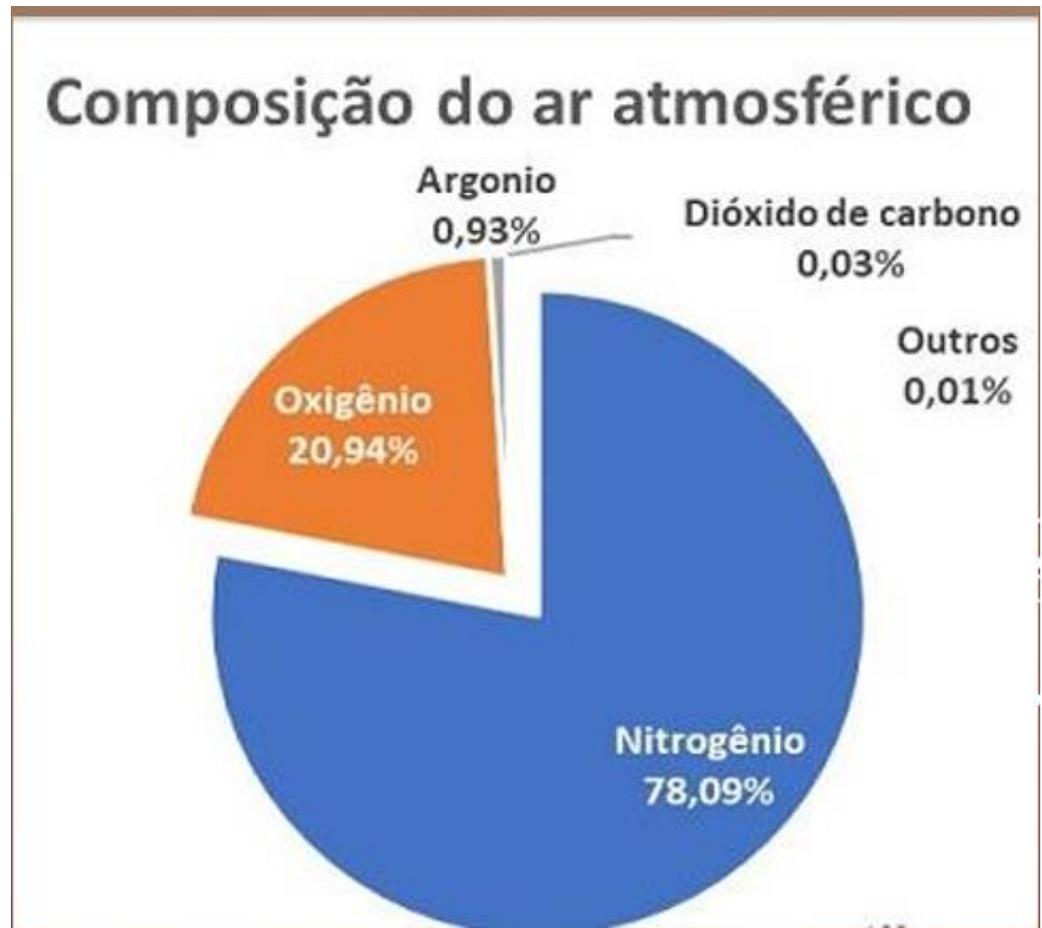


METABOLISMO DO NITROGÊNIO

Profa: Nubia Eloy

INTRODUÇÃO

- 4º elemento mais abundante na composição dos seres vivos - proteínas, ácidos nucleicos, vitaminas e outras moléculas orgânicas;
- Poucos organismos conseguem converter o N_2 em formas químicas úteis;
- O N_2 precisa ser fixado para produzir amônia (NH_4^+ ou NH_3), usada para a síntese de aminoácidos;

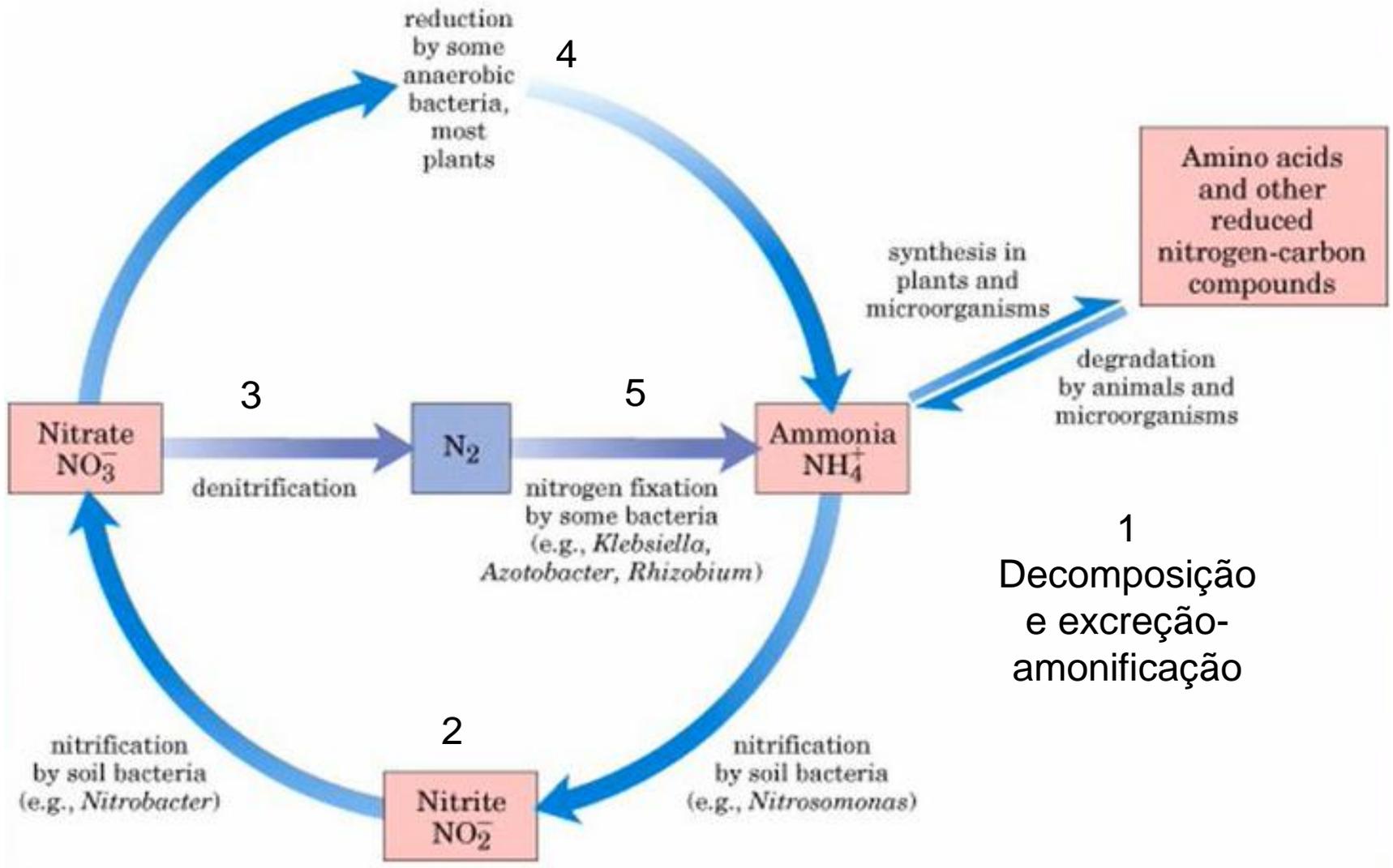


FIXAÇÃO DO NITROGÊNIO

Ciclo do Nitrogênio

- Fixação (redução) do N_2 atmosférico por bactérias específicas que produzem amônia (NH_3 ou NH_4^+);
- Oxidação da amônia em nitrito (NO_2^-) ou nitrato (NO_3^-) nitrificação;
- Vegetais e muitas bactérias reduzem o nitrato à amônia por meio de reações catalisadas pelas nitrato redutases - produção de aminoácidos;
- No processo de decomposição a amônia é devolvida ao solo, convertida em nitrito ou nitrato por bactérias nitrificantes;
- Por fim o nitrito ou nitrato é devolvido à atmosfera na forma de N_2 por bactérias anaeróbicas em um processo chamado de denitrificação;

CICLO DO NITROGÊNIO



PROCESSOS DE FIXAÇÃO DO NITROGÊNIO

- ✓ Não biológicos: relâmpagos (natural) ou processo de Haber-Bosch (industrial)
- ✓ Biológico: bactérias livres (Azotobacter) ou simbiontes com raízes de leguminosas (Rhizobium)
 - A tripla ligação N-N é muito estável e requer alta energia de ativação para ser rompida, além de condições específicas de temperatura e pressão;
 - A fixação biológica é realizada pelo complexo da nitrogenase e usa energia proveniente da hidrólise do ATP



