018). Com efeito, alguns estudos demonstram que as células do fígado são as responsáveis pela regulação da glicose na corrente sanguínea, e não a insulina como se pensa no seio clínico. Segundo estes autores a insulina é importante para ativar a armazenamento de glicose no fígado, mas não determina a homeostase da glicose na corrente sanguínea (Kasper, *et al.*, 2015; Lieberman e Peet, 2017; N. Zhang *et al.*, 2018).

A insulina é considerada hormona hipoglicemiante. Os seus níveis aumentam no organismo quando existem concentrações elevadas de glicose na corrente sanguínea em resultado da ingestão de glúcidos (Eissa *et al.*, 2018). A insulina permite o armazenamento de glicose no fígado em forma de glicogénio (glicogénese) ativando uma proteína-cinase não dependente de AMPc, que por uma cascata de reações desfosforila a PFK-2 ativando a via glicolítica nas células hepáticas, o que permite a síntese de glicogénio (Ma *et al.*, 2018).

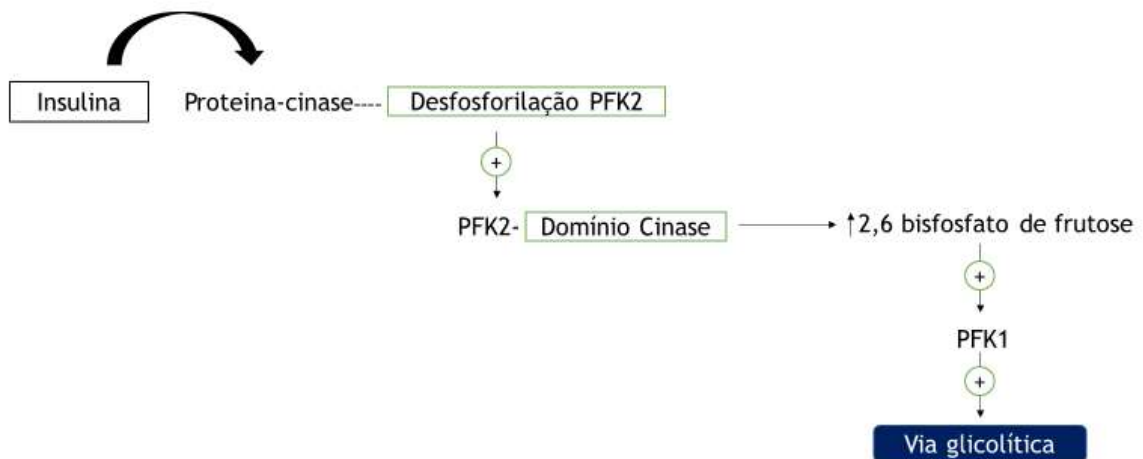


Figura 21. Mecanismo de ativação da via glicolítica pela insulina. (+) - ativação; seta em 2,6 bisfosfato de frutose indica aumento.

O glucagon, tem uma ação contrária à insulina e é considerado uma hormona hiperglicemiante. Os seus níveis aumentam no organismo nos estados de jejum, situações em que há pouca glicose na corrente sanguínea (Basco *et al.*, 2018). Ela age sobre o fígado mobilizando-o a libertar glicose para a corrente sanguínea (Knop, 2018). A sua ação consiste em ativar uma proteína-cinase dependente de AMPc que vai fosforilar PFK-2 ativando o seu domínio fosfatase. Deste

modo, interrompe-se a via glicolítica e ativa-se um processo que permite o aumento de glicose na corrente sanguínea (Lieberman e Peet, 2017; Basco *et al.*, 2018).

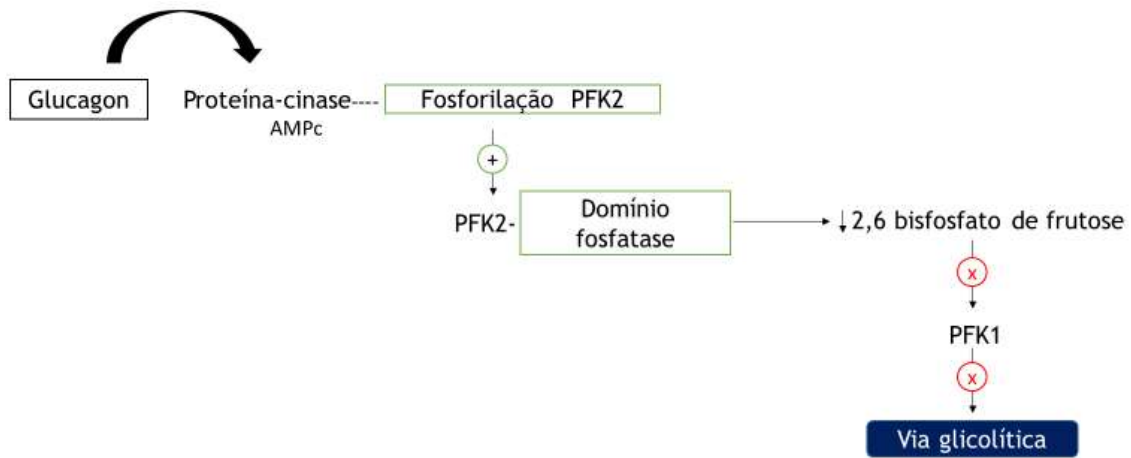


Figura 22. Mecanismo de inibição da via glicolítica pelo glucagon. (X) - inibição; seta em 2,6 bisfosfato de frutose indica diminuição.

