

1. Aminoácidos e Proteínas

As proteínas são as moléculas orgânicas mais abundantes nas células e correspondem a cerca de 50% ou mais de seu peso seco. São encontradas em todas as partes de todas as células, tendo funções fundamentais na lógica celular. Em virtude desta importância qualitativa e quantitativa, as proteínas têm sido largamente estudadas e seus segredos desvendados, no que diz respeito à sua síntese ou aproveitamento metabólico.

Os α -aminoácidos encontrados em peptídeos e proteínas consistem de um grupo funcional **ácido carboxílico** (-COOH), um grupo **amino** (-NH₂) e um **hidrogênio** (-H) ligados ao átomo de carbono- α . **Grupos-R** (cadeia lateral) distintos, também estão associados ao carbono-alfa, desta forma, o carbono- α encontrado nos aminoácidos é **tetraédrico** ou **assimétrico** (exceto no caso da glicina onde o grupo-R é o hidrogênio). Um aminoácido difere de outro justamente pelo grupo-R (cadeia lateral).

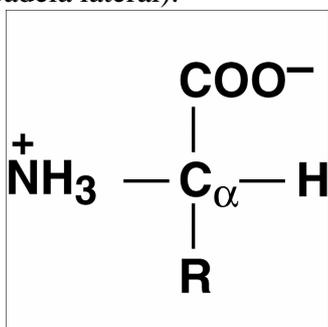


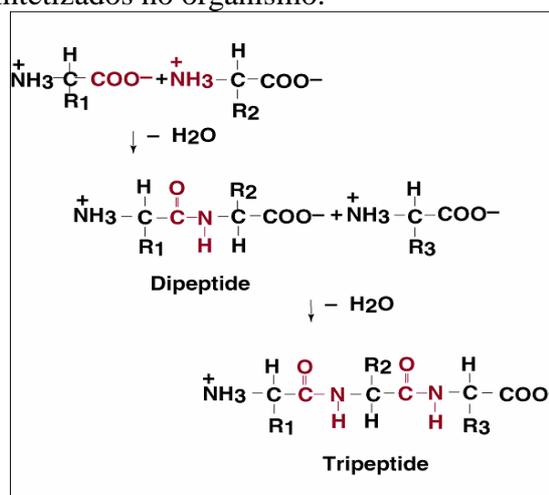
Figura 1-1: Representação da estrutura geral dos aminoácidos em pH neutro.

As proteínas são macromoléculas de alto peso molecular, polímeros de compostos orgânicos simples, os α -aminoácidos. Nas moléculas protéicas os aminoácidos se ligam covalentemente, formando longas cadeias não ramificadas, através de **ligações peptídicas** envolvendo o radical **amino** (-NH₂) de um aminoácido e o radical **ácido carboxílico** (-COOH) de um outro, havendo a liberação de uma molécula de água durante a reação (Figura 1-2).

A união entre dois aminoácidos, forma um **dipeptídeo**, assim como três unem-se formando um **tripeptídeo** e assim sucessivamente, sendo que a união de vários aminoácidos irá dar origem a uma cadeia **polipeptídica**.

São conhecidos 20 aminoácidos (Alanina, Arginina, Aspartato, Asparagina, Cisteína, Fenilalanina, Glicina, Glutamato, Glutamina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Prolina, Serina, Tirosina, Treonina, Triptofano e Valina) encontrados nas moléculas de proteínas, com sua síntese controlada por mecanismos genéticos, envolvendo a replicação do DNA e transcrição do RNA.

A metade dos aminoácidos é sintetizada pelo organismo e vai suprir as necessidades celulares; aqueles que não são sintetizados precisam estar presentes na dieta e são chamados de **aminoácidos essenciais** e os **aminoácidos não-essenciais** aqueles que são sintetizados no organismo.



Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.

Figura 1-2: A ligação peptídica ocorre entre o grupamento -COOH de um aminoácido com o grupamento -NH₂ de outro. O primeiro aminoácido da cadeia peptídica é aquele que possui o grupamento amino-terminal e o último, o que possui o livre o grupamento carboxila-terminal. O grupamento R sempre ocupa posição oposta ao próximo, devido ao C α ser assimétrico, o que vai contribuir para a forma tridimensional da proteína.

Esta grande variabilidade proporciona arranjos incontáveis entre as cadeias peptídicas em sua estrutura tridimensional bem como na função da proteína, uma vez que os diferentes aminoácidos possuem diferentes propriedades químicas que, em conjunto, serão responsáveis pela função da proteína.

O estudo da **composição e polaridade** do grupamento R permite agrupar os aminoácidos em **quatro classes distintas**:

a) Aminoácidos com grupamento R apolar ou hidrofóbico: são os menos solúveis, devido à ausência de grupamentos hidrofílicos no grupamento R. São eles:

- **Cadeia alifática hidrocarbonada:** alanina, leucina, isoleucina, valina e prolina;
- **Anel aromático:** fenilalanina e triptofano;
- **Tioéter:** metionina.
- **Hidrogênio:** glicina.

A alanina representa o aminoácido mais solúvel deste grupo e a prolina é, na realidade, um **iminoácido** onde o grupamento R é um substituinte do aminogrupamento.

A glicina é o aminoácido mais simples em virtude de possuir como R apenas um átomo de hidrogênio (apolar), sendo também o único aminoácido que não possui carbono assimétrico. Algumas vezes é classificado como polar, pois o grupamento funcional lhe confere certa solubilidade.

b) Aminoácidos com grupamento R polar não-carregado: possuem grupamentos hidrofílicos na cadeia carbonada que não se ionizam, porém conferem maior solubilidade ao aminoácido. São eles:

- **Hidroxila:** serina, treonina e tirosina;
- **Grupo Amida:** asparagina e glutamina;
- **Sulfidril ou Tiol:** cisteína;

A cisteína e a tirosina tem os grupamentos R mais polares, sendo portanto os mais solúveis desta classe. A cisteína, freqüentemente, ocorre nas proteínas em sua forma oxidada, a **cistina**, na qual a sulfidril (-SH) estão unidas formando **pontes dissulfeto** (S-S) que são ligações covalentes importantes na estabilização da molécula protéica.

A asparagina e a glutamina são amidas do ácido aspártico e do ácido glutâmico, respectivamente.

c) Aminoácidos com grupamento R polar carregado positivamente (básicos):

Lisina, arginina e histidina; todos possuem grupamento R de 6 carbonos e a carga positiva localiza-se em um átomo de nitrogênio do R.

d) Aminoácidos com grupamento R polar carregado negativamente (ácidos):

Ácido aspártico e ácido glutâmico. São citados como aspartato e glutamato em virtude de se ionizarem em pH fisiológico adquirindo carga negativa no grupamento carboxila (-COO-).

Na Figura 1-3 estão representados todos os aminoácidos.

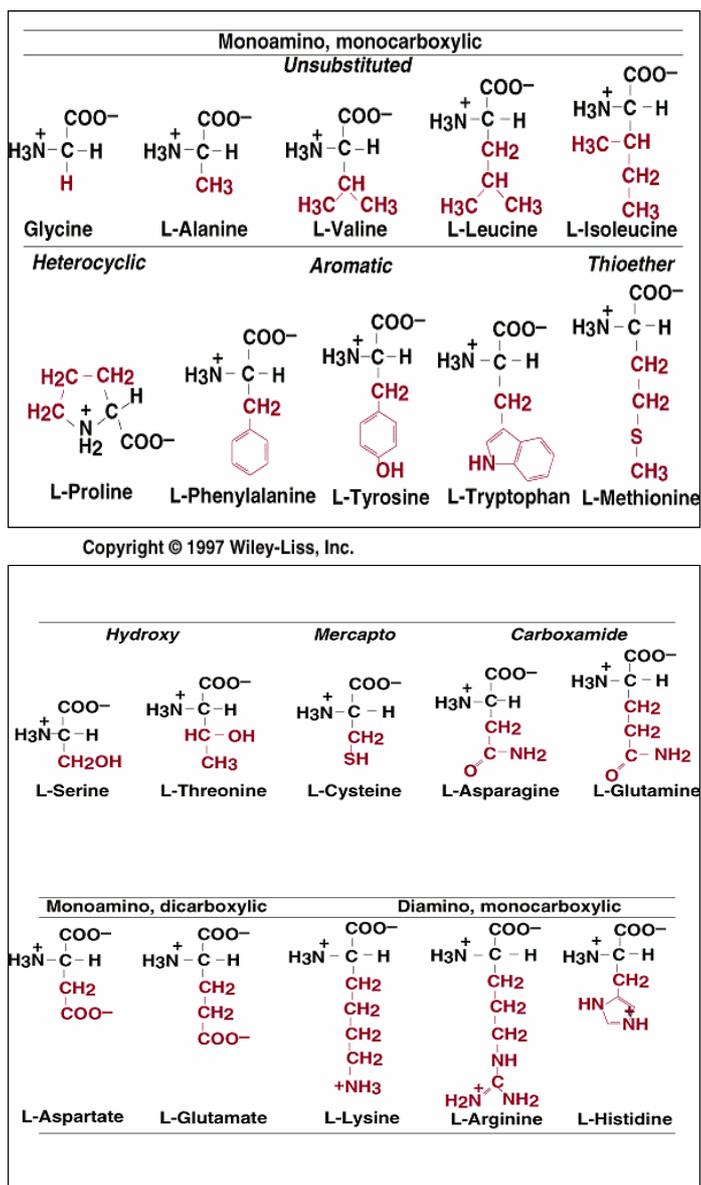


Figura 1-3: A estrutura geral dos aminoácidos está em preto e os grupos-R (cadeia lateral) estão em vermelho.

Propriedades ácido-básicas dos aminoácidos

Os grupamentos amino e ácido, encontram-se na forma ionizada quando em solução.

Dependendo do pH, o grupamento amino com carga positiva (forma catiônica) ou o grupamento ácido carboxílico com carga negativa (forma aniônica), podem predominar. Porém, em determinado pH (**pH isoeletrico ou Ponto isoeletrico**), haverá somente uma forma dipolar (ou seja, positiva e negativa ao mesmo tempo), onde será observada uma neutralidade elétrica na molécula.