1ª etapa:

Redução do nitrato em nitrito (citoplasma)



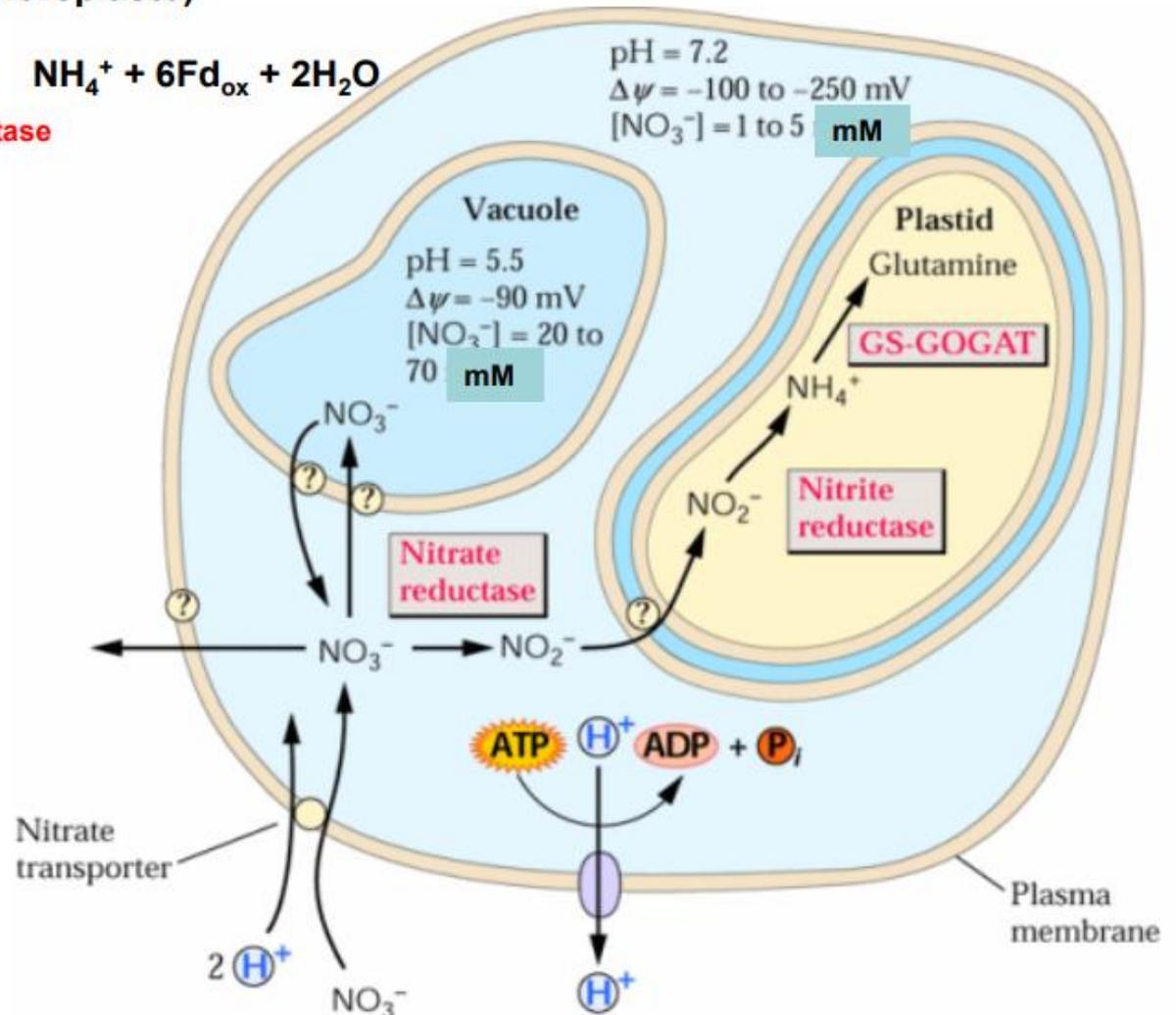
Nitrato redutase

2ª etapa:

Redução do nitrito em amônio (cloroplasto)

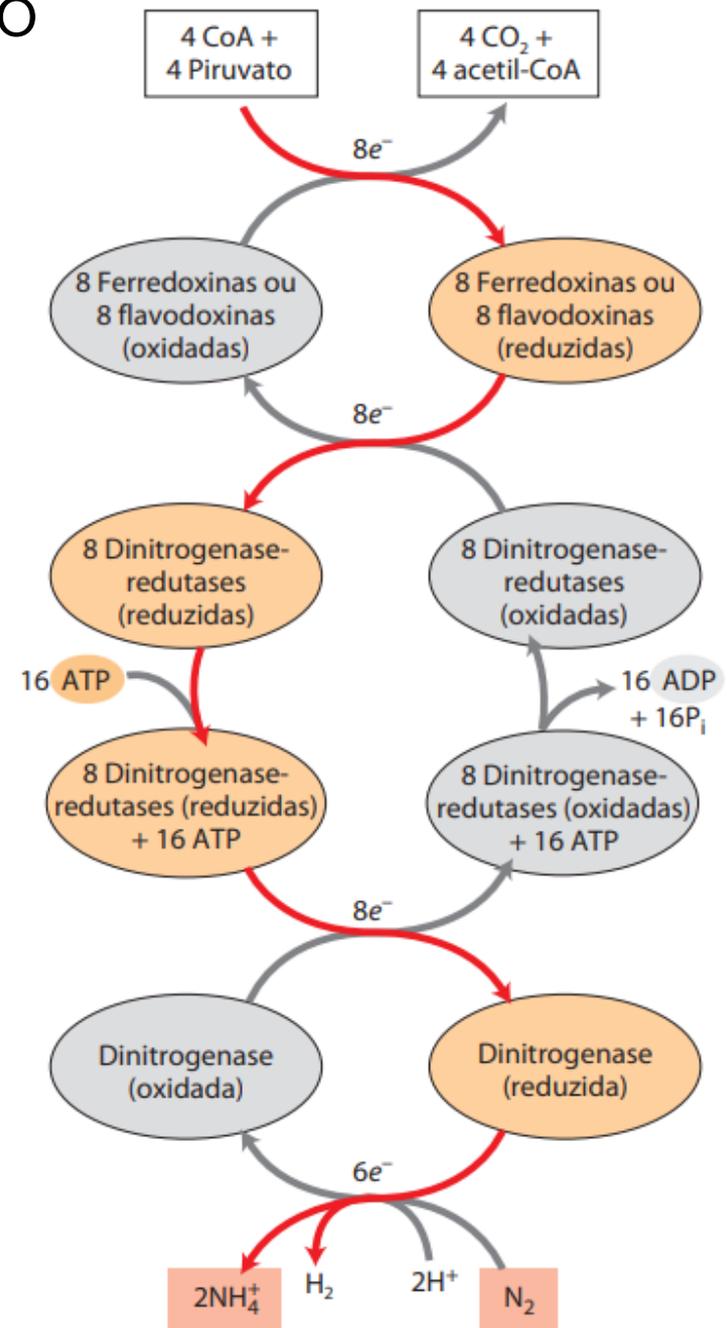


Nitrito redutase



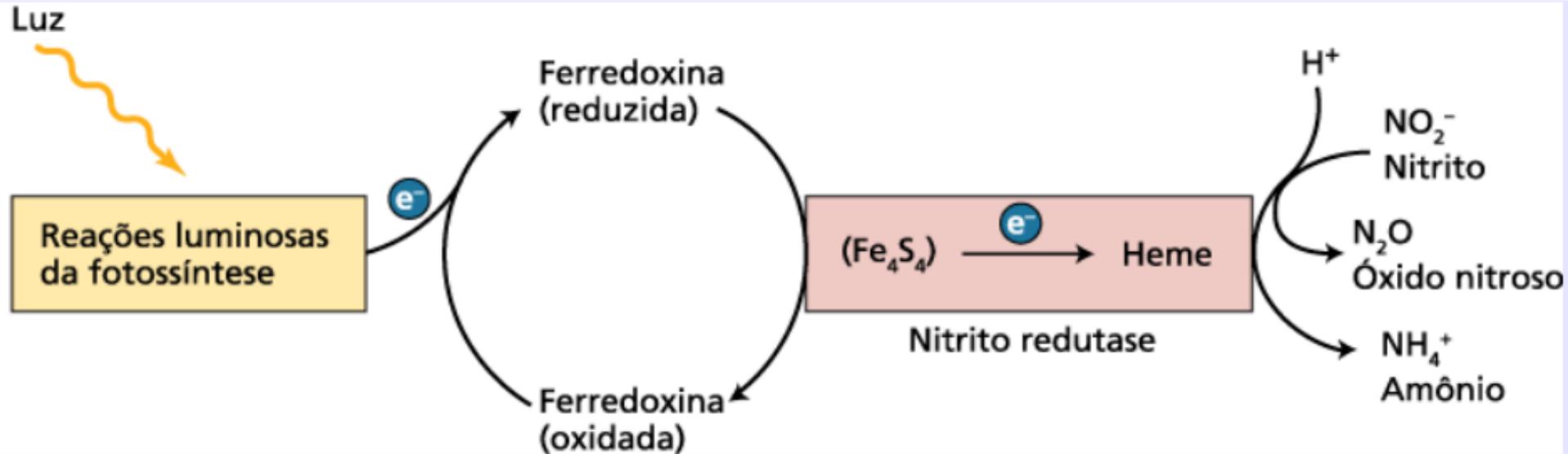
FIXAÇÃO DO NITROGÊNIO PELO COMPLEXO DA NITROGENASE