Capítulo V

Importância da via glicolítica para o organismo

5. Importância da via glicolítica para o organismo

A via glicolítica é das rotas metabólicas mais importantes para a manutenção do organismo. Para além de produzir ATP que é de grande importância para o funcionamento celular, também produz intermediários que são utilizados na biossíntese de outras moléculas indispensáveis no organismo humano (Lieberman e Peet, 2017).

O 6-fosfato de glicose, é um intermediário da via glicolítica que serve de precursor para a síntese de outras moléculas em outras vias metabólicas (Lieberman e Peet, 2017). A partir deste intermediário, a célula pode sintetizar NADPH e riboses pela via dos fosfatos de pentose (Mele *et al.*, 2018).

O NADPH é uma molécula de grande importância para a regulação das espécies reativas de oxigénio (ROS) no organismo (Mele *et al.*, 2018). Ela funciona como dador de eletrões para a glutatona oxidada, levando a redução desta. A glutatona reduzida, funciona como um poderoso antioxidante natural transformando as espécies reativas de oxigénio (radicais livres) em compostos estáveis que não sejam deletérios para as células, conferindo assim proteção para as células (Y. Zhang *et al.*, 2018).

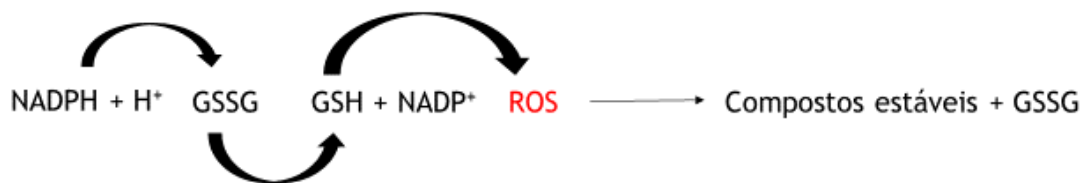


Figura 23. Redução da glutatona oxidada pelo NADPH e a ação da glutatona reduzida sobre as espécies reativas de oxigénio (ROS).

Indivíduos cujas células têm dificuldades em sintetizar NADPH, podem com maior facilidade desenvolver danos celulares por excesso de ROS, e conseqüentemente estarem mais suscetíveis a desenvolver determinadas doenças, como por exemplo doenças cardiovasculares e cancro (Wang *et al.*, 2018; Forrester *et al.*, 2018). O NADPH é ainda importante para a síntese de lípidos no organismo, sendo que ele funciona como transportador de eletrões neste processo (Xue *et al.*, 2017; Shuib *et al.*, 2018). O NADPH desempenha também um papel importante na ação do sistema imunitário. O complexo enzimático NADPH oxidase, presente na membrana dos neutrófilos, é de grande importância para a produção de espécies reativas de oxigénio, que ajudam na destruição de bactérias e outros microrganismos que invadem as células (Belambr *et al.*, 2018).

A ribose é um açúcar importante para a síntese dos ácidos nucleicos. Problemas na via glicolítica que comprometem a formação de 6-fosfato de glicose, podem comprometer a formação de

ribose pela via dos fosfatos de pentose, e conseqüentemente a formação de DNA, uma vez que o 6-fosfato de glicose também é precursor de ribose (Benito *et al.*, 2017; Mele *et al.*, 2018).

O fosfato de di-hidroacetona produzido na quarta reação da via glicolítica, é importante para a formação de 3-fosfato de glicerol, que é usado pelo organismo como esqueleto na síntese de triacilglicéridos (Lieberman e Peet, 2017).

A via glicolítica também é responsável pela síntese de determinados aminoácidos no organismo. O intermediário 3-fosfoglicerato pode ser usado para a síntese de serina. A serina é um aminoácido que desempenha inúmeras funções no organismo. É importante para a síntese de outros aminoácidos, como a glicina e cisteína que são necessários na formação da glutatona e participa na síntese de alguns lípidos de membrana como os esfingolípido (Gao *et al.*, 2018). A serina também funciona como dador de um carbono para a metilação dos folatos, necessários na síntese de nucleótidos que são usados na formação de DNA (Bryant *et al.*, 2018; Gao *et al.*, 2018).

Um outro intermediário da via glicolítica que se mostra útil na biossíntese de outros compostos é o piruvato. A partir do piruvato, a célula produz acetil-CoA que é utilizado como fornecedora de carbonos para a síntese de ácidos gordos (Lawitz *et al.*, 2018). O piruvato, também pode ser precursor de aminoácidos como a alanina (Lieberman e Peet, 2017).

Capítulo VI

Via glicolítica, uma olhar sobre a clínica

6. Via glicolítica, uma olhar sobre a clínica

Existe um conjunto de doenças cujos processos patogênicos podem ser melhor entendidos com o estudo da via glicolítica. Neste trabalho, referenciamos algumas doenças relacionadas com as enzimas de regulação, bem como, algumas ligadas a insulina e o glucagon de forma simples e objetiva.

6.1 Via glicolítica e Diabetes *mellitus*

A diabetes *mellitus* (DM) é uma doença crônica caracterizada pelo elevado índice de glicose na corrente sanguínea, resultante da incapacidade do organismo em produzir insulina ou resistência a esta nas células alvos (Berryet *et al.*, 2018). A DM é classificada de forma geral em dois grandes grupos. A diabetes *mellitus* tipo 1 (não há produção de insulina) e o tipo 2 (há resistência à ação da insulina) (Ahangarpour *et al.*, 2018).