Estes íons dipolares, são também chamados de **zwitterions** (expressão alemã que ao pé da letra significaria algo como "íons hermafroditas"), predominam no ponto isoeletrico (pHi). A forma catiônica predominará em pH abaixo do pHi, enquanto que a forma aniônica predominará em pH acima do pHi, uma vez que abaixo ou acima do pHi haverá deficiência ou excesso de H⁺ na solução, respectivamente, o que varia a carga elétrica pois o grupamento COO⁻ receberá H⁺ e o NH₃⁺ doará ser H⁺.

O valor do pHi varia de acordo com o aminoácido e corresponde a um valor que serve como identificador e classificador dos aminoácidos de acordo com a variação do pH.

Os valores de pK1 e pK2 correspondem aos valores de pH onde o aminoácido funciona como um tampão durante uma curva de titulação.

Para melhor entender esses conceitos, considere que se realizássemos uma titulação de um ácido por uma base, teríamos, inicialmente, um pH ácido que iria aumentando proporcionalmente ao acréscimo de base (Figura 1-4).

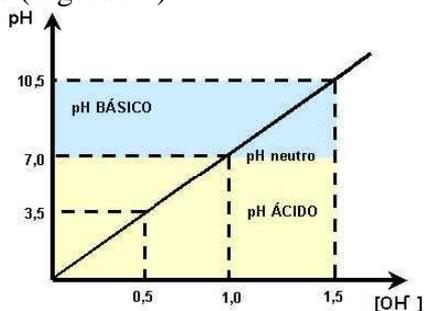


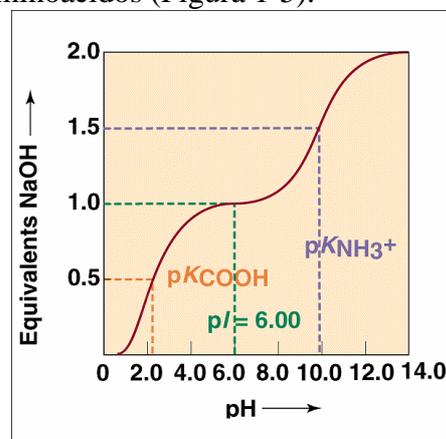
Figura 1-4 - Em uma titulação convencional de um ácido por uma base, a adição de base modifica o pH ácido original para básico passando pelo pH neutro 7,0.

Esse aumento proporcional no valor do pH se dá porque cada molécula de base adicionada neutraliza uma de ácido (formando água e o sal correspondente) até o valor de equivalência entre a quantidade de bases e ácidos, onde o pH é neutro (pH=7,0). É um valor ténue, pois qualquer quantidade de base adicionada a mais eleva o pH para a faixa alcalina.

No entanto, se esta mesma titulação fosse realizada com a adição de um aminoácido no meio a ser titulado, um gráfico representando a elevação do pH demonstraria duas zonas de estabilização (uma em pH ácido e outra em pH básico) indicando que há duas zonas de equilíbrio químico, onde não há a variação do pH mesmo com a adição da base no meio ácido (Figura 1-5). Essas regiões demonstram que os aminoácidos são responsáveis por uma **função tamponante** (evitam variações bruscas de pH).

Como a forma dipolar é a que ocorre no pHi, toda vez que o pH cai abaixo do valor do pHi (acidificação do meio), o aminoácido recebe o H⁺ adicionado através da extremidade COO⁻ tornando-se um **cátion**. Quando o pH eleva-se acima do valor do pHi (alcalinização do meio), o aminoácido torna-se um **ânion** devido à doação do H⁺ pelo grupamento NH₃⁺ (Figura 1-6).

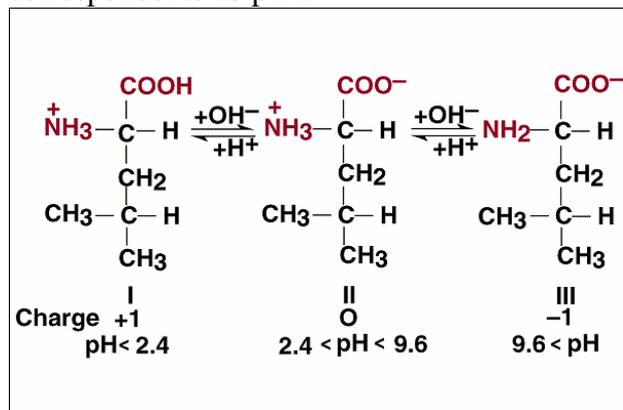
Se relacionarmos em um gráfico o pH em função dos equivalentes de uma base adicionada a uma solução ácida de um aminoácido, observaremos os pontos fundamentais no comportamento ácido-básico dos aminoácidos (Figura 1-5).



Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.

Figura 1-5 - A curva de titulação da glicina. O pHi (somente formas dipolar isoeletricas) corresponde à média entre os valores de pK1 ([dipolar] = [catiônica]) e pK2 ([dipolar] = [aniônica]).

No início da titulação, teoricamente, só existe a forma catiônica em virtude de o aminoácido funcionar como um receptor de prótons, ou seja, como uma base. Ao adicionar uma base (OH⁻) ao sistema, começa a haver a neutralização com o aparecimento da forma dipolar até um determinado ponto em haverá igualdade de concentração entre as duas formas, entrando o sistema em equilíbrio, correspondente ao pK1.



Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.

Figura 1-6 - As três formas carregadas dos aminoácidos. A forma dipolar corresponde àquela que contém um pólo positivo em NH_3^+ e outro negativo em COO^- (a carga final é neutra) e corresponde à única forma existente no pHi. A forma catiônica está presente em qualquer valor de pH abaixo do pHi, enquanto que a aniônica é típica do aumento do valor do pH acima do valor do pHi.

Prosseguindo a titulação, com o aumento do pH em virtude do aumento gradual da concentração de base, começará a predominar a forma dipolar com a queda proporcional da forma catiônica até um ponto onde só haverá a forma dipolar. Neste ponto, o pH corresponderá ao pH isoeletrico (pHi) onde o sistema se apresentará eletricamente neutro.

Ao se adicionar mais base, há o aparecimento da forma aniônica até um determinado ponto em que haverá igualdade na concentração entre a forma dipolar e a aniônica, entrando o sistema, novamente, em equilíbrio agora entre a forma dipolar e a forma aniônica, correspondente ao pK2.

Adicionando mais base, haverá a predominância da forma aniônica até o pH 14 onde, teoricamente, só haverá a forma catiônica.

Alguns aminoácidos apresentam um terceiro platô de estabilidade em sua curva de titulação (pK3) que correspondente a um terceiro momento de equilíbrio durante a

titulação, induzido pelo grupamento R (o pK3 é frequentemente denominado de pKR).

Essas informações acerca da propriedade ácido-básica dos aminoácidos são fundamentais para a compreensão da função das proteínas como um tampão intracelular e, também, dos métodos de identificação dos aminoácidos e de separação das proteínas que se baseiam na capacidade de aminoácidos e proteínas mudarem de carga elétrica de acordo com o pH do meio.

Estrutura das proteínas

Devido à característica **anfótera** dos aminoácidos (podem ser cátions ou ânions) e a capacidade de modificação da carga elétrica do grupamento R observada em vários aminoácidos as proteínas terão conformação estrutural bastante diversificada uma vez que os aminoácidos se relacionarão entre si de maneira variada.

A flexibilidade dada pelo $\text{C}\alpha$ é devido ao fato de ele ser assimétrico (ligado a quatro grupos diferentes: NH_3^+ , COO^- , H e R) o que lhe garante livre rotação em seu eixo.

Esta flexibilidade da molécula protéica dada pelo $\text{C}\alpha$, confere uma grande versatilidade à proteína, o que faz de sua estrutura tridimensional o ponto chave para sua função.

Entretanto, esta flexibilidade é limitada pela existência de interações químicas entre as cadeias peptídicas e entre os grupamentos R dos resíduos de aminoácidos, seja intermolecular ou com outros compostos químicos alheios à composição original da proteína.

Cada tipo de proteína possui uma configuração tridimensional peculiar que é determinada pela seqüência de aminoácidos e pelo grau de inclinação entre as ligações químicas (proporcionada pelos arranjos intermoleculares). A estrutura molecular das proteínas é muito complexa, por essa razão é conveniente dividi-la em níveis distintos de organização, veja a seguinte figura.

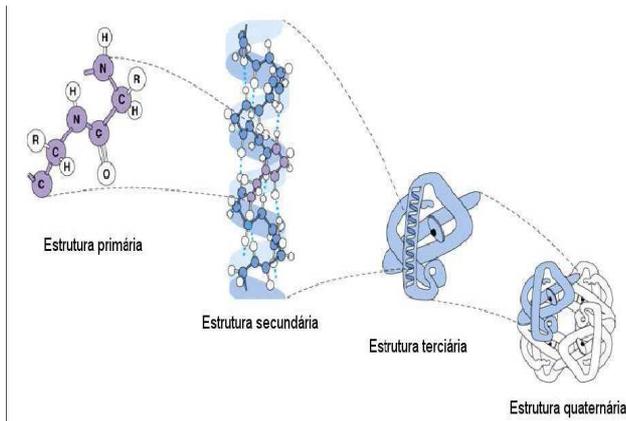


Figura 1-7: Níveis de organização da estrutura molecular de uma proteína.

1) **Estrutura primária:** diz respeito à seqüência de aminoácidos, dada pela seqüência de nucleotídeos da molécula de DNA responsável por sua síntese. A estrutura primária de peptídeos e proteínas refere-se ao número linear e a ordem dos aminoácidos presentes. A convenção para a designação da ordem dos aminoácidos é a de que o N-terminal (ou seja, o final com o resíduo com o grupo α -amino livre) é para a esquerda (é do primeiro aminoácido) e do C-terminal (ou seja, o fim com o resíduo que contém um grupo carboxila livre) é para a direita. Nesta estrutura são encontradas **ligações peptídicas** e eventualmente, dependendo da proteína, podem ser encontradas ainda as **pontes de dissulfeto**.