- Os elétrons são transferidos do piruvato para a denitrogenase através da ferredoxina e pela **denitrogenase redutase**;
- A denitrogenase é reduzida pela denitrogenase redutase através da transferência de pelo menos um elétron por vez;
- São necessários $6e^-$ para fixar uma molécula de N_2 e mais $2e^-$ para reduzir $2H^+$ a H_2 ;



O complexo da nitrogenase tem extrema labilidade –as enzimas são inativadas pelo oxigênio, ou seja, a fixação ocorre em meio anaeróbico;

NITRITO REDUTASE



Modelo do acoplamento do transporte fotossintético de elétrons, via ferredoxina, para a redução do nitrito, pela redutase do nitrito.

SIMBIOSE ENTRE BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO E RAÍZES DE LEGUMINOSAS

- As bactérias tem acesso a grande disponibilidade de energia proveniente dos carboidratos produzidos pela planta e fornecem a amônia necessária para a biossíntese de aminoácidos e outras moléculas;
- A planta produz leg-hemoglobina – uma proteína que capta o oxigênio presente no meio, tornando o ambiente ideal para a fixação do nitrogênio pelas bactérias.
- As bactérias vivem no interior das células do nódulo formado nas raízes das leguminosas;
- Essa associação simbiótica fornece 35 milhões de toneladas de N/ano;

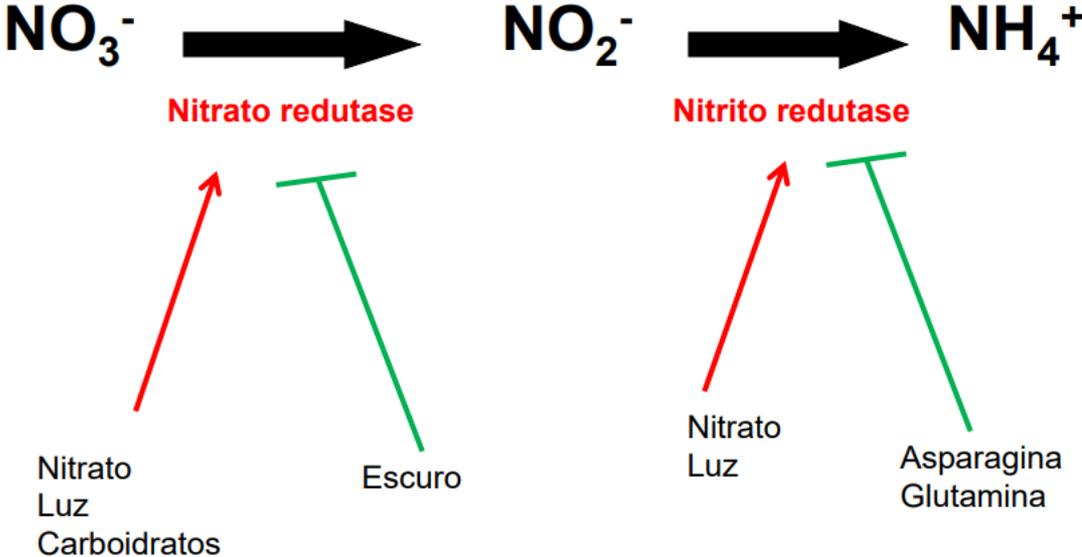


Rhizobium e *Bradyrhizobium* em raízes de soja



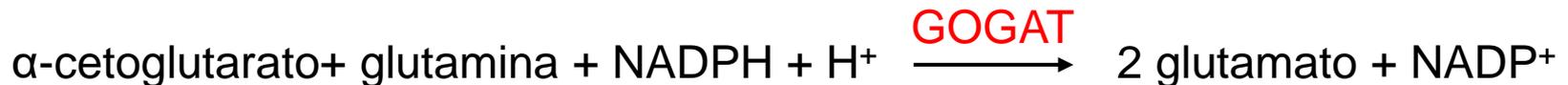
Bactérias fixadoras de nitrogênio formam nódulos em raízes de alfafa.

REGULAÇÃO

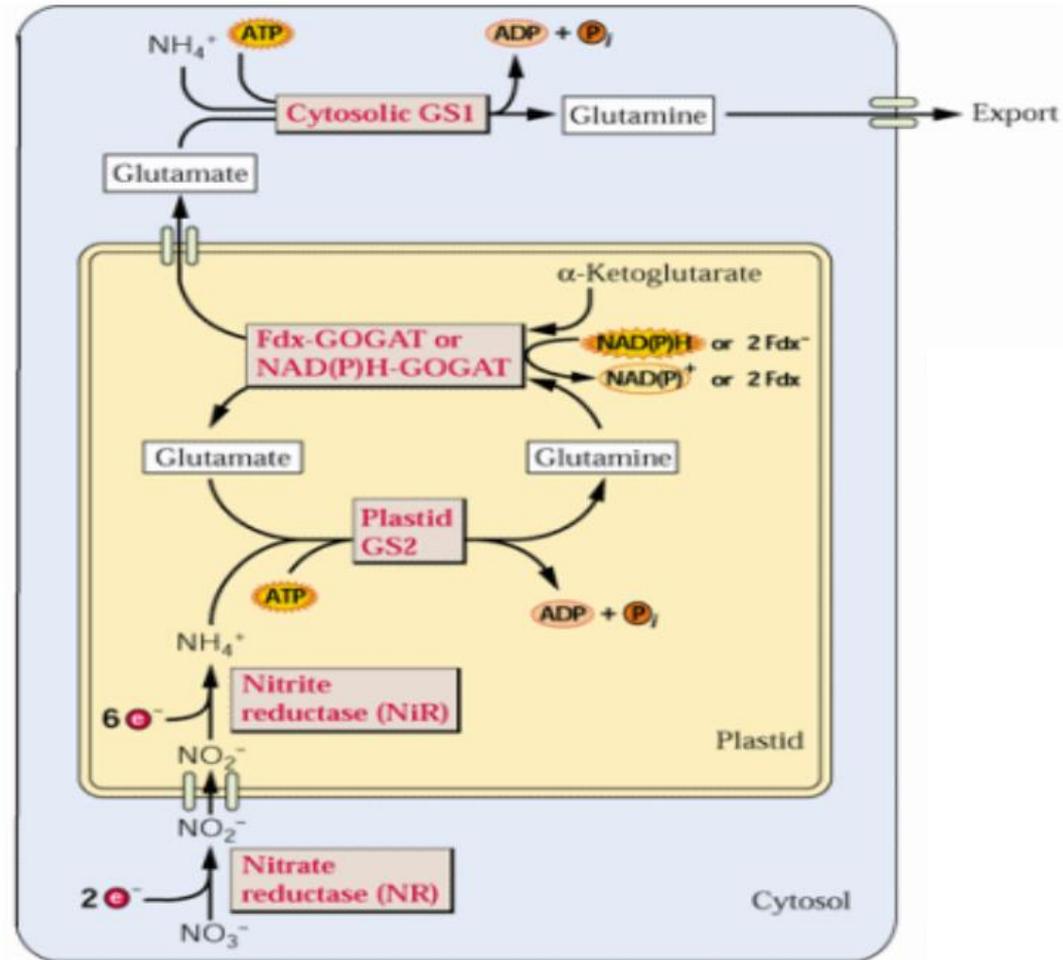
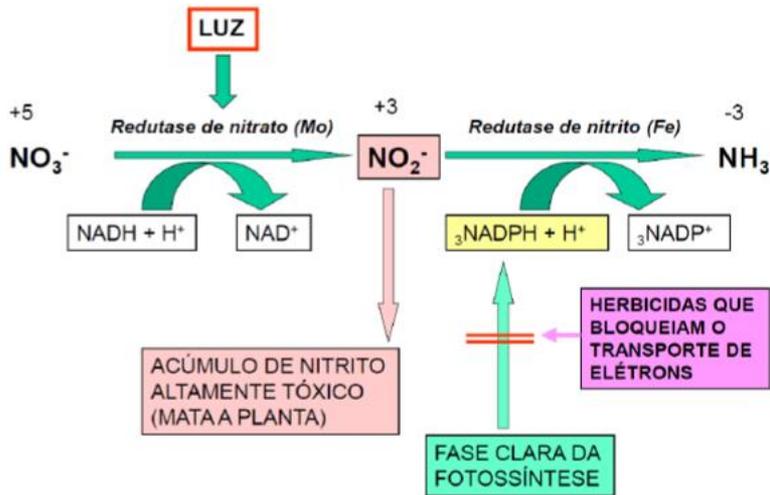