A DM tipo 1 é mais frequente em crianças e adolescentes e caracteriza-se pela destruição das células pancreáticas pelo próprio organismo (autoimunidade), fazendo com que as mesmas sejam incapazes de produzir insulina (Guarnotta *et al.*, 2018; Šimunović *et al.*, 2018; Zununi *et al.*, 2018). Deste modo, não haverá produção nem secreção de insulina em situações de concentrações elevadas de glicose na corrente sanguínea. Assim sendo, as células dependentes de insulina terão dificuldades em captar a glicose, e os mecanismos que levam o fígado a absorver a glicose em excesso e armazená-la também estarão comprometidos (Zununi *et al.*, 2018). Instala-se um quadro de hiperglicemia com várias complicações para as células, que só pode ser atenuada com a administração de insulina (Castro-correia *et al.*, 2018; Thuillier *et al.*, 2018). Por esta razão a DM tipo 1 é também chamada de DM dependente de insulina (Thuillier *et al.*, 2018).

Uma outra razão para o aumento da glicose na corrente sanguínea em indivíduos diabéticos tipo 1, é a ação do glucagon. Pelos mecanismos já explicados anteriormente, o glucagon ativa o domínio fosfatase da PFK-2 que diminui a produção de 2,6-bisfosfato de frutose, inibindo assim a PFK-1 (Fig. 22). Desta forma, o glucagon induz o fígado a produzir glicose, agravando ainda mais o quadro de hiperglicemia (Lieberman e Peet, 2017; Kawamori *et al.*, 2018; Basco *et al.*, 2018). O mesmo mecanismo acontece nas células de indivíduos com DM tipo 2 (Knop, 2018).

A DM tipo 2 é adquirida, é mais frequente em adultos e apresenta maior número de casos em relação ao tipo 1 (Rozenberg e Rosenzweig, 2018). Caracteriza-se por um processo de resistência a insulina por parte das células, levando a um aumento de glicose na corrente sanguínea. Células sensíveis a insulina que apresentam resistência a esta, não poderão deslocar as vesículas que contêm moléculas de GLUT4 para as suas membranas, comprometendo assim a absorção de glicose por parte delas (Della *et al.*, 2018).

Vários são os estudos que tem como alvo os transportadores de glucose (GLUT4) como uma nova abordagem no tratamento da DM tipo 2. Acredita-se, que a síntese de fármacos que aumentam a expressão de GLUT4, pode ser uma forma de combater as complicações da doença (Bai *et al.*, 2018). As complicações crônicas da doença incluem problemas na retina (retinopatia diabética), alterações da sensibilidade (neuropatia diabética), e lesão renal (nefropatia diabética). Estas complicações dão-se, porque os transportadores de glicose nestas células não são dependentes de insulina, e como o fígado não armazena o excesso de glicose por défice de insulina, estas células captam o excesso de glicose presente no organismo. Deste modo, aumentam a síntese de ATP e consequentemente de ROS. O excesso de ROS nestas células promove a lesão das mesmas. (Ahangarpour *et al.*, 2018; Berry *et al.*, 2018; Miki *et al.*, 2018)

6.2 Via glicolítica e acidente vascular cerebral isquémico

O acidente vascular cerebral (AVC) isquémico é uma situação clínica em que há obstrução dos vasos que irrigam o cérebro, diminuído assim o aporte de sangue e consequentemente de oxigénio nas células deste órgão. Esta situação leva a danos celulares no cérebro devido a um conjunto de eventos relacionados com a via glicolítica (Kasper, *et al.*, 2015; Y. Li *et al.*, 2018).

A diminuição do aporte sanguíneo e o défice de oxigénio, aumenta o consumo e degradação da glicose pela via glicolítica nestas células, uma situação que é chamada de hiperglicólise. A hiperativação da via glicolítica nestas situações é determinada pela hexocinase. Deste modo, haverá maior produção de ácido láctico pela carência de oxigénio, e por outro lado, haverá uma maior produção de ROS pela necessidade acrescida das células em sintetizarem ATP devido à pouca irrigação. Acredita-se ainda que a hexocinase também é responsável pela ativação do sistema imunitário levando a inflamação cerebral em resultado de AVC isquémico. Todas estas situações causam danos gravíssimos, levando a morte das células no cérebro (Jones *et al.*, 2017; Y. Li *et al.*, 2018).

Estudos demonstram que há um envolvimento da piruvato cinase no processo de inflamação mediada pela hexocinase. A ativação da via glicolítica pela hexocinase, sendo esta a primeira enzima limitante do processo, leva ao aumento da piruvato cinase. Haverá com isso, maior produção de acetil-CoA e consequentemente de síntese de lípidos e outros substratos que vão mediar a ativação do sistema imunitário (Y. Li *et al.*, 2018).

O facto da hexocinase ter um papel central no mecanismo de danos celulares no AVC isquémico, é largamente visto como alvo terapêutico para diminuir os efeitos causados por essa situação clínica. Estudos demonstram que a inibição da hexocinase no AVC isquémico previne as células cerebrais dos danos a que poderiam estar sujeitas (Y. Li *et al.*, 2018).

6.3 Via glicolítica e anemias hemolíticas hereditárias

A anemia hemolítica é uma condição clínica em que há diminuição de hemoglobina por aumento de destruição dos eritrócitos de forma prematura. A mesma pode ser adquirida ou hereditária (Ribeiro, 2015). Os indivíduos com esta doença apresentam um quadro clínico caracterizado por cansaço fácil, palidez cutânea, icterícia (olhos amarelados) entre outros sintomas (McPherson e Pincus, 2017).

As anemias hemolíticas hereditárias podem ser causadas por vários fatores, dentre os quais, estão aquelas causadas por deficiência de determinadas enzimas da via glicolítica (Ribeiro, 2015; McPherson e Pincus, 2017).