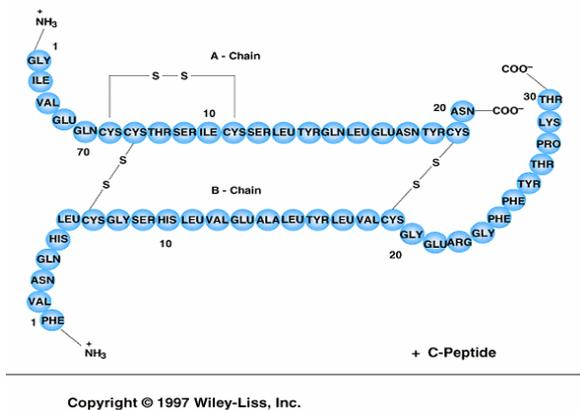


Figura 1-8 : Exemplo de estrutura primária

Esta seqüência deve ser fundamentalmente mantida, sob o peso de a proteína perder sua função, como é o caso da presença de valina ao invés de glutamato no sexto aminoácido da cadeia polipeptídica da hemoglobina, que causa a doença genética denominada de **anemia falciforme**. A ausência ou acréscimo

de aminoácidos à estrutura primária das proteínas, também pode ser responsável por modificação em sua eficácia funcional.

2) **Estrutura secundária:** relaciona a forma que a cadeia polipeptídica assume no espaço, que pode ser de α -hélice ou β -folha pregueada. A conformação em α -hélice é conferida através do ângulo de torção que os resíduos de aminoácidos apresentam na ligação peptídica, estabilizada por pontes de hidrogênio entre o oxigênio do grupamento carboxila de um $C\alpha$ e o H do grupamento amino do outro aminoácido (Figura 1-9).

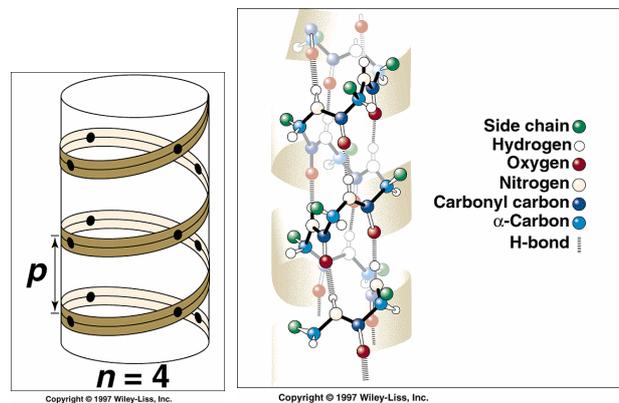


Figura 1-9 - A forma de α -hélice é possível graças à formação de pontes de hidrogênio entre os grupamentos funcionais dos aminoácidos da ligação peptídica e ao posicionamento contrário dos grupamentos R.

A forma de β -folha pregueada é possível graças a pontes de hidrogênio que ocorrem entre duas partes da cadeias polipeptídicas (Figura 1-10) dentro da molécula protéica.

Uma proteína pode apresentar os dois tipos de organização secundária dentro de sua molécula (Figura 1-11).

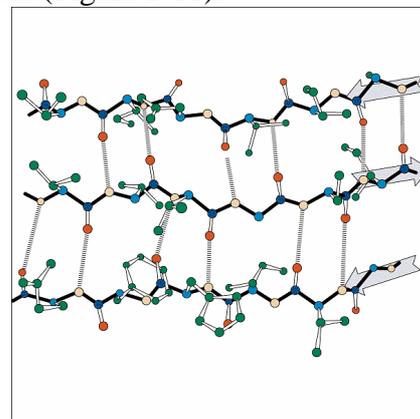


Figura 1-10 – A forma de β -folha pregueada ocorre entre duas cadeias peptídicas dentro da molécula

protéica, resultante entre pontes de hidrogênio entre elas, resultando em um dobramento entre os aminoácidos sobre si formando um ângulo característico que lembra as folhas pregueadas dos formulários contínuos.

3) **Estrutura terciária:** corresponde às relações da cadeia polipeptídica no sentido de estabilizar a conformação tridimensional.

Muitos tipos de interações químicas podem ocorrer dentro de uma molécula protéica para garantir a estabilidade das cadeias polipeptídicas.

As mais fortes são as **ligações covalentes**, como a que ocorre entre dois aminoácidos **cisteína** que se unem através de pontes **dissulfetos** entre seus grupamentos –SH formando o complexo **cistina** (Figura 1-13).

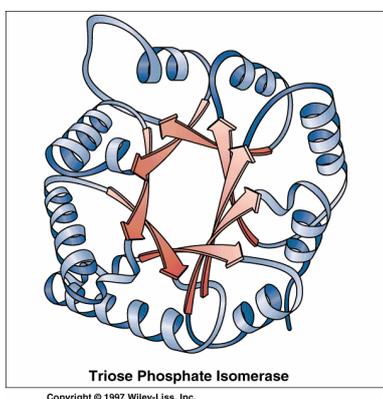


Figura 1-11 – Estrutura molecular da enzima da glicólise **triose fosfato isomerase** que apresenta regiões em α -hélice (espirais em azul) e em β -folha pregueada (setas vermelhas).

Há, ainda a formação de pontes de hidrogênio, interações eletrostáticas e interações fracas de van der Waals entre os grupamentos R.

Forças não covalentes que estabilizam a estrutura protéica tridimensional:

Pontes de Hidrogênio: Grande número de pontes de H são formadas no interior e na superfície das proteínas. Além de formar pontes de H entre si, os grupos polares das cadeias laterais dos aminoácidos podem interagir com a água ou com o esqueleto polipeptídico. As pontes de H contribuem moderadamente para direcionar o enovelamento.

Interações Hidrofóbicas: São as forças não-covalentes mais importantes para a estabilidade da estrutura enovelada. Ocorrem entre aminoácidos de cadeia lateral hidrofóbica, excluindo e afastando as moléculas de água no momento da ligação.

Interações eletrostáticas (ligações iônicas): Ocorrem entre aminoácidos que possuem carga positiva ou negativa na cadeia lateral.

Forças de van der Waals: É uma força de atração inespecífica que ocorre quando dois átomos quaisquer estão próximos. Apesar dessas forças serem comparativamente fracas em relação as demais, o efeito cumulativo de numerosas interações tem substancial influência para a estabilidade da estrutura enovelada.

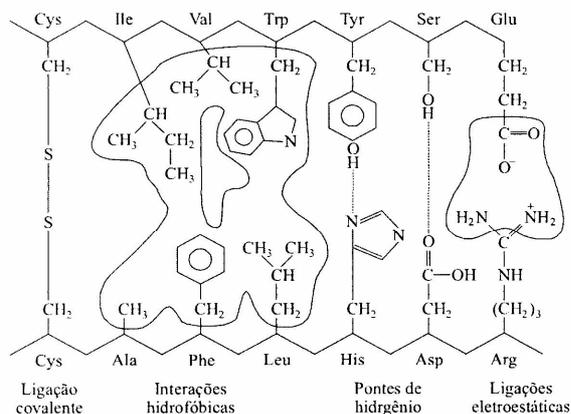


Figura 1-12: Exemplos de ligações que estabilizam a estrutura terciária de proteínas.

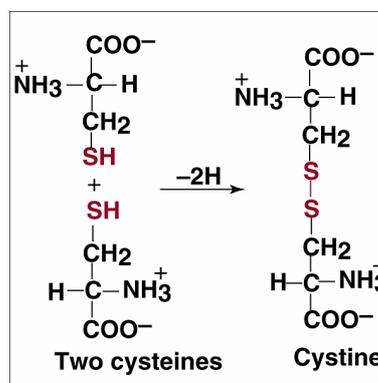
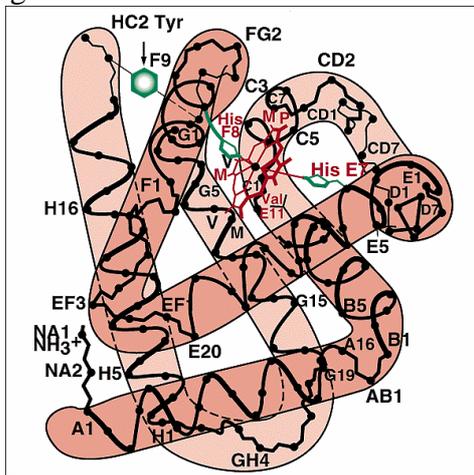


Figura 1-13 – A união covalente entre dois aminoácidos cisteína entre seus grupamentos –SH, gera uma ponte dissulfeto formando um grupo **cistina** extremamente rígido que ajuda a manter a estrutura terciária das proteínas.

Esta estrutura terciária é comum a todas proteínas e polipeptídios (cerca de 50 aminoácidos). Algumas proteínas contêm apenas uma cadeia polipeptídica (p.ex.: **mioglobina**, Figura 1-14) enquanto outras são compostas por mais de um tipo iguais ou diferentes entre si (**proteínas oligoméricas**), como é o caso da **hemoglobina** (Figura 1-15).

4) Estrutura quaternária: é o arranjo espacial entre cadeias peptídicas das proteínas oligoméricas, definida por interações não-covalentes entre as cadeias peptídicas e outros compostos de origem não protéica que, freqüentemente, fazem parte da proteína.

A estrutura quaternária, portanto diz respeito ao arranjo não covalente formado por várias cadeias polipeptídicas como é o caso da hemoglobina.



Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.

Figura 1-14 - Estrutura terciária final da **mioglobina**, uma proteína formada por apenas uma cadeia peptídica. (Adaptado de Devlin, T.M., 1999).

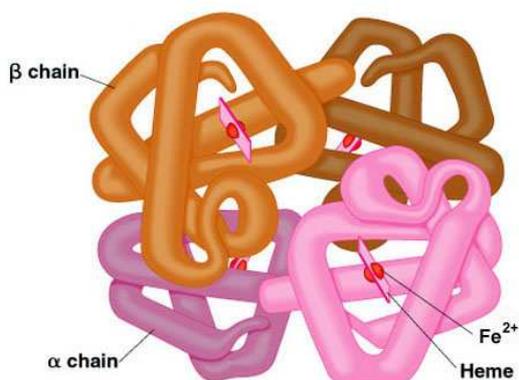
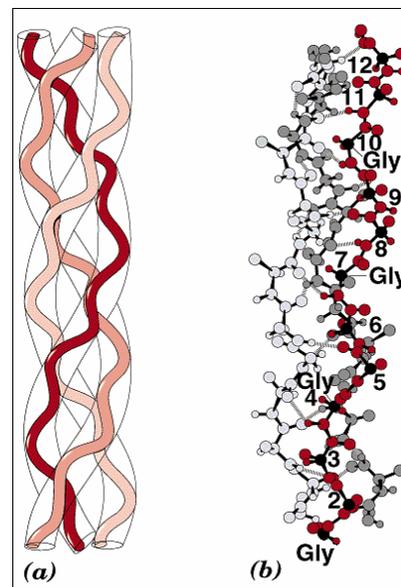


Figura 1-15 – Estrutura quaternária da **hemoglobina**, uma proteína oligomérica formada por quatro cadeias peptídicas unidas por grupamentos prostéticos heme.