INCORPORAÇÃO DA AMÔNIA EM BIOMOLÉCULAS

- A amônia é primeiro assimilada em glutamato e glutamina;
- O grupo amino da maioria dos aminoácidos é derivado do glutamato;
- As vias biossintéticas até glutamato e glutamina parecem ser similares em todas as formas de vida;
- Enzimas envolvidas: Glutamina sintetase (GS) e Glutamato sintase (GOGAT);
glutamato:oxoglutarato-aminotransferase
glutamato desidrogenase (GDH)



SISTEMA GS-GOGAT E REDUÇÃO DO NITRATO



GS- glutamina sintetase: GS2- isoforma do cloroplasto, GS1- isoenzima do citoplasma; GOGAT- glutamato sintetase

A GOGAT do cloroplasto pode apresentar duas ou três isoformas, uma dependente da ferredoxina (Fdx) e outras recebendo elétrons do NADPH.

REGULAÇÃO DA GLUTAMINA SINTETASE

- Enzima chave no metabolismo do nitrogênio;
- A glutamina sintetase é regulada alostericamente pelo acúmulo dos seus produtos;

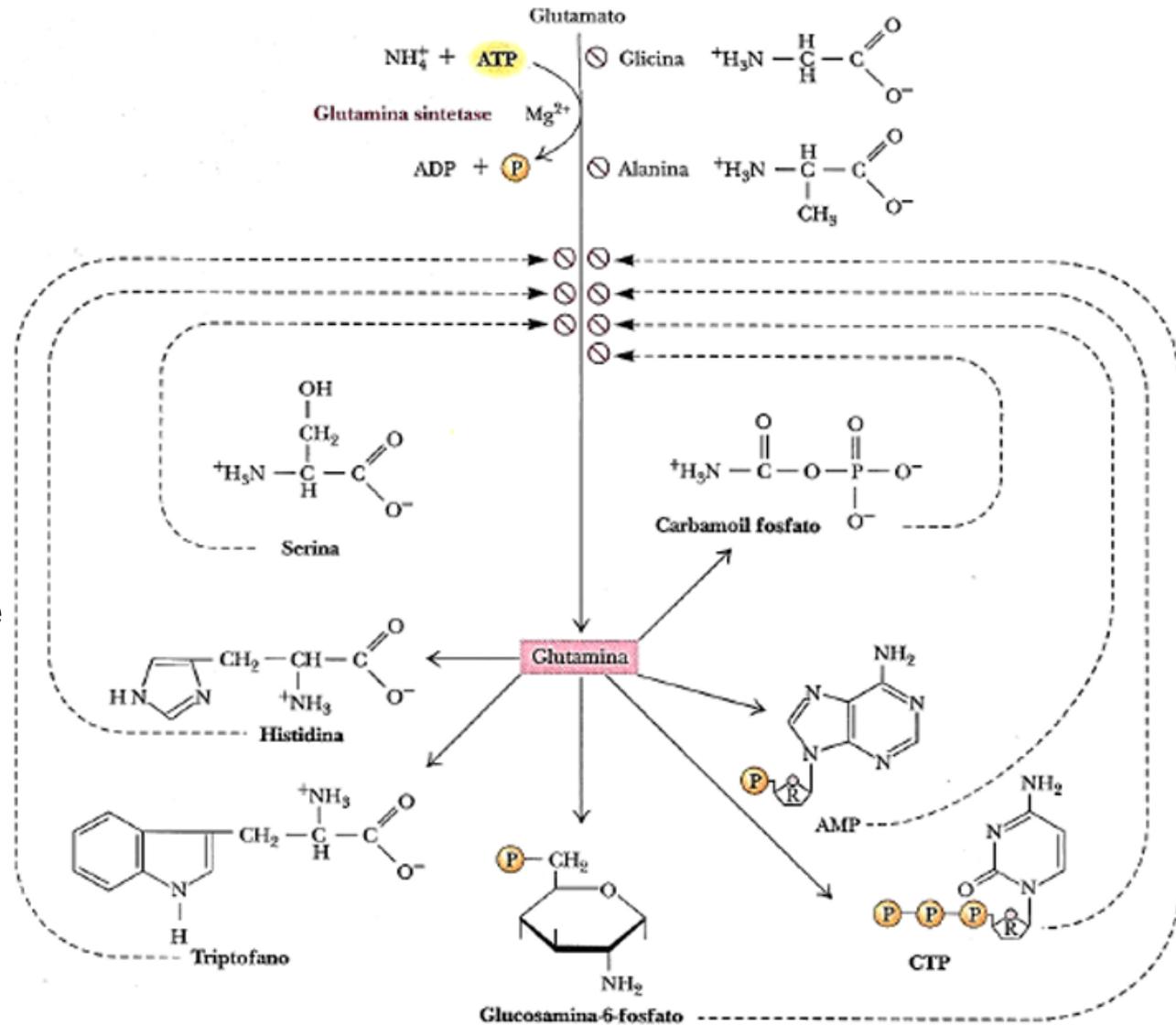


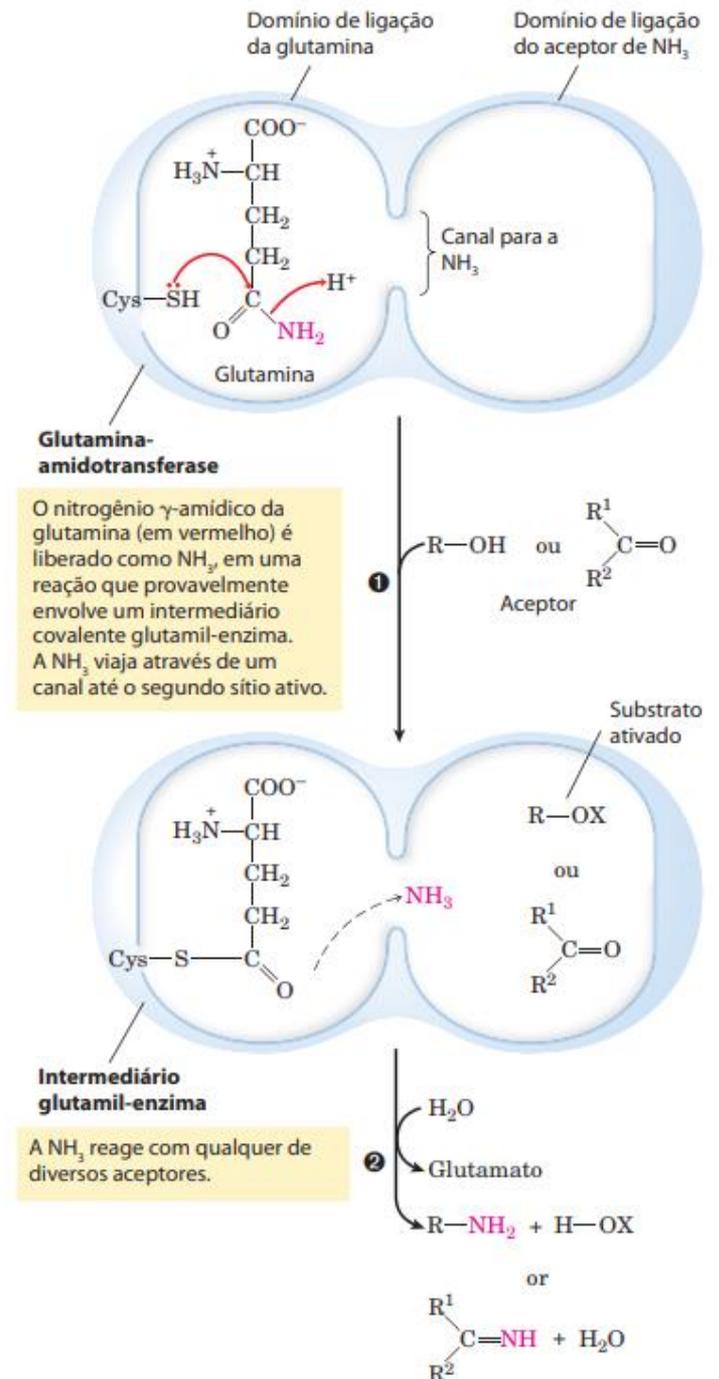
Figura 6. Regulação alostérica da atividade da glutamina sintetase realizada pela inibição por retroalimentação.