6.3.1 Anemia hemolítica por deficiência da hexocinase.

É uma doença genética autossômica recessiva rara caracterizada por hemólise grave que se verifica durante toda a vida. Indivíduos com essa patologia podem ainda apresentar outras complicações como atraso no desenvolvimento e atraso mental (Koralkova *et al.*, 2016; Park *et al.*, 2017).

Situações mais graves em que há ausência completa do gene da hexocinase, são incompatíveis com a vida (Koralkova *et al.*, 2016). A deficiência da hexocinase leva a uma redução significativa da glicólise nos eritrócitos. Há uma diminuição considerável dos intermediários da via glicolítica e conseqüentemente a não formação de ATP. Por esta razão, o eritrócito não consegue desenvolver corretamente as suas funções e sofre lise prematura. Uma outra explicação para a sua destruição prematura, é o facto de não haver formação do 2,3-bisfosfoglicerato (ver subcapítulo 3.1). A ausência desta molécula no eritrócito aumenta a afinidade da hemoglobina pelo oxigénio, o que é fisiologicamente incompatível (Koralkova *et al.*, 2016.; Khazal *et al.*, 2016)

6.3.2 Anemia hemolítica por deficiência da piruvato cinase (PK)

É uma doença hereditária autossômica recessiva, causada por mutações no gene da PK (He *et al.*, 2018). Caracteriza-se por hemólises moderadas ou graves e em alguns casos, embora raros, podem apresentar incapacidade funcional grave do fígado (Paganelli, 2018).

Com a deficiência da piruvato cinase nos eritrócitos, há uma acumulação da molécula de 2,3-bisfosfoglicerato devido ao aumento de 1,3-bisfosfoglicerato, diminuindo consideravelmente a afinidade da hemoglobina pelo oxigénio. Esta situação, faz com que exista maior captação dos eritrócitos pelo baço para serem destruídos (Ribeiro, 2015; McPherson e Pincus, 2017).

6.4 Via glicolítica e cancro

Se existir alguma falha nos mecanismos que controlam o ciclo celular, as células poderão crescer de forma descontrolada, tornarem-se malignas, invadindo órgãos e tecidos, e levando

ao surgimento do cancro. Estas células podem espalhar-se por todo o corpo (metástase). Qualquer órgão pode estar sujeito a um processo cancerígeno. A maior parte dos cancros são mais frequentes em indivíduos com idade avançada, mas também podem afetar crianças e jovens. Existem vários tipos de cancros que se desenvolvem das mais variadas formas e por vários motivos. Contudo, eles têm algo em comum: a utilização de glicose (Kasper *et al.*, 2015; Nelson e Cox., 2017; Lieberman e Peet., 2017; Chen *et al.*, 2018).

As células cancerígenas utilizam mais glicose através da via glicolítica que as células normais, mesmo na ausência de oxigénio, esta situação é denominada de efeito de Warburg (Xintaropoulou *et al.*, 2018). Este comportamento das células cancerígenas deve-se ao fato das mesmas necessitarem de mais ATP, e intermediários da via glicolítica para a biossíntese de moléculas indispensáveis para a sua sobrevivência e proliferação. À medida que elas se vão amontoando, as células que se encontram mais abaixo começam a ter menos acesso ao oxigénio para realizar glicólise aeróbia, e assim passam a realizar glicólise anaeróbia (Chen *et al.*, 2018).

Nas células cancerígenas há uma super-expressão das enzimas da via glicolítica bem como dos transportadores de glicose (GLUTs), favorecendo a sua sobrevivência (Wei *et al.*, 2017). Esta estratégia das células cancerígenas tem sido estudada largamente nos últimos anos, abrindo novos horizontes para o combate das mesmas. Várias são as pesquisas feitas em torno da via glicolítica nas células cancerígenas, o que poderá permitir o surgimento de fármacos que possam inibir a via glicolítica através da inibição de suas enzimas. Assim, foi demonstrado que a super-expressão da enzima lactato desidrogenase, em determinados cancros, encontra-se na base da proliferação das células e da falência terapêutica (Chen *et al.*, 2018; Xintaropoulou *et al.*, 2018). Também enzimas como a hexocinase II, piruvato cinase II e a enolase são alvos terapêuticos para o combate ao cancro. A ideia central consiste em inibir a glicólise nestas células, impossibilitando-as de produzirem ATP e intermediários glicolíticos. Desta forma, a sobrevivência das mesmas seria praticamente impossível e a sua proliferação estaria comprometida (Qian *et al.*, 2017; Chen *et al.*, 2018; Xintaropoulou *et al.*, 2018).

Capítulo VII

Conclusões

7. Conclusões

Um melhor entendimento sobre o metabolismo celular permite ter uma visão mais alargada sobre vários aspetos clínicos.

A via glicolítica é uma sequência de dez reações com igual número de enzimas que ocorrem no citosol da célula. O seu principal objetivo é a síntese de ATP que serve para utilização celular. Para além disso, também sintetiza vários precursores importantes que são utilizados em outros processos metabólicos de grande importância para o organismo.

A via glicolítica é das vias metabólicas mais importantes para o organismo, pela sua posição central e relação com quase todos os percursos metabólicos vitais para o organismo humano. É de grande importância para a manutenção da vida, uma vez que proporciona às células e ao organismo de um modo geral, as condições necessárias para o seu funcionamento e desenvolvimento. O seu entendimento mais aprofundado permite estudar e compreender melhor vários processos patológicos no organismo. Deste modo, a Bioquímica fornece subsídios importantes à Medicina permitindo-lhe encontrar novas formas de tratamento para diversas doenças. A relação entre a Bioquímica e a Medicina é muito mais estreita do que parece.