A configuração espacial final das proteínas (estrutura terciária ou quaternária) é constante e determinante das funções biológicas por elas exercidas.

As **proteínas globulares** são esferas compactas e irregulares resultantes do enovelamento da cadeia polipeptídica. São bastante solúveis em água e possuem funções diversificadas. A mioglobina e a hemoglobina são exemplos.

As **proteínas fibrosas** são proteínas de formato cilíndrico, apresentam baixa solubilidade em água e possuem funções estruturais. (p.ex.: colágeno e queratina). O colágeno é pouco solúvel em água; apresenta uma tripla hélice estabilizada por pontes de hidrogênio. Com uma sequência repetida de glicina, prolina e hidroxiprolina. Possuindo também ligações cruzadas covalentes de alisinas que aumentam a sua resistência tensional. A formação de hidroxiprolina e hidroxilisina requer vitamina C. Abaixo um exemplo da estrutura do colágeno, uma proteína fibrosa.



Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.

Figura 1-16 – Representação esquemática da estrutura de proteínas fibrosas. A estrutura do **colágeno** evidenciando as cadeias peptídicas unidas em feixes e estabilizadas por pontes de hidrogênio.

Algumas proteínas têm os dois tipos de conformação, como é o caso da **miosina muscular** e do **fibrinogênio**.

Desnaturação Protéica:

A exposição de proteínas a pH extremos ou temperaturas elevadas, mesmo por períodos curtos, faz com que a maioria delas apresentem modificações físicas em sua conformação tridimensional e em sua função fisiológica, processo conhecido como **desnaturação**. Desta forma, a perda da configuração espacial modifica completamente sua função, podendo até significar a destruição da proteína.

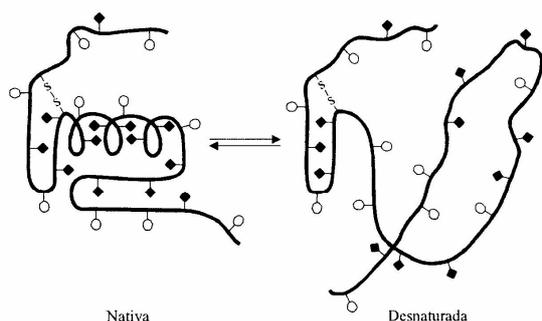


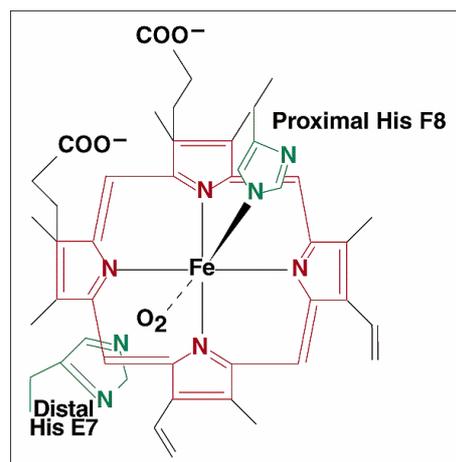
Figura 2.10
Desnaturação de proteínas

Fisiologicamente, condições extremas de desnaturação protéica são obtidas com variação brusca acima de 50°C e pH abaixo de 5,0, ambas condições incompatíveis com a vida. Desta forma, o desenovelamento protéico em hipertermia ou acidoses leva a diminuição ou até perda da função protéica, mas que se mostra reversível quando cessa a causa da variação de temperatura e/ou pH. Este processo de **renaturação**, entretanto não é visualizado em condições experimentais extremas onde a desnaturação protéica é irreversível.

Proteínas conjugadas

Muitas proteínas apresentam em sua composição, moléculas não protéicas ligadas de forma covalente ou não aos aminoácidos das proteínas, denominados, genericamente, de **grupo prostético**.

A hemoglobina (Figura 1-15) é uma proteína conjugada cujo grupamento prostético são quatro **grupamentos hemes** (Figura 1-17) que se ligam de forma não covalente às cadeias peptídicas.



Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.

Figura 1-17 - O grupamento heme e seu anel tetrapirrólico ligado ao ferro reduzido.

Um grupo importante de proteínas conjugadas são as **glicoproteínas** que estão presentes na superfície celular (p.ex.: mucina), fazem parte de proteínas estruturais (p. ex.: o colágeno), são hormônios (p.ex.: glucagon) ou receptores de membrana. A glicose liga-se de maneira irreversível a uma fração da hemoglobina (**hemoglobina glicada**) e permite a monitoração da concentração de glicose plasmática (glicemia) até 120 dias (vida média da hemoglobina) antes da coleta de sangue. Outra fração de glicose fixa-se à albumina formando as **frutosaminas** que, à maneira da hemoglobina glicada, monitora a glicemia anterior da coleta em até 30 dias (vida média das albuminas).

As **lipoproteínas** são importantes transportadoras dos lipídios plasmáticos, principalmente os triglicérides e o colesterol.

De acordo com a variação das lipoproteínas pode-se avaliar o risco para doenças cardíacas coronarianas.

2. Metabolismo dos aminoácidos e das proteínas

A fração metabólica de energia obtida a partir de aminoácidos, se eles são derivados de proteína dietética ou a partir de proteína tecidual, varia muito com o tipo de organismo e com condições metabólicas. Carnívoros podem obter (imediatamente após uma refeição) até 90% das suas necessidades energéticas a partir da oxidação de aminoácidos, enquanto que herbívoros podem preencher apenas uma pequena fração de suas necessidades energéticas por esta via.

A maioria dos microrganismos pode expulsar aminoácidos a partir de seu ambiente e utilizá-los como combustível, quando exigido pelas condições metabólicas. Plantas, no entanto, raramente ou nunca oxidam aminoácidos para fornecer energia, os hidratos de carbono produzidos a partir de CO_2 e H_2O na fotossíntese são geralmente sua única fonte de energia.

Nos animais, aminoácidos sofrem degradação oxidativa em três diferentes circunstâncias metabólicas:

1. Durante o procedimento normal de síntese e degradação de proteínas celulares alguns aminoácidos que são liberados a partir de proteína de degradação e não são necessários para a nova síntese protéica sofrem degradação oxidativa.

2. Quando uma dieta é rica em proteínas e aminoácidos e a ingestão ultrapassa as necessidades do organismo para a síntese protéica, o excedente é catabolizado; aminoácidos não podem ser armazenados.

3. Durante o jejum prolongado ou de diabetes mellitus não controlada, quando carboidratos ou estão indisponíveis ou não devidamente utilizados, as proteínas celulares são utilizados como combustível.

De acordo com todas estas condições metabólicas, aminoácidos perdem os seus grupos amino para formar grupos α -ceto ácidos, os "esqueletos de carbono" de

aminoácidos. Os α -ceto ácidos sofrem oxidação a CO_2 e H_2O , ou, muitas vezes mais importante ainda, fornecem três e quatro unidades de carbono que podem ser convertidos por neoglicogênese em glicose, o combustível para o cérebro, músculo esquelético, e de outros tecidos.

Como no catabolismo de carboidratos e ácidos graxos, os processos de degradação de aminoácidos convergem em vias catabólicas centrais, com os esqueletos de carbono da maioria dos aminoácidos encontram o seu caminho para o ciclo de ácido cítrico.

Uma importante característica distingue os aminoácidos de outros processos de degradação catabólica: cada aminoácido contém um grupo amino, e as vias de degradação de aminoácidos, portanto, incluem um passo-chave na qual o grupo α -amino grupo é separado do esqueleto de carbono e destinado para as vias metabólicas do grupo amino.

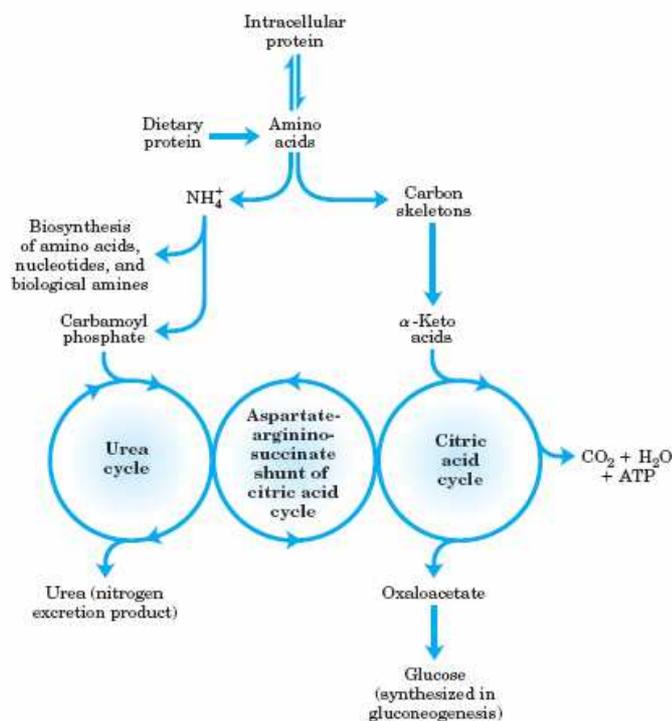


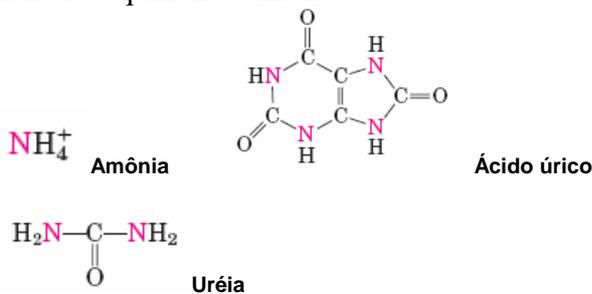
Figura 1. Visão geral do catabolismo de aminoácidos em mamíferos. Os grupos amino e os esqueletos carbônicos seguem caminhos distintos, mas interligados.