BIOSSÍNTESE DE AMINOÁCIDOS

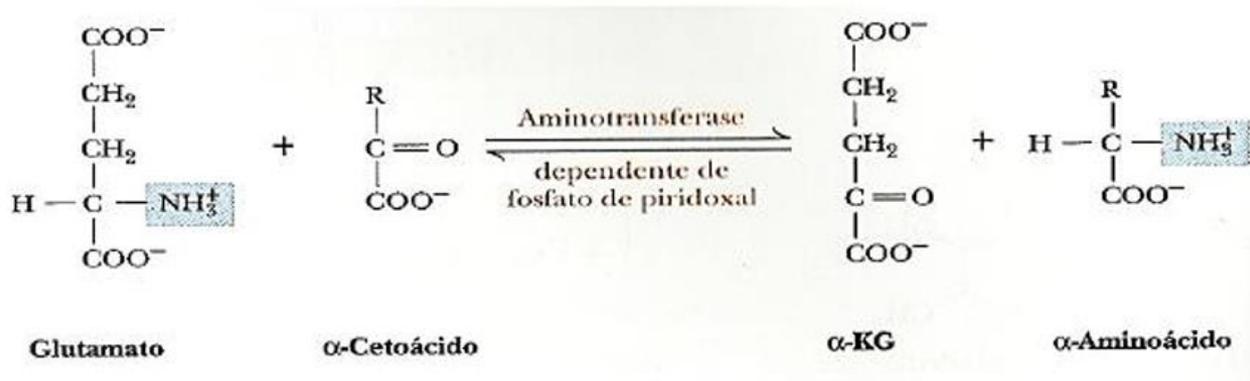
- Todos os aminoácidos são derivados de intermediários da glicólise, do ciclo do ácido cítrico ou da via das pentoses fosfato;
- O nitrogênio entra nestas vias através do glutamato ou da glutamina;
- Bactérias e vegetais podem sintetizar todos os 20 aminoácidos; os animais não.

BIOSSÍNTESE DE AMINOÁCIDOS

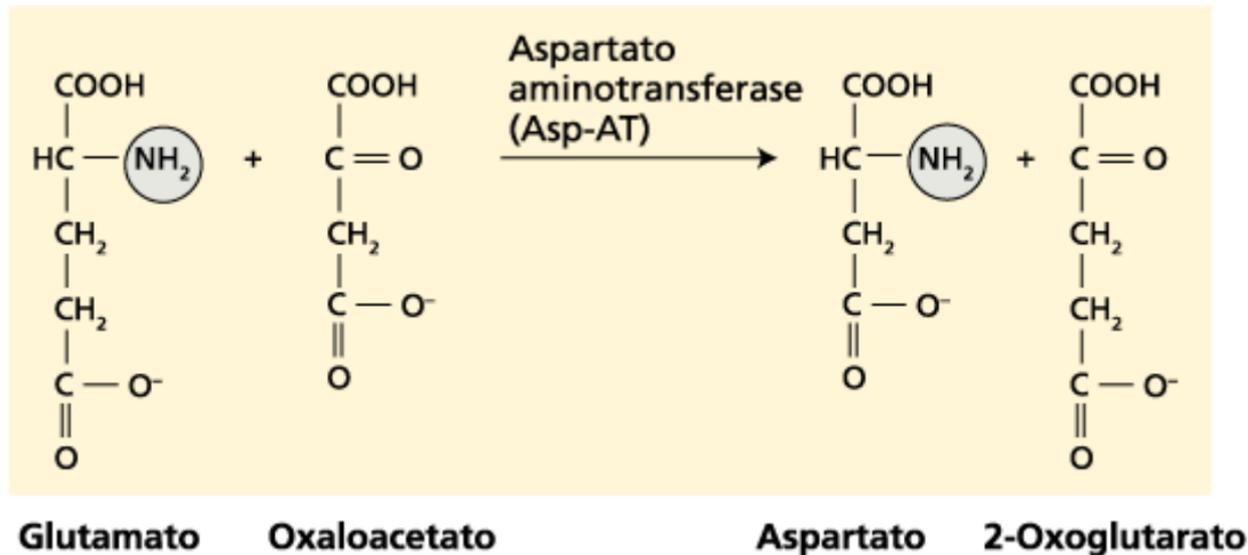
- Mecanismo proposto para a **glutamina aminotransferase**
- Grande parte das reações de biossíntese de produção de aminoácidos e nucleotídeos, tem como principal fonte de amônia a glutamina;



REAÇÕES DE TRANSAMINAÇÃO



Reação de transaminação de transferência de um grupo amina de um aminoácido para um α -cetoácido, caso geral.



Exemplo de transferência de grupo amina envolvendo um aminoácido específico, em que o outro para doador/aceptor é o aspartato e o oxalocetato

VISÃO GERAL DA BIOSÍNTESE DOS AMINOÁCIDOS

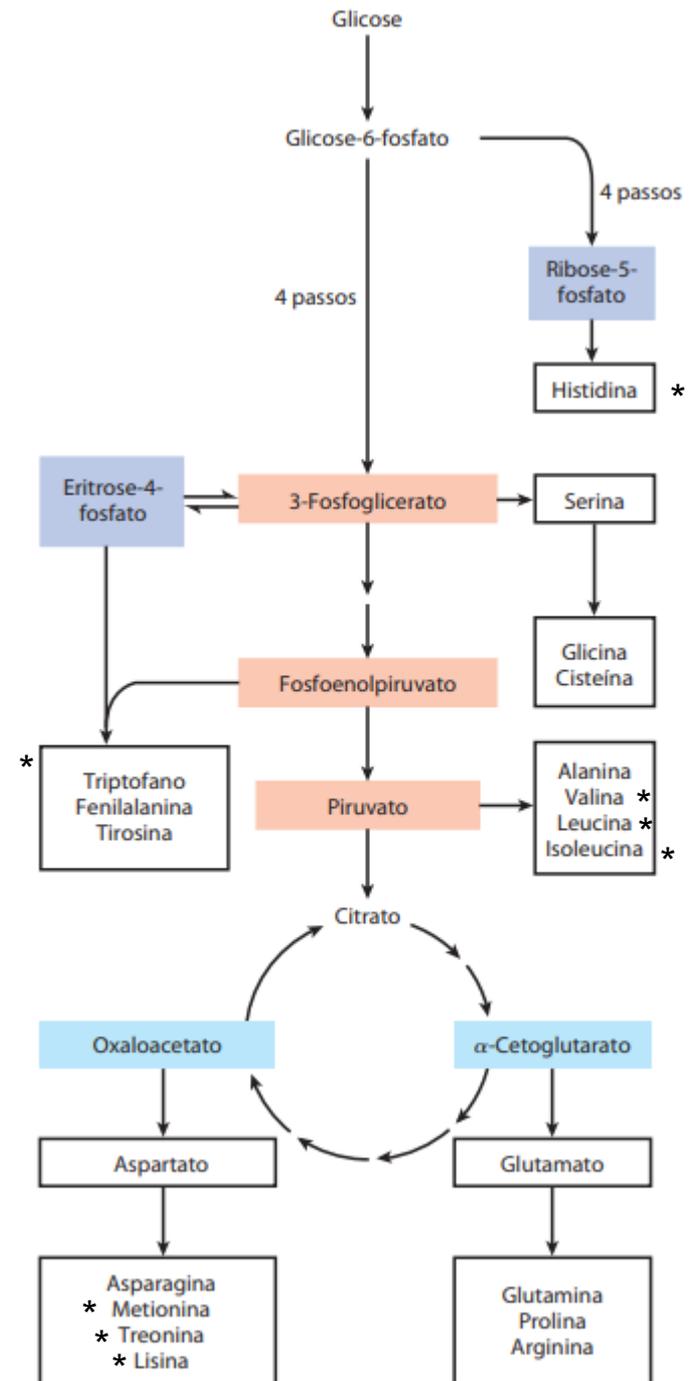


TABELA 22-1

Famílias biossintéticas dos aminoácidos, agrupadas de acordo com o precursor metabólico

 α -Cetoglutarato

Glutamato

Glutamina

Prolina

Arginina

3-Fosfoglicerato

Serina

Glicina

Cisteína

Oxaloacetato

Aspartato

Asparagina

Metionina*

Treonina*

Lisina*

Piruvato

Alanina

Valina*

Leucina*

Isoleucina*

Fosfoenolpiruvato e eritrose-4-fosfato

Triptofano*

Fenilalanina*

Tirosina[†]

