

- 1) O que é fixação do nitrogênio? Quais organismos na terra são capazes de fixar o nitrogênio? Como os animais, de forma geral, incluindo o homem, obtém o nitrogênio para sintetizar seus compostos nitrogenados? E as plantas?

A maioria dos organismos não consegue utilizar o nitrogênio atmosférico, disponível na forma molecular N_2 (gasosa). Porém, alguns organismos realizam o processo de fixação do nitrogênio, no qual o N_2 é incorporado à outra molécula orgânica, formando outro composto (como amônia, por exemplo) e permitindo a absorção de outros organismos como plantas. Esse processo é realizado principalmente por bactérias fixadoras, como bactérias do gênero *Rhizobium*. O nitrogênio é absorvido pelos animais a partir da ingestão de plantas e outros animais. As plantas absorvem o nitrogênio a partir do nitrogênio fixado no solo em forma de nitrato, produzido durante o processo de fixação feita pelas bactérias fixadoras.

- 2) O que são aminoácidos essenciais para o ser humano? (E quais são eles?) Classifique os aminoácidos não-essenciais de acordo com sua via de síntese, indicando os principais precursores de cada um deles.

Aminoácidos essenciais são aqueles que não são sintetizados pelos seres humanos, logo é necessária a obtenção via alimentação. Os aminoácidos essenciais são: isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina. Os aminoácidos não essenciais são agrupados em 6 famílias biossintéticas, definidas a partir de seus precursores.

Alfa-cetogluturato

- Glutamato
- Glutamina
- Prolina
- Arginina

Piruvato

- Alanina
- Valina
- Leucina
- Isoleucina

3-fosfoglicerato

- Serina
- Glicina
- Cisteína

Fosfoenolpiruvato e eritrose-4-fosfato

- Triptofano
- Fenilalanina
- Tirosina

Oxaloacetato

- Aspartato
- Asparagina
- Metionina
- Treonina
- Lisina

Ribose-5-fosfato

- Histidina

- 3) Todos os aminoácidos são encontrados circulando normalmente no sangue, porém, a alanina e a glutamina são encontradas em altas concentrações. Explique o porquê desta afirmação.

Devido a sua toxicidade, o NH_4^+ produzido pelos tecidos precisa ser incorporado a compostos não tóxicos e então transportado para o fígado para serem convertidos a uréia que posteriormente será excretada. Esses compostos intermediários são os próprios aminoácidos, sendo que os principais aminoácidos transportadores são alanina e glutamina. Esses, são produtos comuns das reações de transaminação. A glutamina é formada a partir da incorporação de NH_4^+ ao glutamato e a Alanina a partir da doação de um grupo amino de algum aminoácido para o Piruvato.

- 4) Animais em geral não possuem reservas na forma de proteínas ou qualquer outra macromolécula nitrogenada. Explique o porquê desta afirmação. Quais as consequências desse fato para o balanço de nitrogênio nesses organismos em condições de alimentação abundante e de jejum acentuado?

Os animais em geral não são capazes de armazenar moléculas nitrogenadas, como proteínas e aminoácidos. Somado a esse fato, temos que a meia-vida das proteínas dos organismos é relativamente curta, sendo que há uma renovação de cerca de 400g de proteínas por dia. Ou seja, é necessário que ocorra uma ingestão de proteínas mínima para que ocorra reposição adequada para manter os níveis proteicos. Em caso de escassez, como no jejum acentuado, com o tempo ocorrerá degradação de proteínas endógenas (como proteína dos músculos) como forma de manter os níveis adequados para os tecidos prioritários e isso pode acabar sendo bastante prejudicial para o organismo, ainda mais se mantido em durações muito prolongadas. Em situações de alimentação abundante, devido ao fato de não haver estocagem de proteínas, o organismo irá absorver a quantidade necessária para suprir todos os tecidos e irá excretar o excedente em forma de uréia.

- 5) Esquematizar as reações catalisadas pelas seguintes enzimas: aspartato aminotransferase (transaminase glutâmico-oxaloacético ou TGO) e alanina aminotransferase (transaminase glutâmico-pirúvico ou TGP). Citar a coenzima que participa das reações e a vitamina presente na sua estrutura.

Aspartato + alfa-cetoglutarato \rightleftharpoons Piruvato + Glutamato

Alanina + alfa-cetoglutarato \rightleftharpoons Oxaloacetato + Glutamato

Essas transaminases que catalisam essas reações têm como coenzima a piridoxal-fosfato que é derivada da vitamina B6.

- 6) Qual a função do ciclo da uréia na homeostase dos organismos? Como se dá a regulação do ciclo da uréia?

A principal função do ciclo da uréia é regular os níveis de nitrogênio no corpo a partir da remoção de amônia (tóxica ao organismo), que é convertida à uréia e posteriormente excretada.

O ciclo da uréia é regulado via regulação alostérica positiva da enzima carbamoil-fosfato sintetase I feita pelo N-acetilglutamato, que é um composto produzido a partir de Acetil-CoA e glutamato. O N-acetilglutamato tem sua formação estimulada por Arginina. Logo, se a produção de uréia não está ocorrendo em velocidade adequada, irá ocorrer o acúmulo de intermediários do ciclo da uréia, dentre eles, a Arginina. Esse acúmulo irá gerar o aumento de N-acetilglutamato que irá estimular a carbamoil-fosfato sintetase I, aumentando a atividade do ciclo.

- 7) Quais as consequências metabólicas e fisiopatológicas para um indivíduo que não produz a enzima: (a) N-acetil glutamato sintase; (2) ornitina transcarbamoilase e (3) arginase? Qual o tratamento e recomendação nutricional para estes indivíduos, em cada um dos casos?
- a) A N-acetil glutamato sintase é a enzima que forma N-acetilglutamato, regulador alostérico positivo da carbamoil-fosfato sintetase I. Se um indivíduo apresentar problemas nessa enzima, a atividade do ciclo da uréia ficará prejudicada, principalmente em situações de demanda alta por excreção, o que poderá levar a um acúmulo de NH_4^+ , que é tóxica. Neste caso, uma abordagem de tratamento seria a restrição da ingestão de proteínas, de forma a controlar a carga de nitrogênio no organismo. Suplementação com Citrulina e Arginina também pode ser efetiva no estímulo da síntese de uréia. Também podem usar medicamentos que ajudam na eliminação de amônia.
- b) A Ornitina transcarbamoilase é a enzima responsável por catalisar a reação entre Ornitina e Carbamoil-fosfato para formação de citrulina. Essa é uma das reações principais do ciclo, pois é a partir dela que ocorre a entrada de um dos dois nitrogênios que compõe a uréia. Na ausência dessa enzima, o ciclo não irá ocorrer e isso gerará um acúmulo de NH_4^+ . O tratamento, nesse caso, seria semelhante ao do item anterior.
- c) A Arginase é a enzima que catalisa a conversão de Arginina à Ornitina, com a eliminação de Uréia, sendo um dos passos finais do ciclo da Uréia. A deficiência nessa enzima irá gerar acúmulo de Arginina, gerando uma condição conhecida como hiperargininemia. Neste caso, seria necessária uma dieta com restrição de arginina.

Questão extra

Observando o ciclo da uréia e considerando sua conexão com o ciclo de Krebs, responda:

- a) Qual é o saldo final de ATP, após uma volta no ciclo?
- b) Quais são os intermediários regenerados durante o ciclo? Quais compostos entram no ciclo e quais são os produtos formados?
- c) Qual o destino dos produtos formados?
- d) Indicar a procedência dos átomos de nitrogênio da uréia