Os aminoácidos são importantes fontes de energia para o metabolismo celular, porém só são utilizados quando há uma extrema carência

energética ou durante a prática de exercícios físicos intensos. É importante frisar que os carboidratos e lipídios são melhores produtores de energia e a mobilização de aminoácidos pode estar relacionada a uma degradação de proteínas musculares ou plasmáticas levando o organismo a uma depleção dessas proteínas, o que pode trazer conseqüências desastrosas como a atrofia muscular e a hipoalbuminemia.

A síntese da uréia é um dos processos metabólicos mais importantes, pois impede a formação de amônia tóxica ao organismo a partir do nitrogênio protéico, é exclusiva do fígado, o que o torna o centro da degradação de aminoácidos. Os músculos precisam ajustar o consumo de aminoácidos com a exportação da amônia para o fígado na forma dos aminoácidos glutamina ou alanina, em uma via metabólica extremamente importante e que permite o equilíbrio fisiológico, principalmente durante a realização de exercícios físicos, como será discutido adiante.

A **uréia** é a principal forma de excreção do nitrogênio protéico nos vertebrados terrestres. Em aves e répteis, o **ácido úrico** é a principal forma de excreção do nitrogênio protéico; em peixes e larvas de anfíbios a **amônia** é excretada intacta, permanecendo em alta concentração plasmática em peixes de água salgada para manter o equilíbrio osmótico.



1. Transaminação e Desaminação

A maior parte do nitrogênio protéico não é utilizada em vias metabólicas nos seres humanos. Sendo assim, a retirada do grupamento amino (-NH₃⁺) dos aminoácidos é o primeiro passo metabólico, com a formação de **amônia** (NH₃), um composto altamente tóxico que é excretada, na forma de **uréia** pelos rins.

O processo de síntese da uréia envolve enzimas tanto citoplasmáticas quanto mitocondriais. A retirada do grupamento amino é a reação preparatória para essa síntese e é

comum em todos os tecidos podendo ocorrer por dois processos diferentes: a **transaminação** e a **desaminação**.

A **transaminação** ou **aminotransferência** é catalisada por enzimas chamadas **transaminases** ou **aminotransferases**, que possuem como co-fator o piridoxal-fosfato, a forma ativa da vitamina B6.

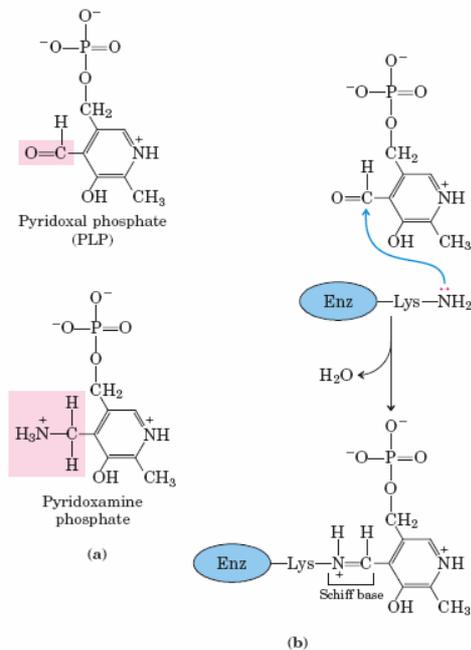


Figura 2: Piridoxal fosfato, o grupo prostético das aminotransferases. (a) Piridoxal fosfato (PLP) e sua forma aminada, piridoxamine fosfato, são coenzimas estritamente vinculadas às aminotransferases. Os grupos funcionais estão sombreados. (b) Piridoxal fosfato está ligado à enzima através de interações não-covalentes e por uma base de Schiff a um resíduo de Lisina no sítio ativo.

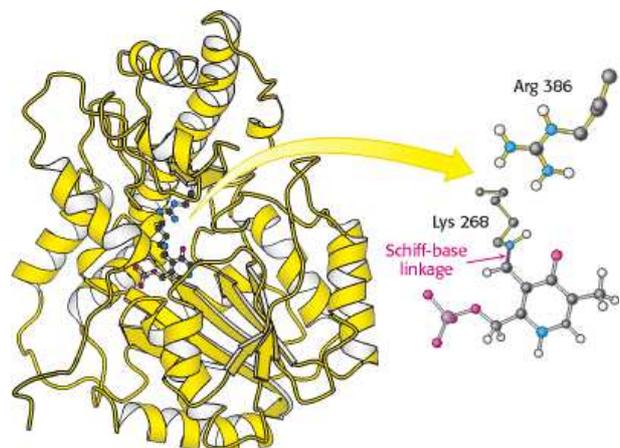


Figura 3. Aspartate Aminotransferase. O sítio ativo da enzima é dependente de PLP; inclui piridoxal fosfato anexada à enzima por uma base de Schiff articulada com lisina 268. Um resíduo de arginina no sítio ativo ajuda a orientar os substratos pela ligação aos seus grupos.

Esse processo metabólico consiste na transferência do grupamento amino para o **α-cetoglutarato** (um cetoácido) formando um outro **cetoácido** e o aminoácido **glutamato**.

Dependendo do aminoácido transaminado, haverá um tipo diferente de cetoácido formado (p.e.x.: a alanina forma o piruvato; o aspartato forma o oxalacetato) porém sempre o mesmo aminoácido glutamato é formado. Isso faz com que após essa reação, uma grande quantidade de glutamato seja produzida no fígado.

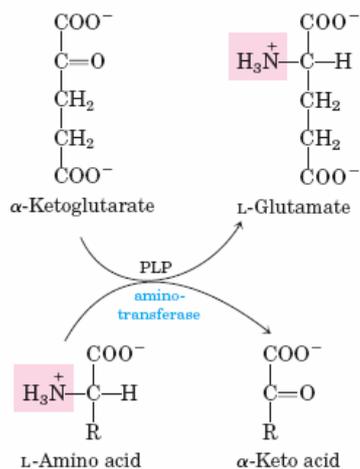


Figura 4: Transaminações catalisadas por enzima.

Em muitas reações de aminotransferase, o α-cetoglutarato é o grupo amino acceptor. Todas as aminotransferases têm piridoxal fosfato (PLP) como cofator.

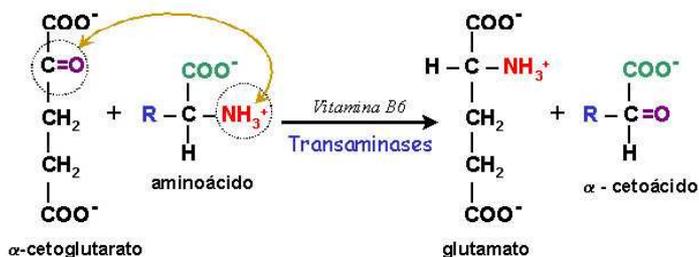


Figura 5 - A transaminação dos aminoácidos ocorre com a formação de um único aminoácido, o glutamato, e um cetoácido para cada tipo de aminoácido metabolizado. O acceptor de amino é o cetoácido α-cetoglutarato.

As principais transaminases do hepatócito são a **transaminase-glutâmicopirúvica** (TGP) ou **alanina aminotransferase** (ALT) e a **transaminase-glutâmicooxalacética** (TGO) ou **aspartato aminotransferase** (AST). Essas enzimas transaminam a alanina e o aspartato, respectivamente, possuindo também ação sobre os demais aminoácidos, apesar de haver uma transaminase para cada tipo de aminoácido.

Ensaio para avaliação de dano tecidual.

Análises de certas atividades enzimáticas no soro sanguíneo podem dar valiosas informações sobre diagnósticos para uma série de doenças. Alanina aminotransferase (ALT; também chamada transaminase-glutâmico-pirúvica TGP) e aspartato aminotransferase (AST, também chamada glutamateoxaloacetate transaminase-glutâmico-oxalacética, GOT) são importantes no diagnóstico do coração e do fígado causada por ataque cardíaco, toxicidade de drogas, ou infecção. Depois de um ataque cardíaco, uma variedade de enzimas, incluindo as aminotransferases, vazam do coração lesado para a circulação sanguínea. As medições das concentrações de soro sanguíneo das duas aminotransferases pelos testes SGOT e SGPT (S de soro) e de uma outra enzima, a creatinofosfoquinase, pela SCK-teste podem fornecer informações sobre a gravidade dos danos.

O SGOT e SGPT testes também são importantes na medicina ocupacional, para determinar se as pessoas expostas ao tetracloreto de carbono, clorofórmio, ou outros solventes industriais sofreram danos hepáticos. Degeneração hepática causada por estes solventes é acompanhada de extravasamento de várias enzimas a partir de hepatócitos para o sangue.

Glutamato libera seu grupo amino como amônia no fígado.

Nos hepatócitos, o glutamato é transportado do citosol para mitocôndrias, onde ele sofre **desaminação oxidativa** catalisada pela **glutamato desidrogenase**. Em mamíferos, esta enzima está presente na matriz mitocondrial. É a única enzima que pode usar tanto NAD_ ou NADP_ como o acceptor de equivalentes de redução. A ação combinada de uma aminotransferase e da glutamato desidrogenase é referida como transdesaminação. O α-cetoglutarato formado a partir da desaminação do glutamato podem ser usado no ciclo do ácido cítrico ou para a síntese de glicose.

A vantagem da transaminação é justamente a formação de glutamato e a necessidade de uma única via metabólica posterior para a degradação dos aminoácidos.

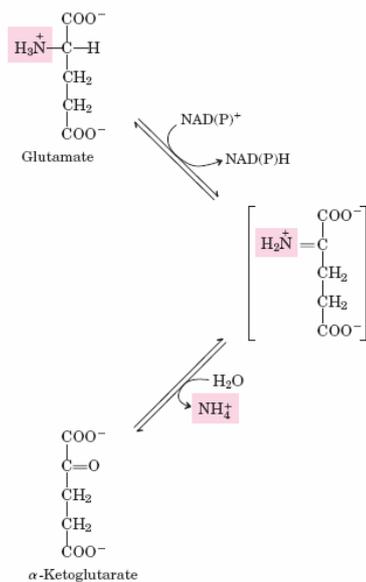


Figura 6 - A desaminação oxidativa é um processo intramitocndrial que gera amônia par a síntese de uréia. É estimulada pelo ATP e inibida pelo GTP. O α -cetoglutarato é regenerado para o citoplasma.