Capítulo VIII

Referências bibliográficas

8. Referências bibliográficas

Adegoke, S. A. *et al.* (2017) 'The Association of Serum 25-Hydroxyvitamin D With Biomarkers of Hemolysis in Pediatric Patients With Sickle Cell Disease.', *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 0(0), pp. 1-4. doi: 10.1097/MPH.0000000000000783.

Ahangarpour, A. *et al.* (2018) 'Evaluation of diabetogenic mechanism of high fat diet in combination with arsenic exposure in male mice', *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 17(1), pp. 164-183. PMID: 29755549

Andrejc, D. e Legiša, M. (2018) 'Kallikrein-related peptidase 6 can cleave human-muscle-type 6-phosphofructo-1-kinase into highly active shorter fragments', *Biochimica et Biophysica Acta-Proteins and Proteomics*, 1866(5-6), pp. 602-607. doi: 10.1016/j.bbapap.2018.03.005.

Ausina, P. *et al.* (2018) 'Insulin specifically regulates expression of liver and muscle phosphofruktokinase isoforms', *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 103(2), pp. 228-233. doi: 10.1016/j.biopha.2018.04.033.

Bai, L. *et al.* (2018) 'Therapeutic Potential of Ginsenosides as an Adjuvant Treatment for Diabetes', *Frontiers in Pharmacology*. 9(3), pp. 1-14. doi: 10.3389/fphar.2018.00423.

Basco, D. *et al.* (2018) 'A-Cell Glucokinase Suppresses Glucose-Regulated Glucagon Secretion', *Nature Communications*. 9(1), pp. 546. doi: 10.1038/s41467-018-03034-0.

Baynes, J. e Dominiczak, M., 2014. *Medical Biochemistry*. 4th ed. New York : Sauderes Elsevier.

Belambr, S. A. *et al.* (2018) 'NADPH oxidase activation in neutrophils: Role of the Phosphorylation of its subunits', *European journal of Clinical Investigation*, pp. 1-30. doi: 10.1002/mnfr.201700389.

Benito, A. *et al.* (2017) 'Glucose-6-phosphate dehydrogenase and transketolase modulate breast cancer cell metabolic reprogramming and correlate with poor patient outcome', *Oncotarget*, 8(63), pp. 106693-106706. doi: 10.18632/oncotarget.21601.

Berg, J. M., *et al.*, 2015. Stryer Biochemistry. 8th ed. New York: W.H. Freeman and company.

Berry, C. *et al.*, (2018) 'Crosstalk Between the Unfolded Protein Response, MicroRNAs, and Insulin Signaling Pathways: In Search of Biomarkers for the Diagnosis and Treatment of Type 2 Diabetes', *Frontiers in Endocrinology*, 9(3), p. 210. doi: 10.3389/fendo.2018.00210.

Bryant, J. D. *et al.* (2018) 'Deletion of the neural tube defect-associated gene *Mthfd1l* disrupts one-carbon and central energy metabolism in mouse embryos', *Journal of Biological Chemistry*, 293(16), pp. 1-22. doi: 10.1074/jbc.RA118.002180.

Castro-correia, C. *et al.* (2018) 'Metabolic risk factors in adolescent girls with type 1 diabetes', *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 3, pp. 1-5. doi: 10.1515/jpem-2018-0053

Chen, S. *et al.* (2018) 'WW domain-binding protein 2 acts as an oncogene by modulating the activity of the glycolytic enzyme ENO1 in glioma article', *Cell Death and Disease*. 9(3), pp. 347. doi: 10.1038/s41419-018-0376-5.

Chen, D. *et al.* (2018) 'MicroRNA-129-5p Regulates Glycolysis and Cell Proliferation by Targeting the Glucose Transporter SLC2A3 in Gastric Cancer Cells', *Frontiers in Pharmacology*. 9(5), pp. 1-10. doi: 10.3389/fphar.2018.00502.

Cohen, S. A. *et al.* (2018) 'Clinical Characteristics of Disaccharidase Deficiencies Among Children Undergoing Upper Endoscopy.', *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 66 (3), pp. S56-S60. doi: 10.1097/MPG.0000000000001961.

Da Silva, S. M. C. e Mura, J. D. P., 2016. Tratado de alimentação, Nutrição e Dietoterapia. 3ª ed. São Paulo- SP: Payá Eireli.

Deal, R. A. *et al.* (2018) 'Understanding intestinal glucose transporter expression in obese compared to non-obese subjects.', *Surgical Endoscopy and Other Interventional Techniques*, 32(4), pp. 1755-1761. doi: 10.1007/s00464-017-5858-5.

Della Guardia, L. *et al.*, (2018) 'Insulin Sensitivity and Glucose Homeostasis Can Be Influenced by Metabolic Acid Load', *Journal of Human Nutrition*, 10(5), pp. 1-17. doi: 10.3390/nu10050618.

Dellepiane, S. *et al.* (2018) 'Sodium glucose cotransporters inhibitors in type 1 diabetes', *Pharmacological Research*, 133(4), pp. 1-8. doi: 10.1016/j.phrs.2018.04.018.

Devlin, T. M., 2010. *Textbook Biochemistry with Clinical Correlations*. 7th ed. New York: Wiley-Liss.

Eissa, N. *et al.* (2018) 'Molecular Characterization of the RNA-Binding Protein Quaking-a in *Megalobrama amblycephala*: Response to High-Carbohydrate Feeding and Glucose/Insulin/Glucagon Treatment. Molecular Characterization of the RNA-Binding Protein Quaking-a in *Megalobrama am*', *Frontiers Physiology*, 9(4), pp. 1-16. doi: 10.3389/fphys.2018.00434.

