

GLUTAMATO ASPECTOS BIOQUÍMICOS

*Teresa Blanco de Alvarado-Ortiz
Alexandra Cucufate Petrushina*

1. INTRODUÇÃO

A bioquímica é uma ciência relativamente nova. Fundamentada nos avanços gerados pela química e a biologia em meados do século XIX, nasce como ciência no século XX, e se desenvolve como uma atividade mais frutífera e útil por seus avanços em nutrição, medicina, farmácia, agricultura e indústria. Estuda os componentes químicos do ser vivo, em particular do homem, e as diferentes mudanças que sofrem em um esquema que chamamos de metabolismo. Este último, entendido como o conjunto de modificações que se produzem nos componentes químicos do ser vivo para garantir suas funções, crescimento, desenvolvimento, nutrição, reprodução, movimentação e outras. Por isso, escrever sobre a bioquímica do glutamato significa colocá-lo nesse esquema metabólico, com a importância que possui para garantir uma fisiologia sã e produtiva em qualquer ser vivo, desde uma bactéria até o homem.

O glutamato, por ser um aminoácido proteico, é incorporado no estudo das proteínas, moléculas que compartilham tanto um papel estrutural como constituintes de órgãos fundamentais (músculo, fígado, pele, tecido conectivo etc.), como um papel especial nas funções vitais, sendo componente de enzimas

digestivas e celulares, hormônios que regulam o metabolismo, anticorpos que nos defendem contra bactérias, vírus e outros.

Assim, o estudo das proteínas compreende áreas variadas como: o ciclo do nitrogênio; síntese de compostos orgânicos nitrogenados; síntese de enzimas digestivas proteolíticas; avaliação da quantidade e qualidade da proteína da dieta, determinação do balanço nitrogenado; substituição, vida média e valor biológico das proteínas; vias metabólicas envolvidas na utilização do esqueleto de carbono dos aminoácidos para produzir energia; mecanismos através dos quais os organismos liberam produtos tóxicos derivados do catabolismo do nitrogênio; transporte de aminoácidos; requerimentos proteicos; aminoácidos essenciais e não essenciais e a biossíntese deles. Tudo isso ajuda a entender o estudo da bioquímica do glutamato.

Sobre a qualidade dos 20 aminoácidos usuais da dieta, Rose (1938) estabeleceu o conceito de aminoácido essencial, ou indispensável, para 8 deles e não essencial para os 12 restantes. Essa classificação tem como base o fato de que o homem sintetiza os não essenciais através de vias metabólicas curtas, utilizando poucas enzimas, e a partir de restos ou resíduos de outros aminoácidos ou intermediários do metabolismo de hidrocarbonetos. Os aminoácidos essenciais, por requererem muitas enzimas e grandes vias metabólicas, não são sintetizados e devem ser consumidos diariamente.

Outros autores no campo da nutrição (Mataix & Navas, 2005; Byrd-Bredbenner *et al.*, 2009) apresentam a classificação que Rose (1938) estabeleceu como pouco afortunada, pois induz a uma investigação que enfoca muito mais aminoácidos essenciais, ao poder ser interpretada de que o “não essencial” é sinônimo de “pouco importante”. No entanto, a importância de cada um dos aminoácidos não essenciais pode ser resumida conforme a seguir:

- Alanina: intervém no metabolismo da glicose.
- Arginina: participa principalmente da conservação do equilíbrio de N_2 e de CO_2 , no ciclo da ureia, na produção do hormônio de crescimento e está envolvida no crescimento de tecidos, músculos, manutenção e reparação do sistema imunológico.
- Asparagina: comprometida com processos metabólicos do sistema nervoso central.
- Ácido aspártico: participa de processos desintoxicação hepática já que, com outros aminoácidos, forma moléculas capazes de absorver toxinas

da corrente sanguínea. Através de reações de transaminação com cetoácidos, forma aminoácidos para a síntese de proteínas.

- Cistina: participa de atividades desintoxicantes formando derivados mercaptúricos; participa também na conversão de cianetos em tiocianatos. Intervém na síntese da insulina.
- Cisteína: junto à L-cistina, trabalha na desintoxicação, como antagonista de radicais livres. Intervém para manter o cabelo saudável, por seu conteúdo em enxofre.
- Tirosina: é um neurotransmissor direto, trabalhando em combinação com outros aminoácidos.
- Prolina: determinante na formação de colágeno no tecido conjuntivo, na reparação e manutenção do sistema muscular e dos ossos.
- Glicina: componente de numerosos tecidos, estruturalmente o menor dos aminoácidos, por isso participa da formação de diversos compostos nitrogenados.
- Glutamina: intervém em numerosas reações, como prover de glicose as células do cérebro.
- Glutamato: é um nutriente estrutural na formação de centenas de proteínas; substrato doador de energia; é uma molécula excitatória e também participa como regulador enzimático.