A toxicidade da amônia formada impede que esta reação seja citoplasmática pois poderia levar a sua saída para o sangue, o que acarretaria danos sérios, principalmente ao sistema nervoso central. A desaminação oxidativa é uma reação **intramitocondrial** e está acoplada a um processo eficaz de degradação da amônia formada, a **síntese da uréia**. Essa desaminação mitocondrial, requer NAD^+ ou NADP^+ como receptor dos elétrons da reação. Com a retirada do grupamento amino do aminoácido, há a formação de um cetoácido.

No caso do glutamato (principal aminoácido dessa via) o cetoácido formado é o α -cetoglutarato que sai da mitocôndria e retorna ao citoplasma para servir de substrato para outra reação de transaminação. O α -cetoglutarato é um intermediário do Ciclo de Krebs e a sua saída da mitocôndria só pode ocorrer quando o Ciclo de Krebs não está ativo, caso contrário ele será utilizado como substrato das enzimas.

Em vertebrados, a atividade da glutamato desidrogenase é alostericamente regulada. Guanosina trifosfato e adenosina trifosfato são inibidores alostéricos, enquanto guanosina difosfato e adenosina difosfato são ativadores alostéricos. Assim, *uma redução da energia, acelera a oxidação de aminoácidos*.

Um problema adicional enfrenta os músculos quando degradam aminoácidos para o metabolismo energético: a amônia formada

necessita ser convertida em uréia mas o músculo não possui as enzimas para essa síntese, somente o fígado. Logo, há a necessidade da formação de um produto não tóxico para transportar a amônia dos tecidos extrahepáticos para serem metabolizadas até uréia no fígado. A glutamina e alanina realizam esta função.

Glutamina Transporta Amônia no sangue

O aminoácido **glutamina** é o principal transportador de amônia plasmática após ser sintetizado a partir da união de glutamato com amônia pela ação da enzima **glutamina-sintetase**. O glutamato não atravessa a membrana celular devido sua carga elétrica. É uma reação que gasta ATP e produz a glutamina que será degradada até glutamato e amônia no fígado.

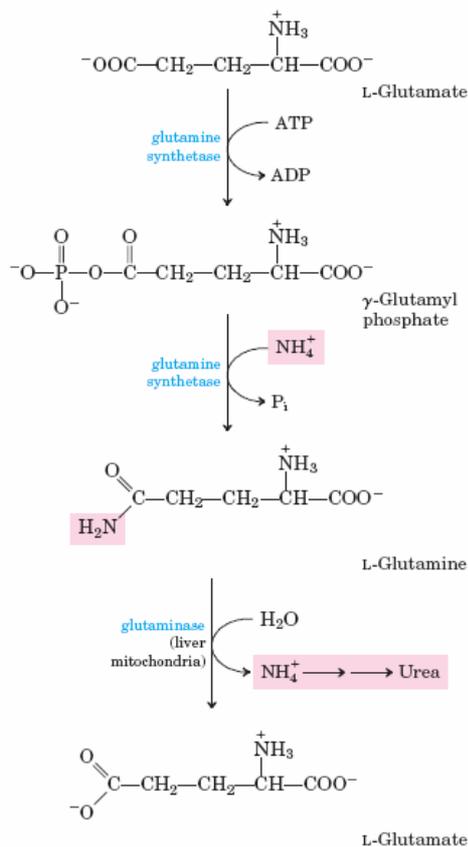


Figura 7: Transporte de Amônia sob a forma de glutamina. O excesso de amônia nos tecidos é adicionada ao glutamato para formar glutamina, um processo catalisado pela glutamina sintetase. Após o transporte na corrente sanguínea, a glutamina penetra no fígado e a NH_4^+ é liberada na mitocôndria pela enzima glutaminase.

Alanina Transporta Amônia dos Músculos Esqueléticos ao Fígado

O aminoácido **alanina** também é um importante transportador de amônia dos tecidos extra-hepáticos. Entretanto, a sua síntese atende a algumas necessidades musculares específicas e só é observada quando há um intenso trabalho muscular. Nessa situação metabólica, o músculo tende a produzir muito lactato resultante da glicólise anaeróbica, a partir do piruvato. O lactato pode ser reciclado no fígado gerando nova molécula de glicose na neoglicogênese. Porém, o H^+ liberado para o sangue tende a levar a uma acidose que é uma das causas da fadiga muscular. Da mesma forma, o músculo está degradando muitos aminoácidos e aumentando perigosamente a amônia celular. Assim sendo, a síntese da alanina resolve estes dois problemas de uma só vez, já que são necessários piruvato e amônia para sintetizar uma molécula de alanina (Figura 10-29). A alanina é captada pelo fígado e degradada gerando novamente o piruvato, que é reciclado na neoglicogênese fornecendo novas moléculas de glicose, garantindo um "segundo fôlego" para o praticante de exercício físico intenso com uma nova carga de glicose plasmática para o metabolismo energético.

Esta via metabólica denominada de **Ciclo da glicose-alanina** é um importante meio de economia energética do organismo.

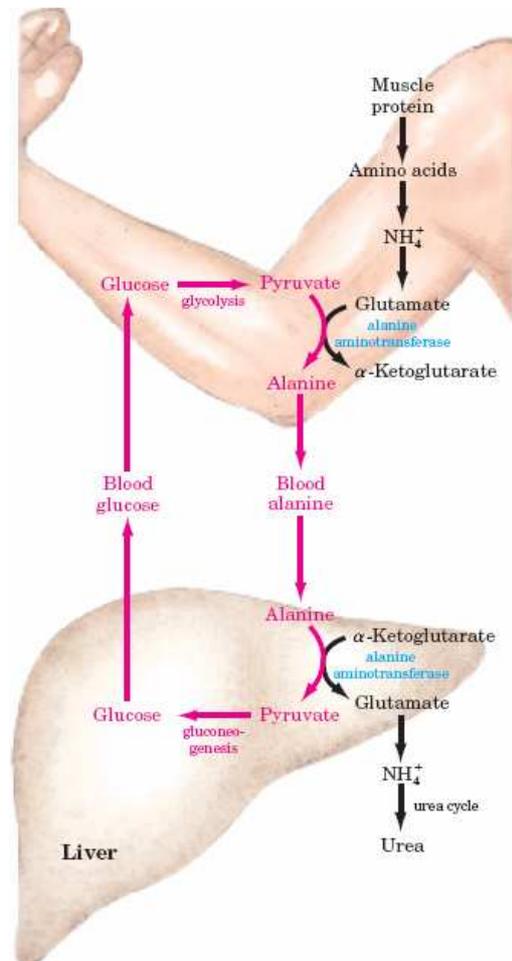


Figura 8: Ciclo Glicose-alanina. Alanina serve como um transportador de amônia e do esqueleto de carbono a partir do piruvato do músculo esquelético ao fígado. A amônia entra no ciclo da uréia e o piruvato é utilizado para a produção de glicose, que é devolvida ao músculo.

2. Síntese da uréia

No fígado, irá haver a produção de grande quantidade de um composto nitrogenado atóxico formado por duas moléculas de amônia, conjugadas com CO₂ - a **uréia**. Esta reação se processa parte no citoplasma e parte na mitocôndria do hepatócito. Na seqüência de reações envolvendo a síntese da uréia (Figura 10-27), há a síntese do aminoácido **arginina** e a participação dos aminoácidos não codificados **ornitina** e **citrulina**.

A arginina é consumida em grande quantidade na produção de uréia o que faz com que seja necessária na alimentação de animais jovens, em fase de crescimento. Portanto, esse aminoácido apesar de ser sintetizado torna-se essencial na alimentação.

As reações do ciclo da uréia podem ser agrupadas a seguir:

a) Formação da carbamoil-fosfato: na mitocôndria, há a hidratação de um CO₂ e uma NH₃ (proveniente da desaminação do glutamato), com o gasto de 2 ATP's; **Cabamoil-fosfato Sintetase I**.

1) Formação da citrulina: o carbomoilfosfato doa seu grupamento carbomoil para a ornitina, que penetrou na mitocôndria através de um transportador específico, formando a citrulina. A citrulina sai da mitocôndria pelo mesmo transportador de ornitina; **Ornitina transcarbamilase**.

2) Formação do arginino-succinato: através da incorporação de aspartato na molécula de citrulina, com gasto de 1 ATP, no citoplasma.

Esse aspartato é mobilizado da mitocôndria através do mesmo transportador que promove a entrada de glutamato na mitocôndria; **Arginino-succinato sintase**.

3) Síntese da Arginina: o arginino-succinato sofre quebra, liberando uma molécula de **fumarato** e uma molécula de arginina. Esse fumarato é requerido para o Ciclo de Krebs,

ativando-o, o que faz com que a síntese de uréia e o Ciclo de Krebs "rodem" juntos, via metabólica denominada por muitos de "Bicicleta de Krebs"; **Arginino-succinato liase**.

4) Síntese da Uréia: a arginina formada sofre ação da enzima **arginase**, que catalisa a síntese da **uréia** e a liberação de uma molécula de ornitina que retorna a mitocôndria, dando início um novo ciclo.

O Ciclo da Uréia pode ser resumido como um processo metabólico hepático que degrada amônia com a participação da ornitina e citrulina como transportadores dessa amônia mitocondrial, favorecendo a liberação da uréia formada no citoplasma.

A "Bicicleta de Krebs" é uma expressão que lembra a integração existente entre o ciclo da uréia e o metabolismo energético, pois não se pode esquecer que a cada amônia liberada significa que um aminoácido foi desaminado e o cetoácido formado está apto para o metabolismo celular. Por essas razões, pode-se perceber a importância dos aminoácidos para o metabolismo energético hepático, além de que a síntese de glicogênio e de ácidos graxos impedem uma maior utilização de carboidratos e lipídios exclusivamente para produzir energia para o hepatócito.