Forrester, S. J. *et al.* (2018) 'Reactive Oxygen Species in Metabolic and Inflammatory Signaling', *Circulation Research*, 122(6), pp. 877-902. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311401.

Gao, X. *et al.* (2018) 'Serine Availability Influences Mitochondrial Dynamics and Function through Lipid Metabolism', *Cell Reports*. 22(13), pp. 3507-3520. doi: 10.1016/j.celrep.2018.03.017.

Gavriilidou, A. F. M. *et al.* (2018) 'Native Mass Spectrometry Gives Insight into the Allosteric Binding Mechanism of M2 Pyruvate Kinase to Fructose-1,6-Bisphosphate', *Biochemistry*, pp. 5-9. doi: 10.1021/acs.biochem.7b01270.

Guarnotta, V. *et al.* (2018) 'Higher cardiometabolic risk in idiopathic versus autoimmune type 1 diabetes: a retrospective analysis.', *Diabetology e Metabolic Syndrome*. BioMed Central, 10, p. 40. doi: 10.1186/s13098-018-0341-6.

He, Y. *et al.* (2018) 'A novel PKLR gene mutation identified using advanced molecular techniques', *Pediatric Transplantation*, 22(2). doi: 10.1111/petr.13143.

Holst, J. J. *et al.* (2018) 'Mechanisms in bariatric surgery: Gut hormones, diabetes resolution, and weight loss', *Surgery for Obesity and Related Diseases*. 14(5), pp. 708-714. doi: 10.1016/j.soard.2018.03.003.

Hong, J.-M. e Lee, S.-M. (2018) 'Heme oxygenase-1 protects liver against ischemia/reperfusion injury via phosphoglycerate mutase family member 5-mediated mitochondrial quality control', *Life Sciences*. 200(2), pp. 94-104. doi: 10.1016/j.lfs.2018.03.017.

Karnad, D. R. *et al.* (2018) 'Intensive care in severe malaria: Report from the task force on tropical diseases by the World Federation of Societies of Intensive and Critical Care Medicine', *Journal of Critical Care*. 43, pp. 356-360. doi: 10.1016/j.jcrc.2017.11.007.

Kasper, D. L. *et al.*, 2015. *Harrison'S Principles of Internal Medicine*. 19th ed. New York: McGraw-Hill Education.

Kawamori, D. *et al.* (2018) 'Dysregulated Plasma Glucagon Levels in Japanese Young-adult Type 1 Diabetes Patients.', *Journal of Diabetes Investigation*, pp. 0-2. doi: 10.1111/jdi.12862.

Khazal, S. *et al.* (2016) 'Allogeneic bone marrow transplantation for treatment of severe hemolytic anemia attributable to hexokinase deficiency', *Blood*, 128(5), pp. 735-737. doi: 10.1182/blood-2016-03-702860.

Knop, F. K. (2018) 'Eje prize 2018 A gut feeling about glucagon', *European Journal of Endocrinology*, 178(6), pp. 267-280. doi: 10.1530/EJE-18-0197

Koralkova, P. *et al.* (2016) 'Molecular characterization of six new cases of red blood cell hexokinase deficiency yields four novel mutations in HK1', *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 59, pp. 71-76. doi: 10.1016/J.BCMD.2016.04.002.

Lawitz, E. J. *et al.* (2018) Acetyl-CoA Carboxylase Inhibitor GS-0976 for 12 Weeks Reduces Hepatic De Novo Lipogenesis and Steatosis in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis,

Clinical Gastroenterology and Hepatology. The American Gastroenterological Association, pp. 1542-3565. doi: 10.1016/j.cgh.2018.04.042.

Lee, J.-H. *et al.* (2018) 'EGFR-Phosphorylated Platelet Isoform of Phosphofructokinase 1 Promotes PI3K Activation', *Molecular Cell.*, 70(2), pp. 197-210. doi: 10.1016/J.MOLCEL.2018.03.018.

Li, D. *et al.* (2017) 'Lactic Dehydrogenase in the In Vitro Evaluation of Hemolytic Properties of Ventricular Assist Device', *Artificial Organs*, 41(11), pp. 274-284. doi: 10.1111/aor.12943.

Li, F. *et al.* (2018) 'Acetylation accumulates PFKFB3 in cytoplasm to promote glycolysis and protects cells from cisplatin-induced apoptosis', *Nature Communications* , 9, pp. 508. doi: 10.1038/s41467-018-02950-5.

Li, X. *et al.* (2018) 'Genetic and clinical characteristics of Chinese children with Glucokinase-maturity-onset diabetes of the young (GCK-MODY)', *BMC Pediatrics*, 18(1), pp. 1-8. doi: 10.1186/s12887-018-1060-8.

Li, Y. *et al.* (2018) 'Hexokinase 2-dependent hyperglycolysis driving microglial activation contributes to ischemic brain injury', *Journal of Neurochemistry*, 144(2), pp. 186-200. doi: 10.1111/jnc.14267.

Lieberman, M. e Peet, A., 2017. Marks' Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach. 5th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer.

Lier, H., *et al.*, (2018) 'Hypovolämisch-hämorrhagischer Schock', *Anaesthesist*, 67(3), pp. 225-244. doi: 10.1007/s00101-018-0411-z.

Liu, J. *et al.* (2018) 'Effect of GAPDS overexpression on high glucose-induced oxidative damage', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, pp. 3-7. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.04.027.