Por isso, resulta apropriado que importantes textos como Champe *et al.* (2004) e Villavicencio (2007) valorizem os aminoácidos não essenciais. Mais ainda, Reeds *et al.* (1996), destacam que 12 dos 20 aminoácidos, justamente os não essenciais, são necessários, indispensáveis; conseqüentemente, o homem deve sintetizá-los a partir de precursores orgânicos e restos de outros aminoácidos, todos de indiscutível importância.

2. METABOLISMO DO GLUTAMATO: GENERALIDADES

Mathews & Van Holde (2000) escreveram em seu livro de Bioquímica:

[...] o glutamato é talvez o mais ativo de todos os aminoácidos quanto ao número de suas funções metabólicas.

Coincide com isso o expresso por Vernon & Ajami (2000):

[...] poucas moléculas de importância biológica parecem ter tantos papéis nas funções do corpo como o glutamato livre; é agente que dá sabor à comida, combustível

metabólico no trato gastrointestinal, aminoácido constituinte de proteínas, esqueleto de carbono que dá energia especialmente à placenta e ao enterócito, participante na desintoxicação da amônia hepática, neurotransmissor no cérebro, entre outras funções.

O glutamato é crucial pelos seguintes motivos:

- a) É uma molécula chave na geração da percepção do gosto umami em dezenas de alimentos industrializados, como sopas, caldos, linguiças, molho de tomate, conservas de peixe, biscoitos, temperos, alimentos preparados, visto que na forma de aminoácido livre é utilizado como aditivo alimentar, codificado de acordo com o *Codex alimentarius* (Codex, 1999) como E621. É obtido por biotecnologia, a partir da glicose obtida da hidrólise de sacarose da cana-de-açúcar, ou outras fontes vegetais ricas em amido. Estima-se que o consumo médio do aminoácido livre como aditivo na dieta possa variar entre 0,5 e 2 g por dia.
- b) É uma molécula chave na geração da percepção do gosto umami nos alimentos que contêm naturalmente o aminoácido na sua forma livre, ou que liberam glutamato por processos como a fermentação. Nesses casos, o glutamato aumenta em concentração, pois é o resultado da hidrólise de proteínas ocasionada por proteases de micro-organismos adicionados, como no queijo parmesão, molho de soja (*sillao*) ou de peixe (*garum*), *tocosh* de batata (alimento tradicional andino preparado a partir da polpa de batata fermentada), entre outros. Na Tabela 4.1 é apresentado o conteúdo de glutamato livre em alguns alimentos, de acordo com as tabelas de Composição Padrão de Alimentos Japoneses (*Science and Technology Agency of Japan*, 1986) e a Composição de Aminoácidos em Alimentos da FAO (1981).

Tabela 4.1 – Glutamato livre em alimentos (expresso em mg/100 g)

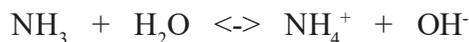
Alimento	Alimento	Alimento			
Tomate maduro	246	Alho	99	Leite de vaca	2
Batata	180	Brócolis	30	Leite materno humano	22
Couve	50	Acelga	94	Queijo Cheddar	182
Alface	46	Aspargos	49	Carne de vaca	33
Couve-flor	46			Carne de porco	23

Fonte: *Science and Technology Agency of Japan* (1986); FAO (1981).

- c) Pode-se encontrar como aminoácido livre ao se consumir certos alimentos submetidos à degradação parcial de suas proteínas, assim como na maturação de alguns vegetais como tomate, lentilhas, brócolis, cogumelos, aspargos, batatas, alho e couve (Ninomiya, 1998).
- d) Como aminoácido que compõe a estrutura de proteínas da dieta. Segundo a FAO (1981), o consumo diário de proteínas deve variar entre 0,8 a 1 g/kg p.c. Essas proteínas são digeridas até liberar aminoácidos, sendo que o glutamato e o aspartato são os que estão em maior proporção na maioria dos alimentos.

No organismo, o glutamato cumpre um papel central no metabolismo de aminoácidos, sendo o único aminoácido sintetizado completamente a partir do íon amônio (NH_4^+) produzido por plantas e bactérias através da aminação do α -cetoglutarato, convertendo o N_2 de sua forma inorgânica (íon amônio) para uma forma orgânica (α -amino).

A amônia (NH_3) e o íon amônio (NH_4^+) são compostos nitrogenados diferentes, mas altamente inter-relacionados. O fator determinante na proporção de cada uma dessas espécies na água é o pH, embora a força iônica e a temperatura também influenciem. A equação química que orienta a relação entre amônia e íon amônio é apresentada a seguir:



Quando o pH está baixo, o equilíbrio da reação muda para a direita e quando o pH está alto, ele vai para a esquerda.