Ribose-5-fosfato

Histidina*

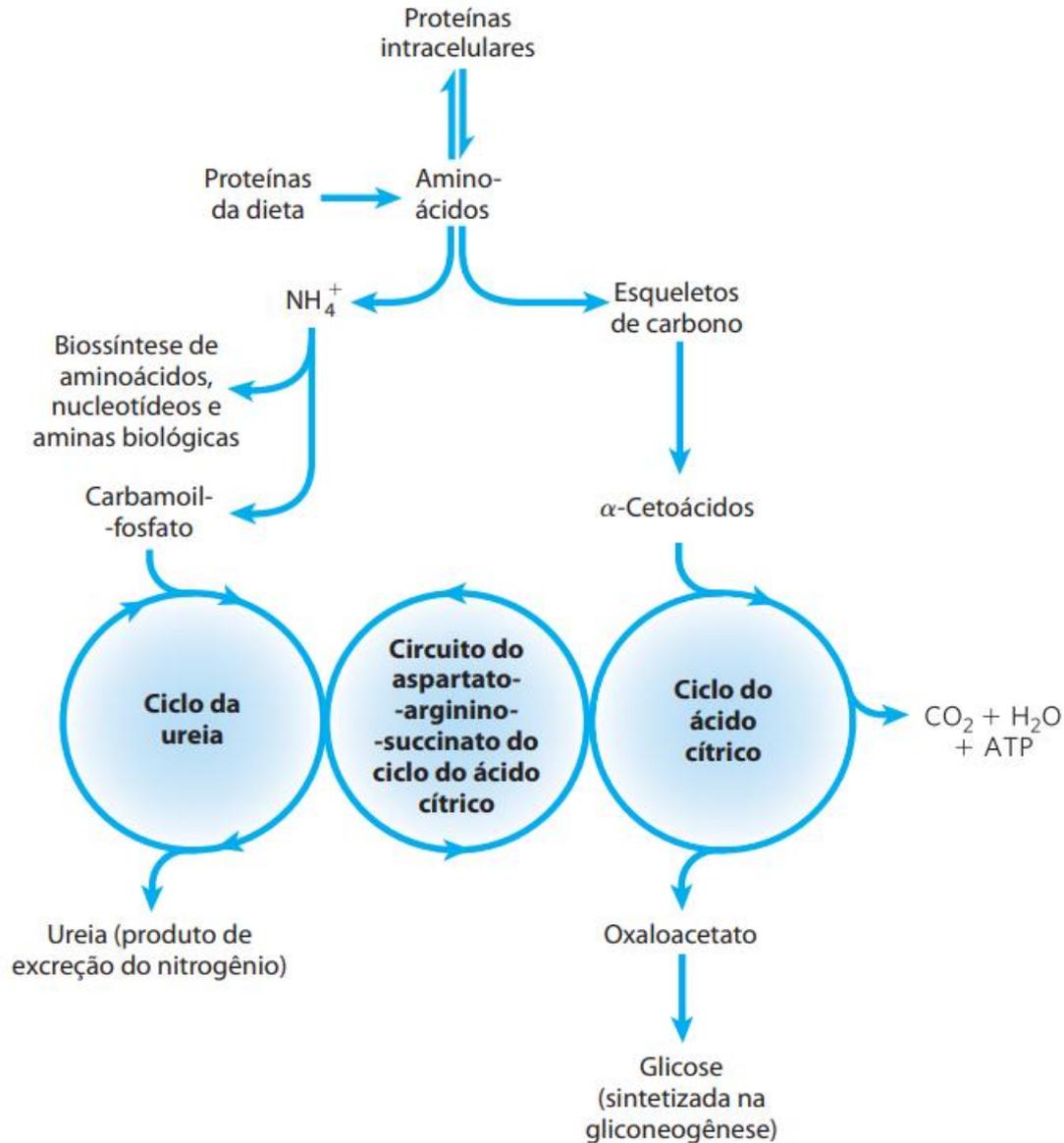
*Aminoácidos essenciais em mamíferos.

[†]Derivado da fenilalanina em mamíferos.

OXIDAÇÃO DOS AMINOÁCIDOS

- Sua degradação contribui para a geração de energia metabólica – mas esta fração de energia varia com o tipo de organismo e a demanda metabólica do mesmo;
- Os vegetais raramente obtém energia a partir da oxidação de aa;
- As reações de degradação convergem para as vias centrais do metabolismo de carbono;
- Cada via degradativa passa por um passo chave onde o grupo amino é separado do esqueleto carbônico, e desviado para uma via especializada que leva a excreção;

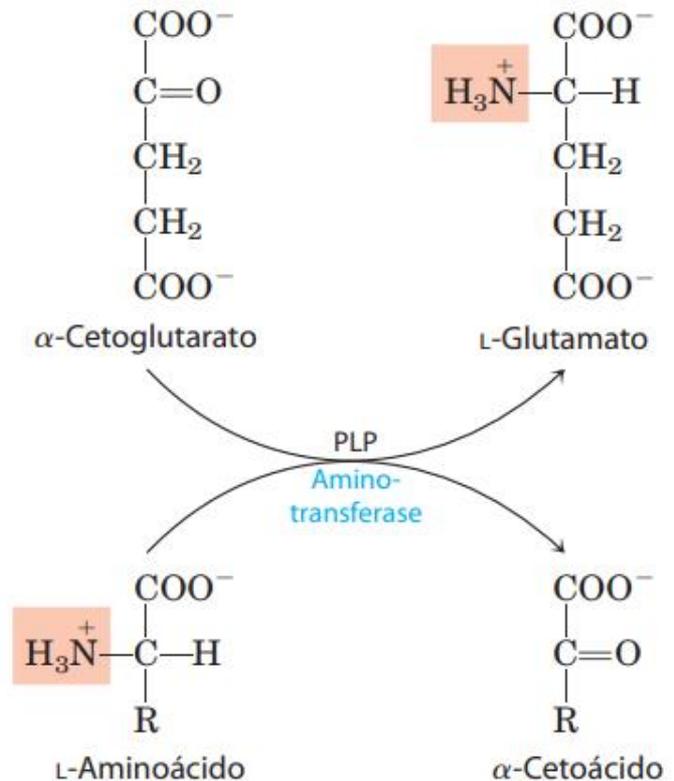
RESUMO DO CATABOLISMO DOS AMINOÁCIDOS



Visão geral do catabolismo dos aminoácidos nos mamíferos. Os grupos amina e os esqueletos de carbono tomam vias separadas, porém interconectadas.

REMOÇÃO DO GRUPO AMINO

- A primeira etapa do catabolismo da maioria dos aminoácidos é a remoção do grupo α -amino pelas enzimas aminotransferases ou transaminase - transaminação;
- Transaminação: o grupo α -amino é transferido para o carbono α do α -cetoglutarato, resultando no acetoácido análogo ao aminoácido;
- O objetivo é coletar o grupo α -amino de todos os aminoácidos para um único composto – glutamato;
- Todas as reações catalisadas por aminotransferases são livremente reversíveis;
- Todas as aminotransferases possuem um grupo prostético comum – piridoxal fosfato (PLP) ou vitamina B6.