Lu, B., *et al.* (2018) 'The two major glucokinase isoforms show conserved functionality in β -cells despite different subcellular distribution.', *Biological Chemistry*, 399(6), pp. 565-576. doi: 10.1515/hsz-2018-0109.

Navas *et al.*, (2013) 'Functional analysis of MODY2 mutations in the nuclear export signal of glucokinase', *Diabetologia*. 56(3), pp. S143-S144. doi: 10.1016/j.bbadis.2018.04.020.

Ma, M. *et al.* (2018) 'Bidirectional modulation of insulin action by reactive oxygen species in 3T3 - L1 adipocytes', *Molecular Medicine Reports*, pp. 1-8. doi: 10.3892/mmr.2018.9016.

Machado, A. T. P. *at al.* (2018) 'Structural studies of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from *Naegleria gruberi*, the first one from phylum Percolozoa', *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*. 1866(5-6), pp. 581-588. doi: 10.1016/j.bbapap.2018.02.006.

Mali, A. V. *et al.* (2017) 'Altered Kinetics Properties of Erythrocyte Lactate Dehydrogenase in Type II Diabetic Patients and Its Implications for Lactic Acidosis', *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. pp. 1-8. doi: 10.1007/s12291-017-0637-6.

Mateus, M. S., *et al.* 2012. Faculdade de Medicina Universidade Agostinho Neto Guia Informativo Curso 2010. Luanda: Mayamba.

McPherson, R. A. e Pincus, M. R., 2017. *Henry's Clinical Diagnosis AND Management BY Laboratory Methods*. 23 ed. New York: Elsevier Inc.

Meisenberg, G. e Simmons, W., 2016. *Principles of Medical Biochemistry*. 4th ed. New York.:Elsevier.

Mele, L. *et al.* (2018) 'A new inhibitor of glucose-6-phosphate dehydrogenase blocks pentose phosphate pathway and suppresses malignant proliferation and metastasis in vivo', *Cell Death and Disease*.149(5):. pp 572. doi: 10.1038/s41419-018-0635-5.

Miki, A. *et al.* (2018) 'Divergent antioxidant capacity of human islet cell subsets: A potential cause of beta-cell vulnerability in diabetes and islet transplantation', 13(5), p. 0196570. doi: 10.1371/journal.pone.0196570.

Moreno, S. A. e Cantos, G. V. (2018) 'The kinetic properties of hexokinases in African trypanosomes of the subgenus *Trypanozoon* match the blood glucose levels of mammal hosts', *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 217, pp. 51-59. doi: 10.1016/J.CBPB.2017.12.014.

Nelson, D. L. e Cox, M. M., 2017. *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th ed. New York: W. H. Freeman and company.

Nichols, B. L., Baker, S. S. and Quezada-calvillo, R. (2018) 'Metabolic Impacts of Maltase Deficiencies', *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 66(6), pp. 24-29. doi: 10.1097/MPG.0000000000001955.

Ning, X. *et al.* (2018) 'Synthesis and antitumor activity of novel 2, 3-dithiocarbamate substituted naphthoquinones as inhibitors of pyruvate kinase M2 isoform', *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 33(1), pp. 126-129. doi: 10.1080/14756366.2017.1404591.

Paganelli, M. (2018) 'Successful Liver Transplants for Liver Failure Associated With Pyruvate Kinase Deficiency', *Journal of the American Academy of Pediatrics*, 141(4). pp.S385-S389 doi: 10.1542/peds.2016-3896

Park, C. M. *et al.* (2017) 'Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry-based multiplex enzyme assay for six enzymes associated with hereditary hemolytic anemia', *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 1060(3), pp. 76-83. doi: 10.1016/j.jchromb.2017.05.040.

Puri, B. K. e Monro, J. A. (2018) 'The relationship between plasma vascular endothelial growth factor and erythrocyte 2,3-bisphosphoglycerate: The putative role of chronic hypoxia', *Medical Hypotheses*. 112, pp. 60-62. doi: 10.1016/j.mehy.2018.01.014.

Quintas , A., *et al.* 2008. Bioquímica Organização Molecular da Vida. Porto: LIDEL.

Ribeiro, I. S., 2015. Hematologia Da Prática Clínica à Teoria. Lisboa : LIDEL.

Röder, P. V. *et al.* (2014) 'The role of SGLT1 and GLUT2 in intestinal glucose transport and sensing', *Plos One* , 9(2), pp. 20-22. doi: 10.1371/journal.pone.0089977.

Rodwell, V. W. *et al.*, 2015. Harper's Illustrated Biochemistry. 30th ed. New York. s.l.:McGraw-Hill Education / Medical.

Rozenberg, K. e Rosenzweig, T. (2018) 'Sarcopoterium spinosum extract improved insulin sensitivity in mice models of glucose intolerance and diabetes', *Plos One*. pp. 1-20. doi: 10.1371/journal.pone.0196736

Sala-rabanal, M. *et al.* (2018) 'Intestinal absorption of glucose in mice as determined by positron emission tomography', *The Journal of Physiology*, pp. 1-33. doi: 10.1113/JP275934.

Seng Tee, S. *et al.* (2017) 'PKM2 activation sensitizes cancer cells to growth inhibition by 2-deoxy-D-glucose', *Oncotarget*, 8(53), pp. 90959-90968. doi: 10.18632/oncotarget.19630.

Serimbetov, Z. *et al.* (2017) '1H, 15N, 13C backbone resonance assignments of human phosphoglycerate kinase in a transition state analogue complex with ADP, 3-phosphoglycerate and magnesium trifluoride', *Biomolecular NMR Assignments*, 11(2), pp. 251-256. doi: 10.1007/s12104-017-9758-3.