Além disso, o glutamato cumpre outras funções básicas, tais como:

- Ser o único aminoácido no homem e mamíferos que se desamina a uma velocidade considerável.
- Intervém na produção da ureia no fígado, cumprindo várias funções.
- Ser um participante obrigatoriamente das reações de transaminação na síntese de aminoácidos não essenciais.
- Ser precursor dos aminoácidos não essenciais proteicos: glutamina e prolina; e dos não proteicos: ornitina e ácido γ -amino butírico.
- Atuar como verdadeiro curinga na troca de energia entre os tecidos.
- Ser um verdadeiro elo entre os ciclos da ureia e do ácido cítrico.

Apesar de o glutamato ser consumido como aminoácido através das proteínas de muitos alimentos, em que justamente está em maior quantidade em relação aos outros aminoácidos, o homem o sintetiza para poder incorporá-lo em numerosos processos orgânicos. Exemplo desses processos são: a síntese de proteínas por ser um aminoácido proteico, o metabolismo anabólico em nível muscular, o transporte de nitrogênio entre os diferentes órgãos e por fornecer energia às células do estômago, intestino, pâncreas e baço, em até 80% a 90%. Além disso, o glutamato é precursor de outras moléculas de importância biológica como a glutatona, tripeptídeo com função antioxidante e transportador de aminoácidos; a prolina, aminoácido relacionado com a formação do colágeno; e o carboxiglutamato, um fator de coagulação sanguínea.

Nas últimas quatro décadas foram escritas três importantes publicações sobre o glutamato: a primeira, Filer *et al.* (1979), *Glutamic acid: Advances in Biochemistry and Physiology*. Essa publicação trata dos aspectos sensoriais do ácido glutâmico, suas funções metabólicas no corpo humano, seu papel como neurotransmissor no sistema nervoso central e a segurança de uso do glutamato monossódico como aditivo alimentar. A segunda, em 1998, corresponde ao *International Symposium on Glutamate* (ISG, 2000), realizado em Bergamo, Itália, com temas sobre o metabolismo do glutamato, componente chave na economia da energia e do nitrogênio de alguns órgãos, como a placenta, fígado, trato gastrointestinal e cérebro; e também sobre umami, gosto do glutamato com seus receptores na cavidade bucal e seu papel como neurotransmissor no sistema nervoso central. A terceira, Albarracín *et al.* (2016), *L-Glutamato: um aminoácido essencial para as funções sensoriais e metabólicas*, com temas de revisão e atualização do glutamato como molécula que gera o gosto umami, sua função no metabolismo celular dos diferentes sistemas e seu papel como neurotransmissor.

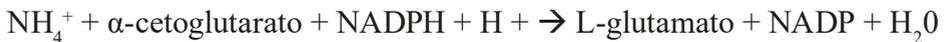
3. SÍNTESE DO GLUTAMATO A PARTIR DO NITROGÊNIO (N_2) DO MEIO AMBIENTE

No contexto do estudo do glutamato, dá-se importância especial para sua síntese a partir do nitrogênio do ambiente, sendo o único aminoácido sintetizado completamente a partir do íon amônio produzido por plantas e bactérias por amidação do α -cetoglutarato, convertendo o nitrogênio (N_2) de sua forma inorgânica (íon amônio), para a forma orgânica (α -amino). Para obter suas proteínas e outros compostos nitrogenados, homens e animais devem consumir alimentos vegetais porque eles convertem o nitrogênio (N_2) atmosférico em moléculas disponíveis para sua alimentação.

A fixação do nitrogênio (N_2) atmosférico – somado ao de nitritos e nitratos – é realizada por enzimas nitrogenases, próprias de algumas bactérias do solo. Exemplos dessas bactérias são: *Azobater*, *Klebsiella*, *Clostridium*, cianobactérias, especialmente aquelas do gênero *Rhizobium*, as quais vivem de forma simbiótica com raízes de alguns vegetais, como leguminosas tais como feijões, grãos-de-bico, favas, lentilhas, ervilhas, alfafa e soja; também em cereais como arroz, trigo, milho, aveia, centeio, trigo sarraceno; um pouco menos em alguns tubérculos e raízes como batata, batata-doce, mandioca; e em pequenas quantidades em mais de 200 vegetais, neles formando íons amônio. Esses vegetais, que ao serem consumidos diretamente pelo homem, ou indiretamente (através do consumo de alimentos como carne, ovo e leite, produzidos e/ou obtidos de animais que por sua vez se alimentaram com os vegetais), lhe fornecem proteínas.

As enzimas nitrogenases, das mencionadas bactérias, são as que fixam o nitrogênio, transformando-o em íon amônio, o qual, com um cetoglutarato, por ação da glutamato desidrogenase, com a coenzima NADPH, forma o L-glutamato, conforme equação a seguir:

Transformação de amônia em glutamato



Assim como o nitrogênio é o elemento mais abundante na natureza, é também um dos mais inertes. Assim, sua incorporação nas biomoléculas requer redução enzimática de N_2 (nitrogênio) a NH_3 (amônia) ou NH_4^+ (amônio), com um alto custo energético. Calcula-se que, para cada mol de N_2 reduzido a NH_3 , se gasta 16 moles de ATP.