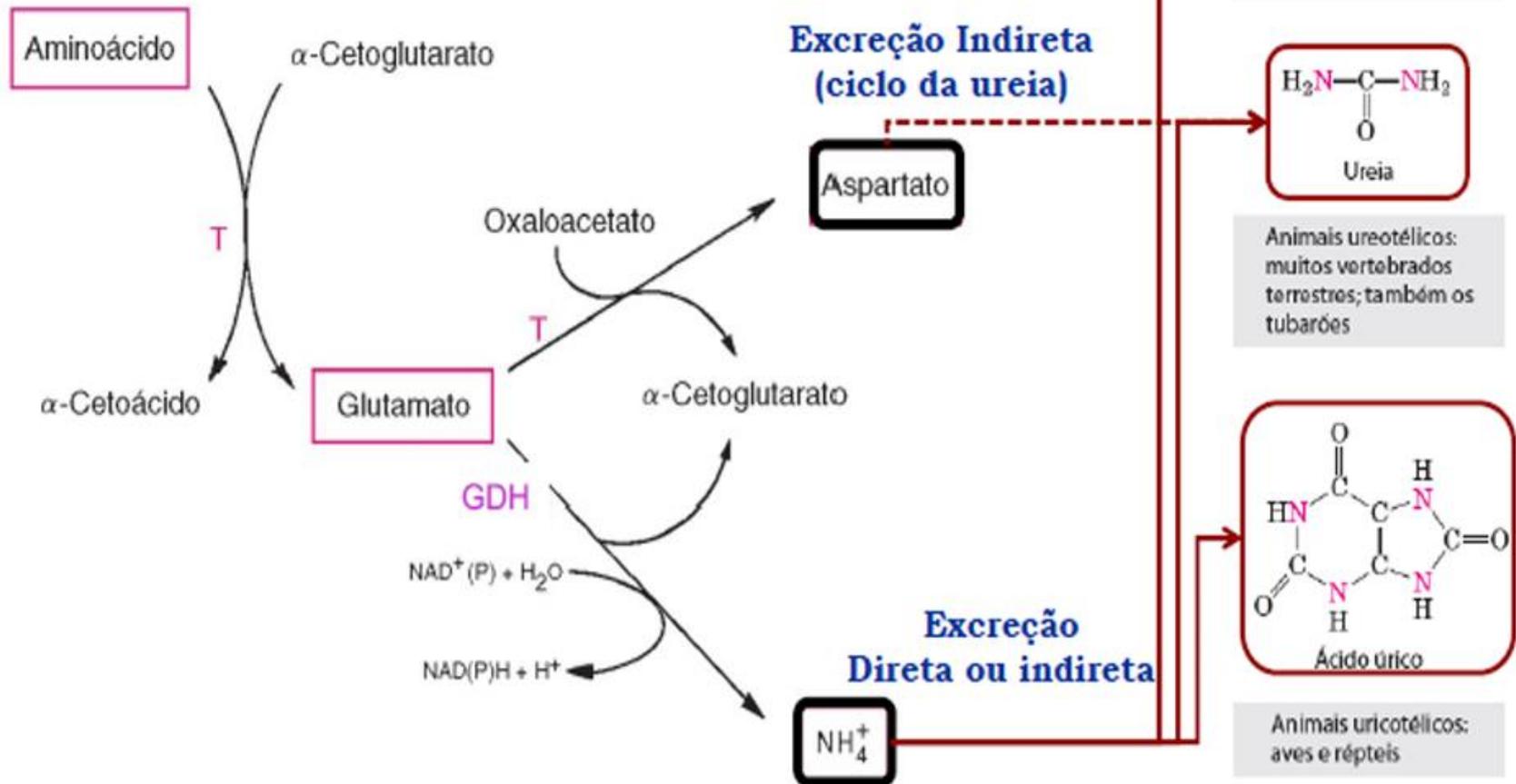


TRANSPORTE DE AMÔNIA NOS TECIDOS DE ANIMAIS

- A amônia é muito tóxica para os tecidos animais;
- Para ser transportada através do sangue de tecidos extra-hepáticos, a amônia é combinada com glutamato para liberar a glutamina, por meio da enzima glutamato sintetase;
- A glutamina é neutra, não-tóxica e atravessa facilmente as membranas, ao contrário do glutamato que tem carga líquida negativa;
- No interior da mitocôndria dos hepatócitos, a glutamina libera a amônia e o glutamato por meio da enzima glutaminase;

DESTINO DO GLUTAMATO NO HEPATÓCITO

A ação conjunta das transaminases (T) e da glutamato desidrogenase (GDH) permite canalizar o nitrogênio da maioria dos aminoácidos para dois compostos: Asp e NH_4^+ num processo chamado de transdeaminação.



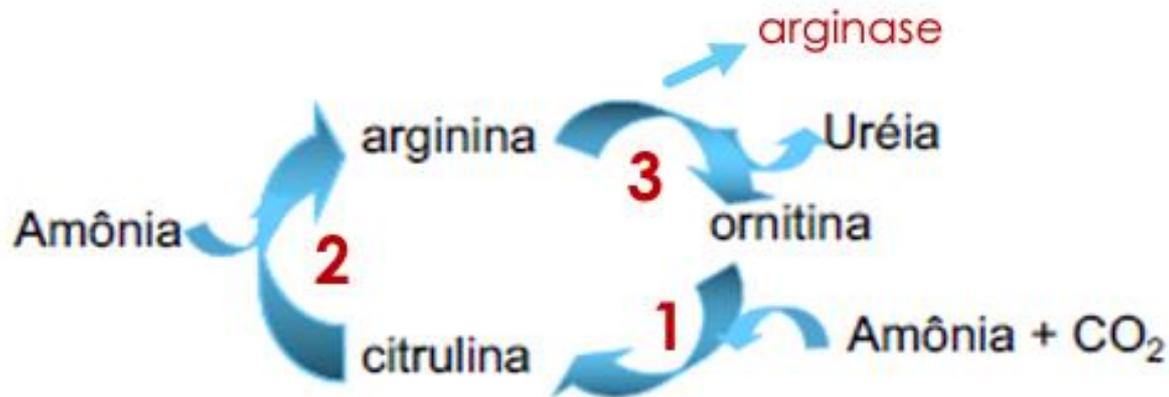
EXCREÇÃO DO NITROGÊNIO E CICLO DA URÉIA

- O nitrogênio pode ser excretado na forma de amônia, uréia e ácido úrico;
- Os vegetais reciclam praticamente todos os seus grupos amino. Não há via geral para a excreção do nitrogênio em vegetais;
- A amônia é convertida em uréia nas mitocôndrias dos hepatócitos por meio do ciclo da uréia;
- O ciclo da uréia foi descoberto por Hans Krebs e Kurt Henseleit em 1932;

CICLO DA URÉIA

- Uma molécula de ornitina se condensa com uma molécula de amônia e uma de CO_2 para formar a citrulina;
- Um segundo grupo amino é adicionado a citrulina para formar a arginina;
- A arginina é hidrolisada de forma irreversível em uréia e ornitina, pela enzima arginase;

A uréia formada é transportada pela corrente sanguínea para os rins, e depois excretada através da urina.



CICLO DA URÉIA

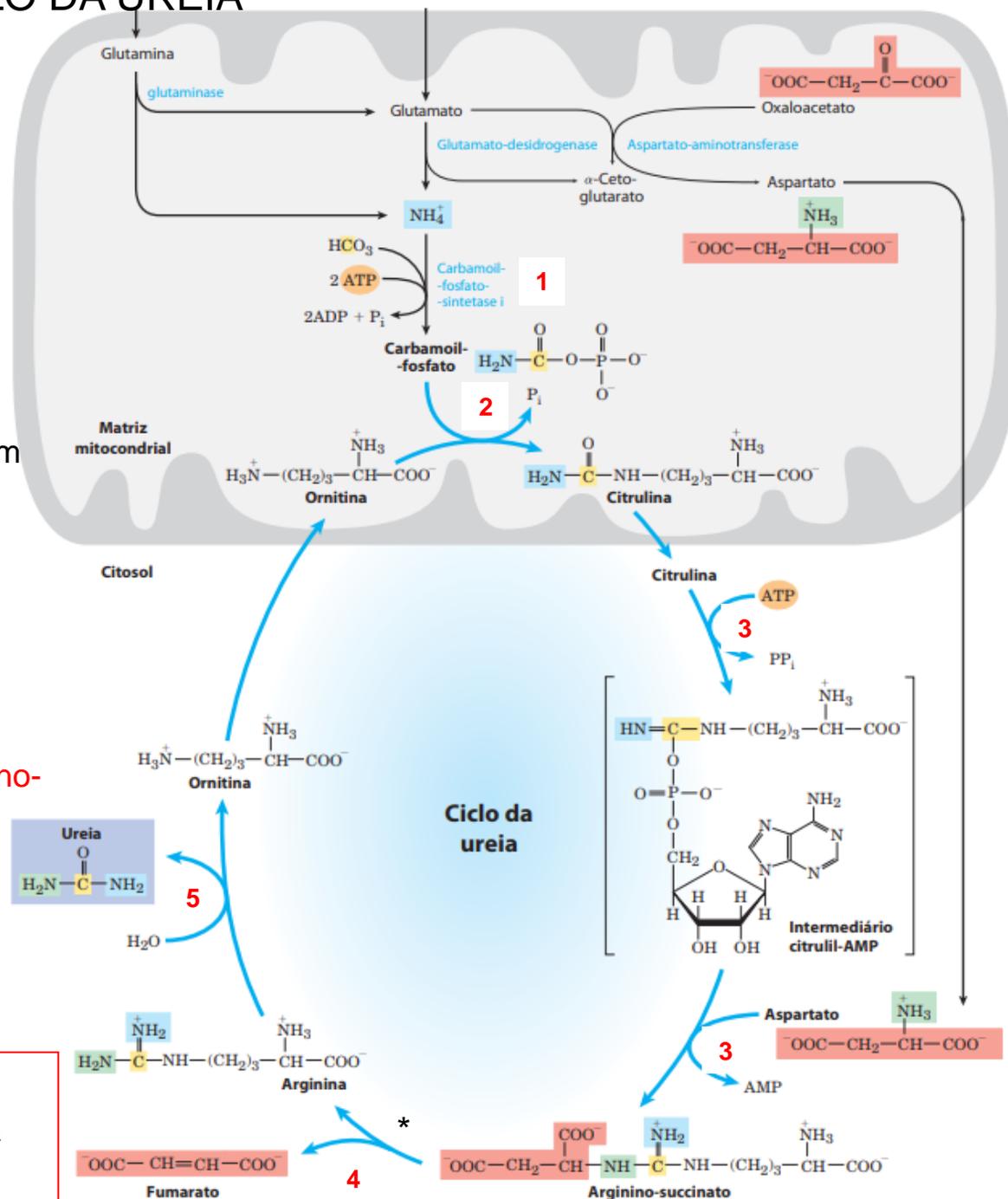
1ª reação: síntese do carbamoil-fosfato. Condensação do CO_2 com a amônia, utilizando ATP para formar carbamoil-fosfato. **carbamoil-fosfato sintase I**