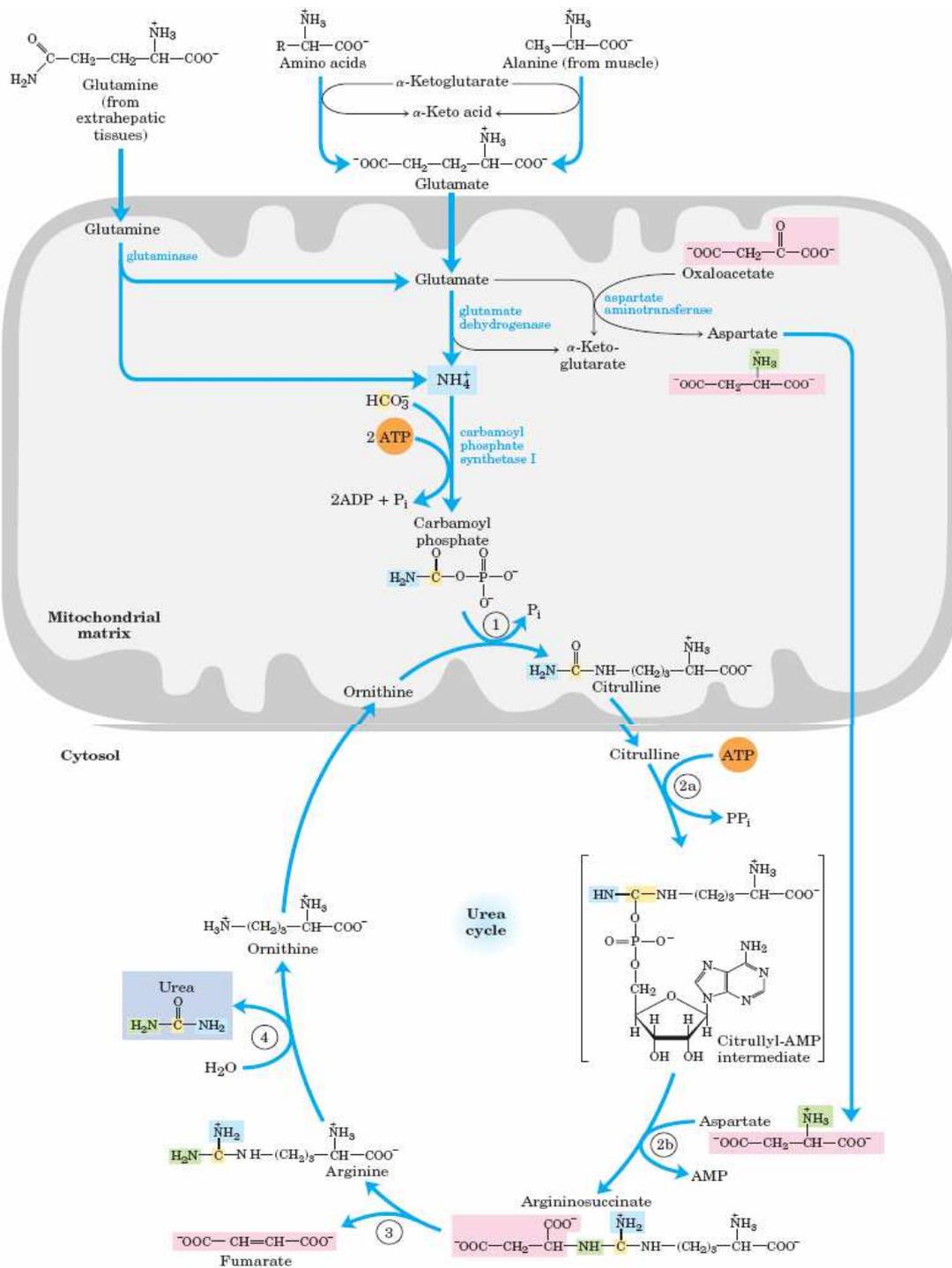


Figura 9: Ciclo da uréia e as reações que alimentam o ciclo com grupos amino. As enzimas que catalisam estas reações (denominadas no texto) estão distribuídas entre a matriz mitocondrial e do citosol. Um grupo amino entra no ciclo de uréia como carbamoil fosfato, formado na matriz, sendo que o outro entra como aspartato, formado na matriz por transaminação do oxaloacetato e do glutamato, catalisada pela aspartato aminotransferase. O ciclo da uréia consiste de quatro etapas. **1** Formação de citrulina a partir de ornitina e carbamoil fosfato (entrada do primeiro grupo amino); a citrulina passa para o citosol. **2** Formação de argininosuccinato através de um intermediário citrullyl-AMP (entrada do segundo grupo amino). **3** Formação de arginina a partir de argininosuccinato; esta reação libera fumarato, que entra no ciclo de ácido cítrico. **4** Formação de uréia; esta reação também regenera, ornitina. As vias pelas quais NH_4^+ chega na matriz mitocondrial dos hepatócitos.

O ciclo do ácido cítrico e o ciclo da uréia estão interconectados

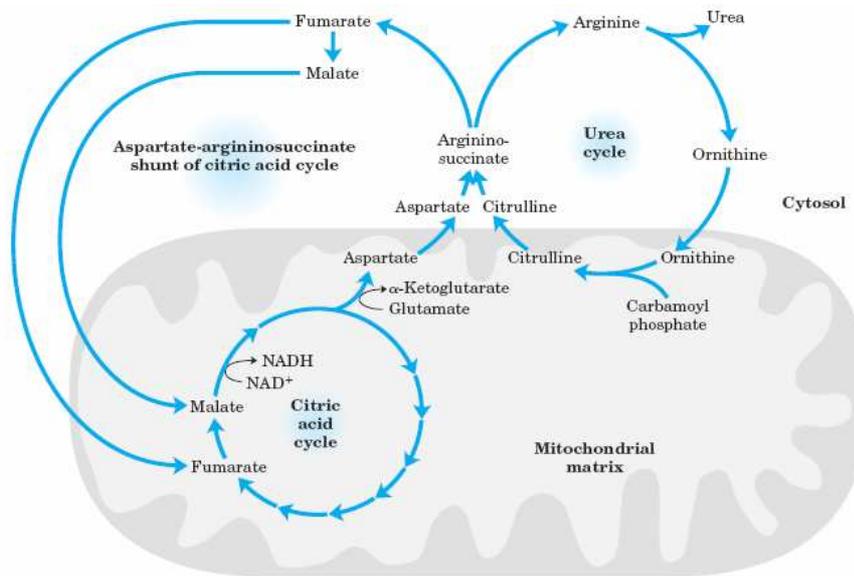


Figura 10: Ligações entre o ciclo de uréia e ácido cítrico ciclo. A interligação dos ciclos foram chamados de "Bicicleta de Krebs." O fumarato produzido no citosol pelo ciclo da uréia pode ser reaproveitado na mitocôndria pelo ciclo do ácido cítrico.

A Atividade do Ciclo da Uréia é Regulada em Dois Níveis.

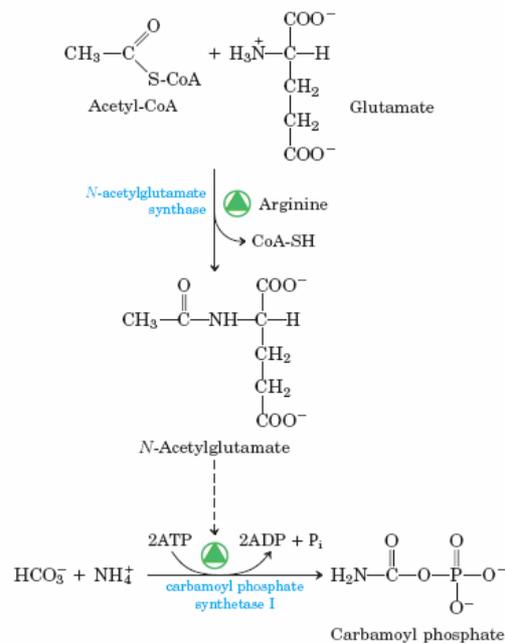


Figura 11: Síntese de N-acetilglutamato e a ativação da carbamoyl fosfato sintetase I.

3. Catabolismo da cadeia carbonada dos aminoácidos

Diariamente, há uma renovação de cerca de 400g de proteínas o que significa que, durante o dia, cerca de 400g de proteínas são degradadas porém a mesma quantidade está sendo produzida o que garante uma certa estabilidade na quantidade total de proteínas no organismo.

Esta taxa de renovação, denominada de taxa de *turnover*, implica na necessidade da obtenção de aminoácidos essenciais na dieta além da síntese dos não-essenciais.

Apenas 11 aminoácidos são sintetizados no organismo, porém a **arginina** é sintetizada, mas totalmente consumida no ciclo da uréia e a **cisteína** e a **tirosina** são sintetizadas a partir da **metionina** e **fenilalanina** (aminoácidos essenciais) o que faz com somente nove aminoácidos sejam **verdadeiramente** independentes da alimentação.

Entretanto, uma alimentação completa apresenta uma grande quantidade de aminoácidos, sejam essenciais ou não ou que favorece a uma absorção de aminoácidos sempre acima das necessidades diárias.

Desta forma, o catabolismo dos aminoácidos é intenso após uma refeição protéica, permitindo a formação de grande quantidade de uréia, resultado da degradação do grupamento amino, como visto anteriormente.

O cetoácido resultado das reações de transaminação e desaminação, entretanto, possuem diversos destinos metabólicos que podem ser reunidos em dois grandes grupos: 1) os cetogênicos; e 2) os glicogênicos. O primeiro grupo (os cetogênicos) corresponde aos que são degradados em acetil-CoA (de forma direta ou indireta, na forma de acetoacetil-CoA) e fornecem energia de forma imediata no ciclo de Krebs. São fenilalanina, tirosina, triptofano, lisina, isoleucina, treonina e leucina.

A acetil-CoA produzida pelos aminoácidos cetogênicos não pode ser convertida em glicose, o que vai induzir à entrada obrigatória no Ciclo de Krebs para a produção de energia. Desta forma, um excesso de catabolismo destes aminoácidos levará ao desvio para a produção de ácidos graxos, colesterol e corpos cetônicos de maneira idêntica a um excesso de acetil-CoA oriundo do

catabolismo de carboidratos e lipídios. Os demais fornecem intermediários do ciclo de Krebs (oxalacetato, fumarato, succinil-CoA e α -cetogluturato) bem como o piruvato.

Esses produtos podem ser convertidos em glicose através da neoglicogênese e, assim, produzirem energia para as reações metabólicas celulares, sendo os aminoácidos que os produzem chamados de glicogênicos por este motivo. Alguns aminoácidos cetogênicos (fenilalanina, tirosina, triptofano, isoleucina e teronina) podem ser utilizados como substratos para a neoglicogênese além de produzir acetil-CoA, sendo chamados, portanto, de glicocetogênicos. A Figura 10-30 demonstra a entrada esquemática dos aminoácidos no metabolismo energético.