O nitrogênio do ambiente, presente como nitrogênio (N_2), nitritos (NO_2^-) e nitratos (NO_3^-), é utilizado pelas bactérias anteriormente citadas e que geralmente são encontradas nas raízes de leguminosas e cereais, as quais transformam essas moléculas em aminoácidos, graças a um conjunto de enzimas detalhadas na Figura 4.1, formando finalmente proteínas.

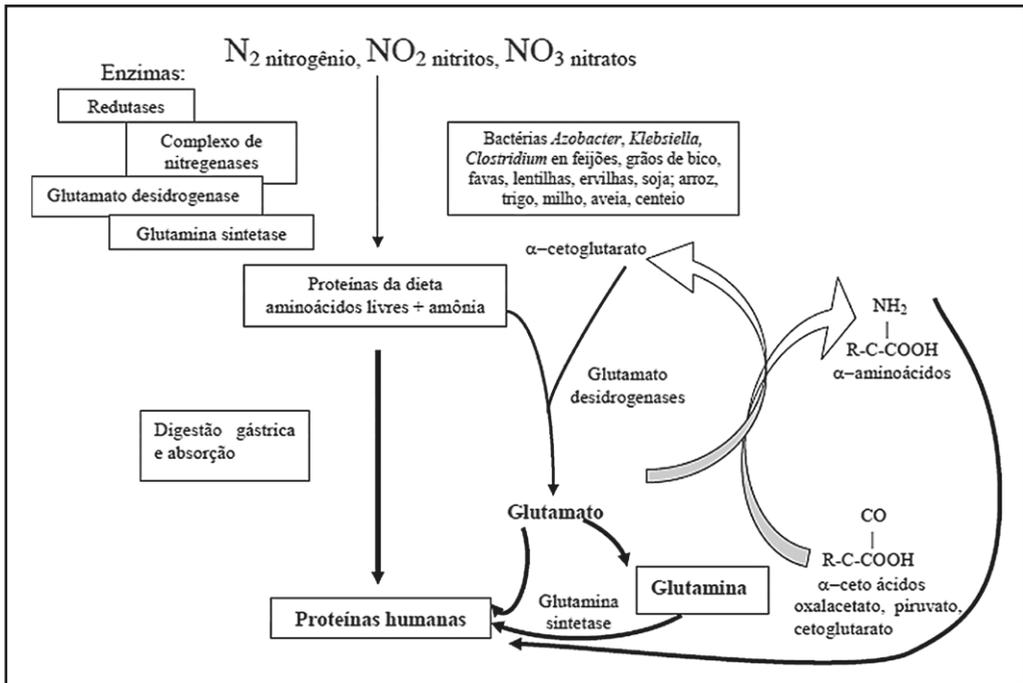


Figura 4.1 – Formação de aminoácidos e proteínas em vegetais a partir da fixação de nitrogênio do ambiente por micro-organismos.

Fonte: figura preparada pelos autores.

Todos os micro-organismos capazes de converter nitrogênio em amônia o fazem por meio do complexo enzimático da nitrogenase. Este complexo é composto por duas metaloproteínas, a ferroproteína (proteína-Fe) e a molibdoferroproteína (proteína-MoFe). A conversão de nitrogênio em amônia pelo complexo da enzima nitrogenase ocorre por meio de uma sucessão de reações de transferência de elétrons (Espinosa, 2017).

Além disso, a planta proporciona às bactérias ATP como fonte energética e uma fonte redutora com elétrons de alto potencial, ferredoxina, produzida nos cloroplastos, seguindo os seguintes passos:

1. A ferredoxina reduzida doa seus elétrons ao componente ferro-proteína.
2. O ATP se une à redutase, logo se hidrolisa e a redutase se dissocia.
3. Ocorre a fixação de nitrogênio pela nitrogenase, ocorrendo sua imediata redução.
4. A ferredoxina se regenera pela NADH-ferredoxina redutase ou desidrogenase pirúvica.

Todos os organismos assimilam amônia através de reações que principalmente levam a glutamato, glutamina e carbamoil fosfato. Desses compostos, o carbamoil fosfato serve unicamente para sintetizar arginina, ureia e os nucleotídeos de pirimidina. Não entanto, o glutamato e a glutamina se formam com a maioria do nitrogênio da amônia, derivando-se deles outros compostos nitrogenados através de duas reações: desaminação e transaminação.