2ª reação: carbamoil-fosfato mais ornitina formam a citrulina. Transferência do grupo carbamoil-fosfato para a ornitina, formando citrulina. **L-ornitina transcarbamoilase**

3ª reação: citrulina mais aspartato formam argino-succinato. O aspartato é ligado à citrulina, via aminogruppo do aspartato, e fornece o segundo nitrogênio. **Argino-succinato sintase**

4ª reação: clivagem do argino-succinato forma arginina e fumarato - retém nitrogênio no produto arginina e libera o esqueleto aspartato como fumarato. **Argino-succinase**

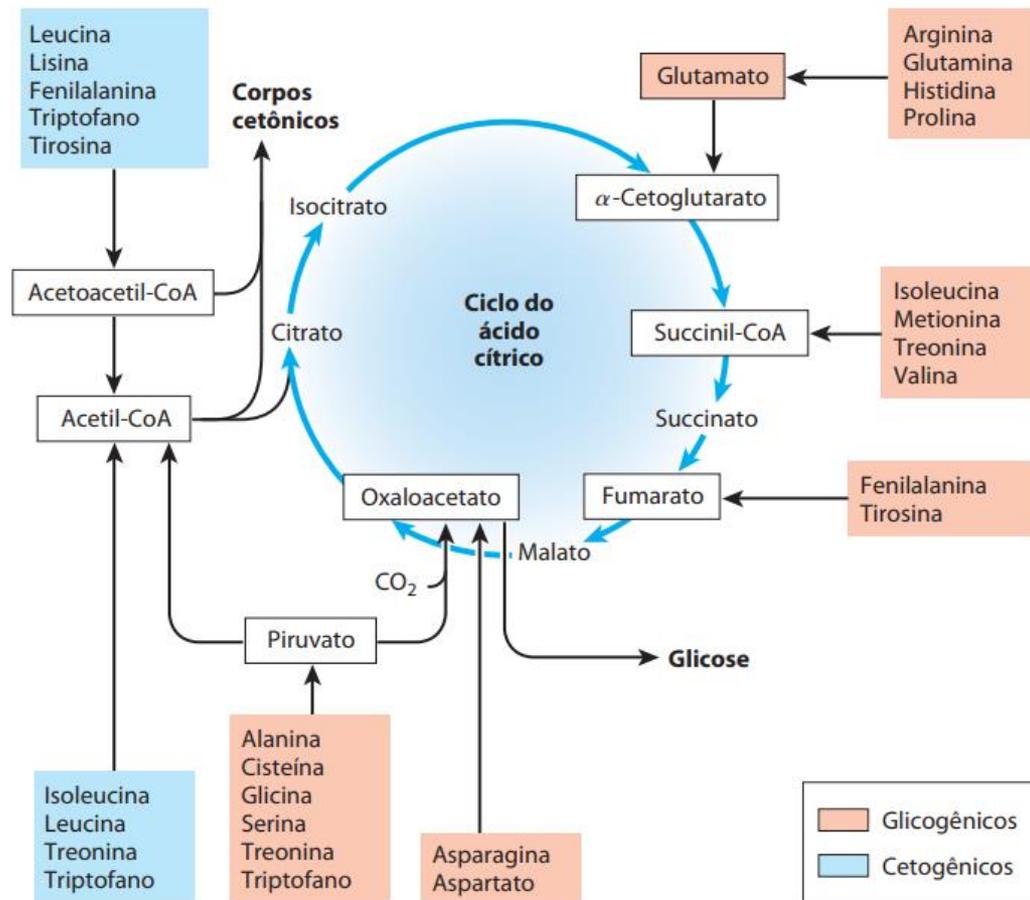
5ª reação: clivagem da arginina libera uréia e regenera ornitina - clivagem hidrolítica do grupo guanidino da arginina. **Arginase** hepática.



As enzimas que catalisam estas reações estão distribuídas entre a mitocôndria e o citosol

VIAS DE DEGRADAÇÃO DOS AMINOÁCIDOS

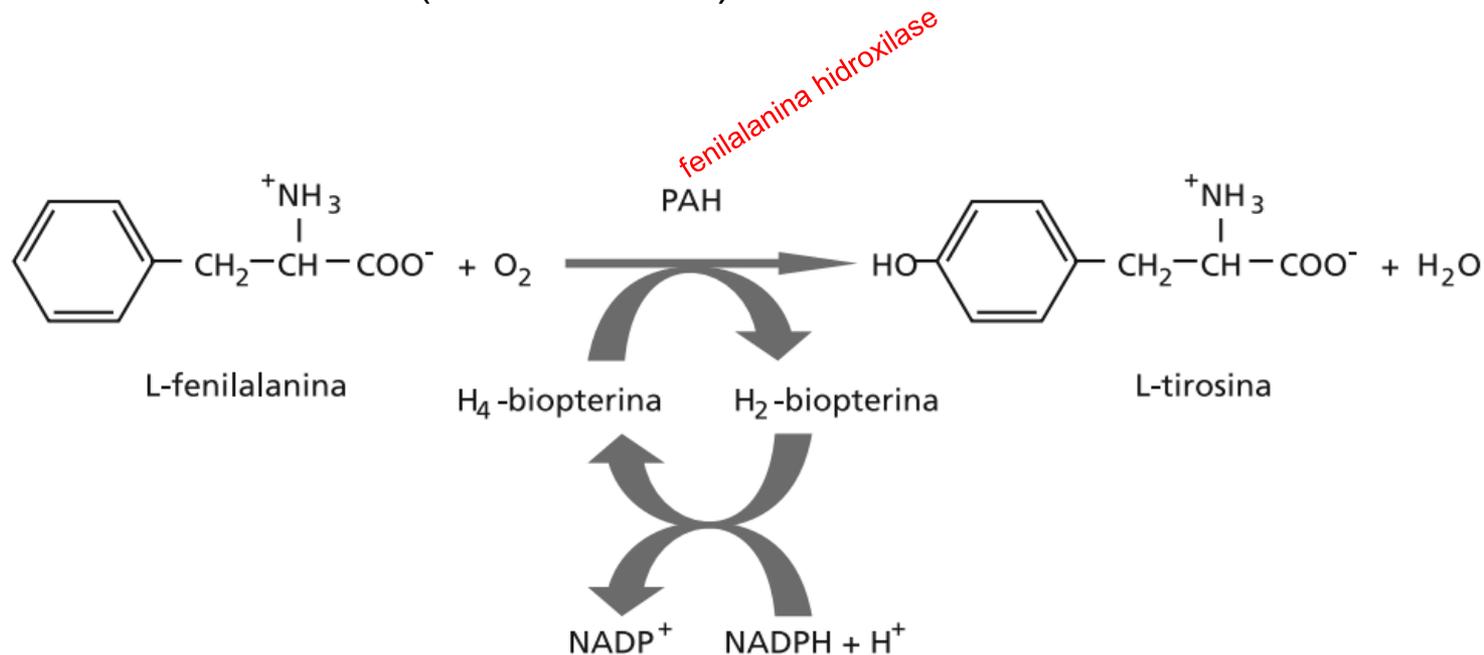
- Existem 20 vias catabólicas diferentes para a degradação de cada aminoácido primário;
- Todas as vias convergem para formar apenas cinco produtos que entram no ciclo do ácido cítrico – acetil-CoA, α -cetogluturato, succinil-CoA, fumarato e oxaloacetato;



DEFEITO GENÉTICO QUE AFETA O CATABOLISMO DE AMINOÁCIDOS

Teste do pézinho:

- Determinação da fenilalanina no sangue
- Ocorre em 8 a cada 100 mil nascimentos
- Acúmulo de fenilalanina (fenilcetonúria) causa retardamento na infância



BICICLETA DE KREBS

- O ciclo de Krebs e o ciclo da uréia se conectam pela ligação com aspartato argino-succinato;
- O fumarato produzido no citosol pela arginosuccinato liase do ciclo da uréia entra no ciclo de Krebs na mitocôndria, e é convertido em oxaloacetato;
- O oxaloacetato recebe um grupo amino do glutamato e forma aspartato que deixa a mitocôndria, e entrega o grupo amino para o ciclo da uréia na reação da arginosuccinato sintetase;