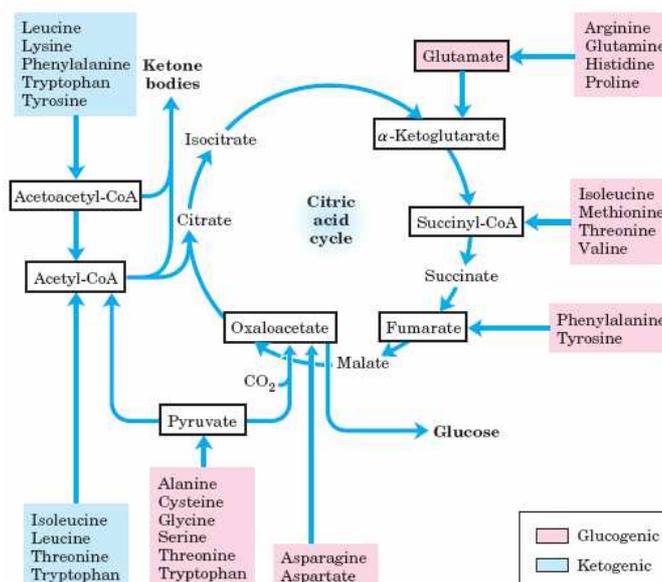


Figura 12: Resumo do catabolismo dos aminoácidos.

Aminoácidos são agrupados de acordo com os seus principais degradativos produtos finais. Alguns aminoácidos são listados mais de uma vez, porque as diferentes partes dos seus esqueletos de carbono são degradados a diferentes produtos finais. A figura mostra as mais importantes vias catabólicas em vertebrados, mas há pequenas variações entre as espécies de vertebrados. Treonina, por exemplo, é degradada pelo menos através de duas diferentes vias, bem como a importância de um determinado caminho pode variar com o organismo e as suas condições metabólicas. Os aminoácidos glicogênicos e cetogênicos também são delineados na figura, pelo sombreamento colorido. Repare que cinco dos aminoácidos são ambos glicogênicos e cetogênicos. Os aminoácidos que são degradados a piruvato também são potencialmente cetogênicos. Apenas dois aminoácidos, leucina e lisina, são exclusivamente cetogênicos.

O Catabolismo da Fenilalanina é Geneticamente Defeituoso em Algumas Pessoas

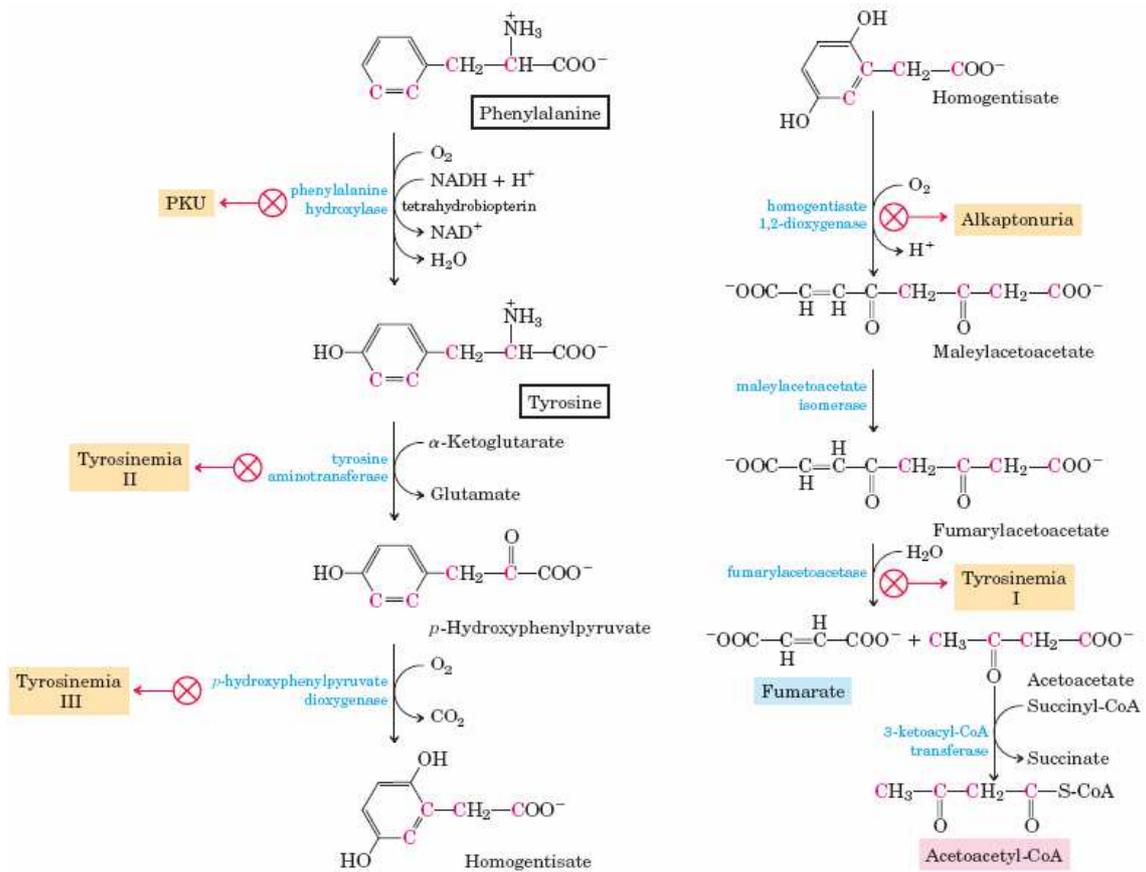


Figura 13: Vias catabólicas para fenilalanina e tirosina. No homem esses aminoácidos são normalmente convertidos para acetoacetyl-CoA e fumarato. Defeitos genéticos herdados para muitas destas enzimas causam doenças humanas (sombreado amarelo).

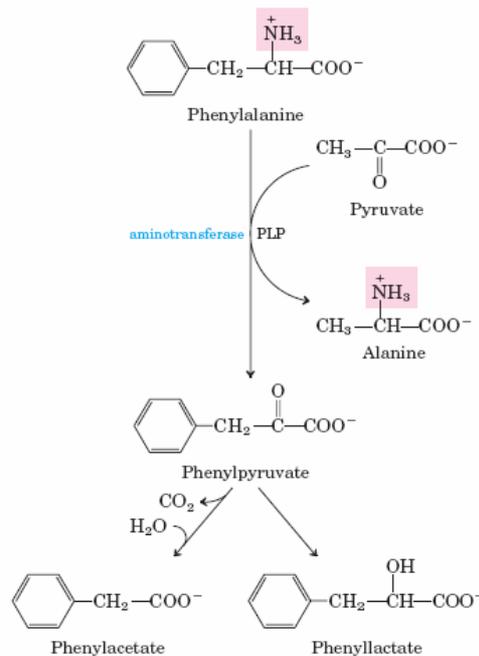


Figura 14: Vias alternativas para o catabolismo da Fenilalanina em Fenilcetonúria. Em PKU, fenilpiruvato acumula-se em tecidos, sangue e urina. A urina também pode conter fenilacetate e fenilactato.

Aminoácidos de cadeia ramificada não são degradados no fígado

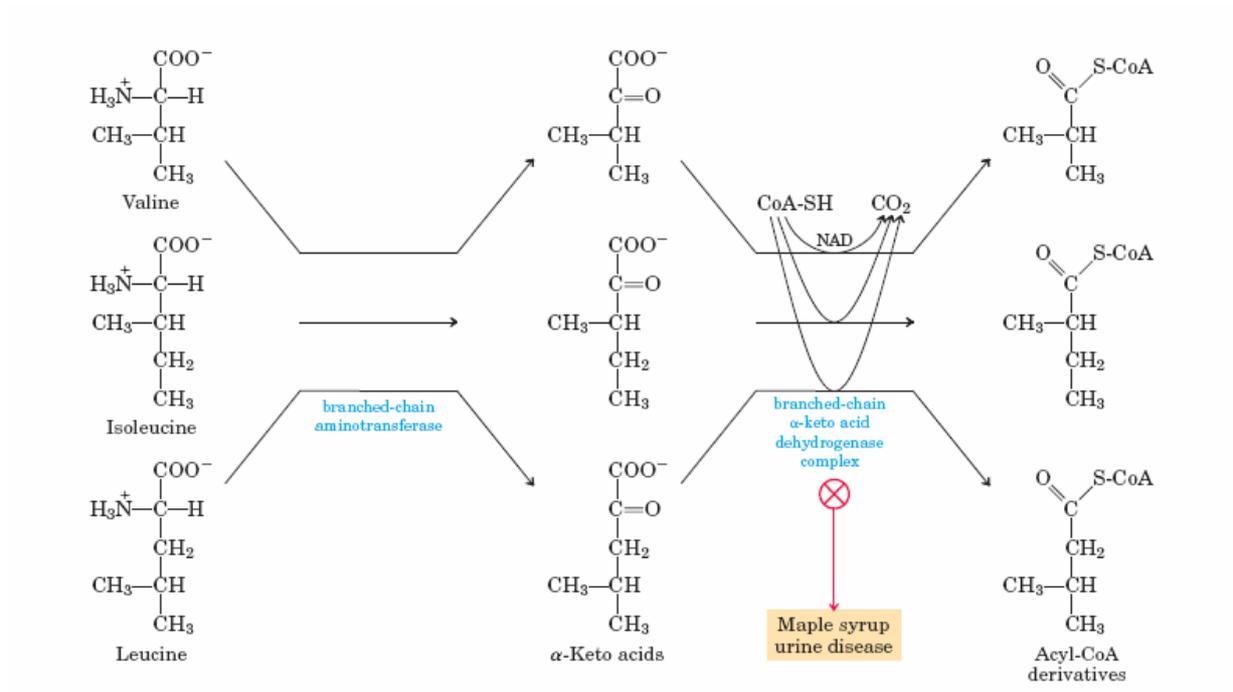


Figura 15: Vias catabólicas de três aminoácidos de cadeia ramificada: valina, isoleucina e leucina. As três vias, que ocorrem em tecidos extra-hepáticos, compartilham as primeiras duas enzimas, como mostrado aqui. O complexo desidrogenase de α-cetoácido de cadeia ramificada é análogo aos complexos da piruvato e α-cetoglutarato desidrogenase e exige os mesmos cinco co-fatores. Esta enzima é deficiente em pessoas com a doença da urina em xarope de bordo (**Maple syrup urine disease**).