4. METABOLISMO DO GLUTAMATO EM NÍVEL HEPÁTICO

Yang & Brunengraber (2000) qualificaram o glutamato como “uma janela do metabolismo intermediário”, baseados em experimentos com isótopos. Esse trabalho permitiu o bom rastreamento do glutamato desde que ingressou no organismo, como aminoácido livre, liberado por hidrólise proteica ou sintetizado pelo próprio organismo, segundo as necessidades fisiológicas. Os resultados indicaram que o glutamato participa em importantes processos metabólicos no fígado, tais como:

1. Reações de transaminação e desaminação;
2. Ciclo da ureia;
3. Atua como elo entre os ciclos de Krebs e da Ureia;

4.1. Reações de transaminação e desaminação

O glutamato sofre degradação oxidativa e entrega o nitrogênio do seu α -amino por duas vias enzimáticas: a transaminação e a desaminação.

A transaminação é o processo em que aminotransferases, enzimas que atuam em todos os aminoácidos exceto em treonina e lisina, transferem reversivelmente o grupo α -amino de um aminoácido para o grupo carbonila de um dos seguintes cetoácidos: cetoglutarato, oxaloacetato e piruvato. Os produtos da reação são o α -cetoácido do aminoácido correspondente e um dos três aminoácidos: glutâmico, aspártico e alanina, respectivamente. Por exemplo, o aminoácido glutamato transfere seu grupo α -amino a um cetoácido como pirúvico o transformando no aminoácido alanina e ficando como α -cetoglutarato (Figura 4.2).

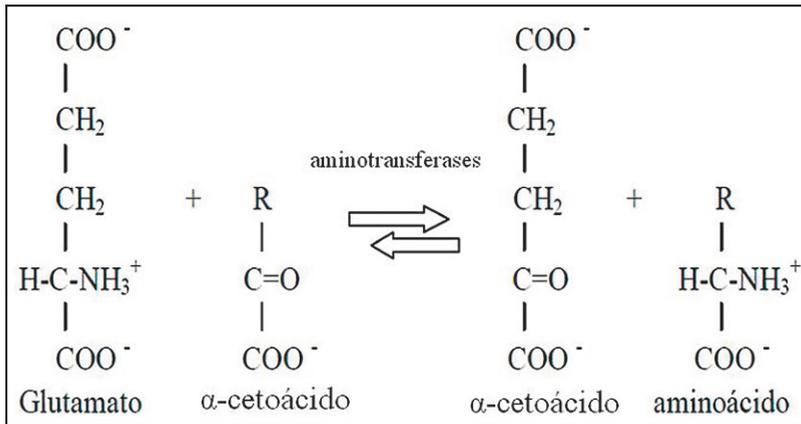


Figura 4.2 – Reação de transaminação entre um aminoácido e um α -cetoácido.

Fonte: figura adaptada de Ortiz Ureta, 2012.

As transaminases, em sua maioria, requerem o α -cetoglutarato, que é uma estrutura do Ciclo de Krebs com 5 carbonos, que recebe o grupo amino transferido. Essas enzimas são específicas para os substratos sobre os quais atuam. No homem, são de especial importância no soro, para fins de diagnóstico, a glutamato oxaloacetato aminotransferase sérica (GOT) e a glutamato piruvato aminotransferase sérica (SGPT). Outra transaminase, a alanina transaminase, atua no músculo, onde o piruvato é transaminado a alanina. Assim, uma nova rota é gerada para transportar o nitrogênio do músculo ao fígado, onde transfere o íon amônio ao α -cetoglutarato e regenera piruvato. O piruvato pode ser direcionado para a via da gliconeogênese. Esse processo é chamado de ciclo da alanina-glicose.

Para Villavicencio (2007) e Herrera (1993), graças às transaminases, os grupos α -amino de vários aminoácidos são recolhidos somente em um, o glutamato. Este aminoácido é o produto final da maioria das transaminações. Assim, o glutamato serve de doador específico dos grupos aminos para diversas reações que os convertem em produtos de excreção. No homem e demais mamíferos, a liberação dos grupos amino pelos aminoácidos ocorre no citosol, onde a aspartato transaminase forma glutamato que ingressa na mitocôndria por transporte específico da membrana mitocondrial. Posteriormente, o glutamato por desaminação oxidativa, graças à glutamato desidrogenase que utiliza nucleotídeos de pirimidina como coenzimas, é transformado em ácido α -iminoglutárico que, ao se hidratar, se transforma em α -cetoglutárico e amônia. Esta última será a fonte do primeiro nitrogênio da ureia. A reação é descrita a seguir.



A desaminação é o processo no qual o glutamato libera amônia, um composto tóxico, que finalmente é transformado em ureia, ácido úrico ou persiste como amônia, conforme a espécie. Em homens e mamíferos ureotélicos (os que eliminam ureia), o glutamato por desaminação doa seu grupo amino ao oxalacetato, molécula de quatro carbonos, formando aspartato e liberando 1 átomo de nitrogênio, o qual será o segundo nitrogênio da ureia.