Shanmugasundaram (2018) 'Evolution of GAPDH as a druggable target of tumor glycolysis?', *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. 22(4), pp. 295-298. doi: 10.1080/14728222.2018.1449834.

Shuib, S. *et al.* (2018) 'First evidence for a multienzyme complex of lipid biosynthesis pathway enzymes in *Cunninghamella bainieri*', *Scientific Reports*. 8(1), pp. 1-10. doi: 10.1038/s41598-018-21452-4.

Šimunović, M. *et al.* (2018) 'Cataract as Early Ocular Complication in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes Mellitus', *International Journal of Endocrinology*, pp. 1-6. doi: 10.1155/2018/6763586.

Song, X. *et al.* (2018) 'Hepatic glucose metabolic responses to digestible dietary carbohydrates in two isogenic lines of rainbow trout', *Nutrition Metabolism and Aquaculture*. 5(6), pp. 032896. doi: 10.1242/bio.032896.

Tästensen, J.-B. e Schönheit, P. (2018) 'Two distinct glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenases in glycolysis and gluconeogenesis in the archaeon *Haloferax volcanii*', *Febs Press*, 592(9), pp. 1-11. doi: 10.1002/1873-3468.13037.

Thuillier, P. *et al.* (2018) 'Comparison between preprandial versus postprandial insulin aspart administration in patients with Type 1 Diabetes benefiting from insulin pump and Real-Time Continuous Glucose Monitoring', *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 33(0), p. 3019. doi: 10.1002/dmrr.3019.

Thurnheer, T. e Belibasakis, G. N. (2018) 'Effect of sodium fluoride on oral biofilm microbiota and enamel demineralization', *Archives of Oral Biology*, 89, pp. 77-83. doi: 10.1016/j.archoralbio.2018.02.010.

Villafray, O. *et al.* (2018) 'Molecular and biochemical characterization of natural and recombinant phosphoglycerate kinase B from *Trypanosoma rangeli*', *Experimental Parasitology*, 187, pp. 42-48. doi: 10.1016/j.exppara.2018.03.009.

Wang, M. O. *et al.* (2016) 'Evaluating 3D-Printed Biomaterials as Scaffolds for Vascularized Bone Tissue Engineering', *Advanced Materials*, 27(1), pp. 138-144. doi: 10.1002/adma.201403943.Evaluating.

Wang, P. *et al.* (2018) 'Type 2 Diabetes Promotes Cell Centrosome Amplification via AKT-ROS-Dependent Signalling of ROCK1 and 14-3-3 σ ', *Cellular Physiology and Biochemistry*, (86), pp. 356-367. doi: 10.1159/000489812.

Watanabe, H. *et al.* (2018) 'Sirt2 facilitates hepatic glucose uptake by deacetylating glucokinase regulatory protein', *Nature Communications*. 9(1), pp. 1-14. doi: 10.1038/s41467-017-02537-6.

Wei, C. *et al.* (2017) 'Development of GLUT4-selective antagonists for multiple myeloma therapy', *European Journal of Medicinal Chemistry*. 139, pp. 573-586. doi: 10.1016/j.ejmech.2017.08.029.

Xintaropoulou, C. *et al.* (2018) 'Expression of glycolytic enzymes in ovarian cancers and evaluation of the glycolytic pathway as a strategy for ovarian cancer treatment'. *BMC Cancer*, pp. 1-15. doi: 10.1186/s12885-018-4521-4

Xue, J. *et al.* (2017) 'Glucose-6-phosphate dehydrogenase as a target for highly efficient fatty acid biosynthesis in microalgae by enhancing NADPH supply', *Metabolic Engineering*. pp. 212-221. doi: 10.1016/j.ymben.2017.04.008.

Yuan, M. *et al.* (2018) 'An allostatic mechanism for M2 pyruvate kinase as an amino - acid sensor', *Biochemical Journal*, 475(10), pp. 1821-1837. doi: 10.1042/BCJ20180171.

Zhang, L., Wang, H. e Dong, X. (2017) 'Diagnostic value of α -enolase expression and serum α -enolase autoantibody levels in lung cancer', *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, 44(1), pp. 18-23. doi: 10.1590/S1806-37562016000000241.

Zhang, N. *et al.* (2018) 'Elevated hepatic expression of H19 long noncoding RNA contributes to diabetic hyperglycemia', *journal by the American Society for Clinical Investigation*, 3(10), pp. 120304. doi: 10.1172/jci.insight.120304.

Zhang, S. *et al.* (2018) 'Molecular and biochemical characterization of *Taenia solium* α -enolase', *Veterinary Parasitology*. pp. 36-42. doi: 10.1016/j.vetpar.2018.02.041.

Zhang, Y. *et al.* (2018) 'CFTR prevents neuronal apoptosis following cerebral ischemia reperfusion via regulating mitochondrial oxidative stress', *Journal of Molecular Medicine*. pp. 1432-1440 doi: 10.1007/s00109-018-1649-2.

Zununi, S., Moghaddas, H. and Rahbar, Y. (2018) 'Biomedicine & Pharmacotherapy Type 1 diabetes: Through the lens of human genome and metagenome interplay', *Biomedicine e Pharmacotherapy*. pp. 332-342. doi: 10.1016/j.biopha.2018.05.052.

8.1 Cibergrafia

www.betacell.org/2004 [Acedido em 24 Maio 2018].

www.enfermagemnovidade.com.br/2016 [Acedido em 24 Maio 2018].