4.2. Ciclo da Ureia

A ureia é um composto químico nitrogenado não tóxico formado através do Ciclo da Ureia. Esse conjunto de reações ocorre, principalmente, no fígado de onde a ureia é transportada pelo sangue aos rins. Nos rins, o sangue é filtrado e a ureia é depositada na urina e posteriormente excretada. O ciclo da ureia foi o primeiro ciclo metabólico estudado, em 1932, por Hans Krebs e Kurt Henseleit.

A ureia é o produto residual que elimina aproximadamente 95% do nitrogênio que sobra, principalmente da decomposição das proteínas do corpo e daquelas ingeridas através dos alimentos. Existe ureia nos excrementos de peixes e de outras espécies.

Um homem adulto elimina, pela urina, 20 a 28 g de ureia por dia, a qual se encontra em menor proporção no sangue, fígado, linfa e em fluidos serosos. A ureia se forma a partir da amônia que resulta da desaminação dos aminoácidos formados por hidrólise das proteínas corporais, ou ingeridas pela dieta. Os aminoácidos desaminados, livres do grupo amino, ficam como esqueletos de carbono que servem às necessidades energéticas do organismo.

A amônia, excretada na forma de íon amônio, mantém o pH da urina entre 4 e 8, e suas concentrações no soro normal estão na faixa de 20-40 mM. Um incremento da amônia circulante próximo a valores de 400 mM provoca alcalose e toxicidade.

Montgomery *et al.* (1992), Horton *et al.* (1997), Lozano (2001) e Fernández Velasco (2002) coincidem em que a formação da ureia no fígado ocorre através das seguintes etapas (Figura 4.3):

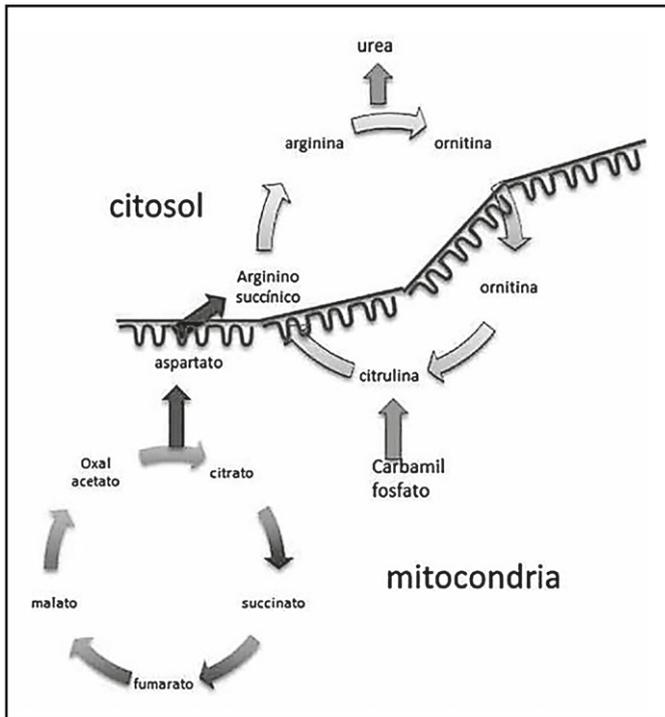


Figura 4.3 – Ciclo da ureia.

Fonte: figura preparada pelos autores.

1. O glutamato livre, ou o que se forma a partir de outros aminoácidos por transaminação, forma amônia (fonte de nitrogênio) através da reação de desaminação oxidativa catalisada pela glutamato desidrogenase. A amônia, altamente tóxica, é conduzido dos diferentes tecidos para o fígado através do sangue na forma de glutamina, graças à ação da glutamina sintase. No fígado, a glutamina é hidrolisada pela glutaminase liberando amônia. A molécula de amônia se une ao CO_2 proveniente do bicarbonato que é produzido pela respiração celular, com consumo de 2 ATP. Essa é uma reação essencialmente irreversível catalisada pela sintetase de carbamoilfosfato que leva à formação de carbamoil fosfato na matriz mitocondrial do hepatócito.
2. Formação de citrulina a partir da transferência do grupo carbamoil do carbamoil fosfato à ornitina através de uma reação catalisada pela enzima ornitina trans carbamoil. A ornitina é um aminoácido não proteico que se regenera em cada ciclo, uma vez liberada da ureia.

3. A citrulina, aminoácido não proteico, uma vez formada se transporta ao citoplasma, onde se une ao aspartato, que dará o segundo nitrogênio à ureia para formar o argininosuccinato. Essa é uma reação reversível catalisada pela arginina succinato sintase. O aspartato é produzido a partir do glutamato por transaminação com oxalacetato por meio da aminotransferase do aspartato.
4. O catabolismo do argininosuccinato, pela argininosuccinato liase, libera fumarato e arginina, precursor imediato da ureia.
5. A conversão de arginina em ornitina e ureia ocorre graças à arginase, reação que ocorre no citosol do hepatócito. Em seguida, a ureia se difunde ou sai do fígado ao sangue, e vai aos rins para ser eliminada pela urina. A ornitina volta para as mitocôndrias para se unir ao outro carbamoil fosfato e iniciar um novo ciclo da ureia.

Então, o ciclo da ureia sinteticamente pode ser descrito conforme a seguir:



Conforme apresentado na Figura 4.3, no ciclo da ureia o glutamato é precursor dos seguintes compostos:

1. N-acetilglutamato.
2. Ornitina, aminoácido não proteico.
3. Arginina.
4. Ácido aspártico.

4.2.1. Glutamato precursor de N-acetilglutamato

O N-acetil glutamato é sintetizado a partir de glutamato e acetil CoA, que ativa alostericamente a carbamoil fosfato sintase I para iniciar o ciclo da ureia. Ao aumentar a velocidade de degradação dos aminoácidos por transaminação, aumenta a concentração de glutamato e este estimula a síntese de N-acetilglutamato. O aumento de N-acetilglutamato se traduz em um incremento da velocidade de síntese da ureia o qual requer, por sua vez, um aumento na concentração de amônia, assumindo a cinética de Michaelis-Menten.

Nelson & Cox (2021) afirmam que o ciclo da ureia se regula pelo nível de carbamoil fosfato sintetase I e pela quantidade tanto das enzimas do ciclo, como das proteínas da dieta.

Onde o glutamato sintetiza N-acetilglutamato?

N-acetilglutamato é sintetizado nas mitocôndrias do hepatócito. O glutamato intramitocondrial livre e/ou o glutamato liberado da glutamina, graças à ação da glutaminase hepática, liga-se à acetil CoA, sintetizando N-acetilglutamato. Cabe mencionar que a enzima glutaminase hepática é ativada ao se elevar a concentração de amônia no fígado.

Berg *et al.* (2015) observa que a concentração de N-acetilglutamato pode mudar rapidamente para facilitar o fluxo através do ciclo da ureia. Essas variações estão reguladas tanto pela arginina que ativa a N-acetilglutamato sintetase, como pelo aumento de glutamato a partir da glutamina, ao se ativar a glutaminase hepática por seu próprio produto, a amônia.

O N-acetilglutamato e NADPH + H⁺ formam o γ -semialdeído, a partir do qual se forma diretamente a ornitina por transaminação do grupo aldeído. A ornitina participa no ciclo da ureia formando arginina e ureia.

4.2.2. Glutamato precursor da ornitina, aminoácido não proteico

A ornitina é um aminoácido não proteico de cinco carbonos e é muito importante no ciclo da ureia pelos seguintes motivos:

- O primeiro carbono está unido a uma carboxila e a um grupo amino, seguido de três metilenos, o último deles, unido a outro grupo amino.
- É sintetizada através da redução do grupo γ -carboxila do glutamato, gastando energia.
- Sofre uma descarboxilação para formar 1,4-diaminobutano, que recebeu o desagradável nome de putrescina, devido a que foi isolado pela primeira vez da carne decomposta.
- A putrescina é um composto muito similar à cadaverina, produto da descarboxilação da lisina e da histamina, produzida por sua vez por descarboxilação da histidina.

Como o glutamato forma ornitina?

De acordo com Jones (1985), um grupo carboxila do glutamato com o ATP forma acilfosfato, o qual é reduzido pelo NADPH para formar diretamente uma estrutura que está em equilíbrio com a δ -pirrolidina-5-carboxilato. Essa molécula produzirá por redução uma prolina, chamada glutamato γ -semialdeído, que é transaminado para formar ornitina em uma reação catalisada pela ornitina δ -aminotransferase. Ornitina que no ciclo da ureia se transformará em arginina.

4.2.3. Glutamato, precursor da arginina

A arginina é um aminoácido não essencial, importante pelos seguintes motivos:

- Sua estrutura leva na cadeia lateral o grupo guanidina, com três nitrogênios.
- Permite sintetizar óxido nítrico (NO), graças à enzima NO sintase. Esse composto se produz em áreas do encéfalo e se vincula com a função neurotransmissora do glutamato.
- Como precursora de óxido nítrico, poliaminas e outras moléculas de importância biológica, a arginina desempenha um papel crucial no metabolismo, sendo essencial para o desenvolvimento fetal e neonatal.
- Condicionalmente, a arginina é essencial para os adultos já que ajuda a manter a capacidade reprodutiva, as funções imunes, gastrointestinais, hepática, cardiovascular e pulmonar, assim como melhorar os processos de reparo de tecidos danificados.
- Em suplementação com arginina, aumenta o peso do timo e dos linfócitos, assim como as reações de hipersensibilidade retardada. Além disso, aumenta a capacidade linfoproliferativa dos linfócitos frente a agentes mutagênicos e a atividade das células *natural killer* (NK).
- A arginina pode sintetizar-se *de novo*, principalmente no fígado e, em menor proporção, nos rins e linfócitos.
- Uma dieta sem arginina diminui a taxa de crescimento longitudinal, aumenta os níveis de glucagon no sangue e incrementa a degeneração hepática em vários modelos animais.
- As soluções de nutrição parenteral isentas de arginina causam hiperamonemia, acidose metabólica e coma em crianças e adultos com função renal normal ou alterada.

- Os requerimentos de arginina são altos em condições de elevada degradação proteica, como sepsia e trauma. Por esse motivo, se for necessário, a arginina pode ser substituída, ao menos parcialmente, por ornitina, um de seus derivados metabólicos.
- Tanto a arginina como a ornitina são precursores de óxido nítrico (NO), o qual participa nas respostas adaptativas do intestino a fatores genéticos e ambientais.
- Melhora a função endotelial, cujo efeito está mediado pela síntese de NO catalisada pela enzima NO sintase e por reação direta da arginina com o peróxido de hidrogênio. Consequentemente, mantendo-se os níveis de arginina se pode limitar a aterogênese.
- Atua ativando a síntese de N-acetilglutamato, a partir do glutamato e da acetil-CoA.

Como o glutamato gera arginina?

1. O glutamato, ao acetilar seu grupo α -amino, forma N-acetilglutamato, como já indicado. Dessa forma, atua como precursor do γ -semialdeído do ácido glutâmico, responsável pela não ocorrência da reação de ciclização da arginina.
2. O N-acetilglutamato se transforma em ornitina por uma fosforilação, uma transaminação e uma desacetilação. Em mamíferos, a conversão de ornitina em arginina ocorre em quantidade insignificante. A causa desse fenômeno é a rápida ruptura da arginina, que ocorre no ciclo da ureia, onde a arginase libera ornitina e ureia, como afirmam Champe *et al.* (2004).

4.3. Transformação de prolina e arginina em glutamato no fígado

Dois dos três átomos de nitrogênio (N) do grupo guanidínico da arginina derivam do ácido glutâmico. O terceiro tem sua origem no carbamoil fosfato. Portanto, esse nitrogênio pode também derivar do glutamato pela ação da glutamato hidrogenase ou a partir da glutamina via glutaminase. Por esse motivo, a carbamoil fosfato resulta ser uma molécula importante para a síntese da arginina. As duas enzimas, carbamoil fosfato sintetase I e carbamoil fosfato sintetase II, principais catalisadoras da formação de arginina, se encontram no fígado dos mamíferos. Dessas, a primeira, carbamoil fosfato sintetase I, encontra-se na mitocôndria do hepatócito e aparentemente não está em outros

tecidos. Utiliza, unicamente, íon amônio como doador de nitrogênio e requer ácido N-acetil-L-glutâmico como um efetor alostérico positivo. Sua principal função é proporcionar carbamoil fosfato para a síntese da arginina. A regulação por retroalimentação da síntese de carbamoil fosfato se efetua porque a arginina atua como um efetor negativo para a formação do ácido acetil-glutâmico e este estimula a formação do carbamoil fosfato. A segunda enzima, carbamoil fosfato sintetase II, necessita de glutamina como doador de N, sendo independente do N-acetilglutamato.

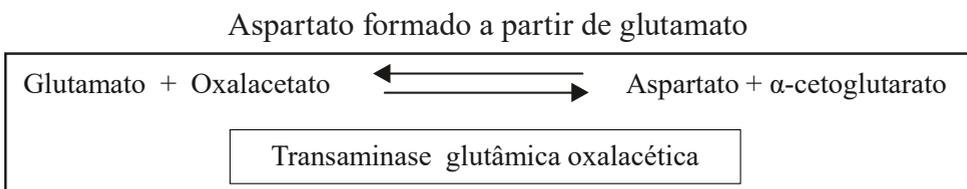
4.3.1. Glutamato, precursor do ácido aspártico

White *et al.* (1978) descreveram as características do ácido aspártico, as quais foram posteriormente confirmadas por Champe *et al.* (2004). Essas características são descritas a seguir:

- O ácido aspártico, aminoácido *não essencial*, é monoamino dicarboxílico de 4 carbonos.
- Possui um grupo carboxila num extremo de sua cadeia lateral.
- É sintetizado a partir do glutamato por transaminação com oxalacetato.
- Sintetiza asparagina, sua amida, graças à asparagina sintetase.
- Junto a outros aminoácidos, atua como componente de várias proteínas.
- Unido à citrulina, doa o segundo nitrogênio à ureia, via arginosuccinato e arginina.
- Por transaminação ou desaminação por aspartase, forma fumarato e amônia.

Como se forma aspartato a partir do glutamato?

O glutamato se une ao oxalacetato através da reação catalisada pela transaminase glutâmica oxalacética, formando aspartato e α -cetogluturato, como descrito a seguir:



O aspartato também é sintetizado a partir da asparagina por ação da asparaginase.

4.4. Glutamato, elo entre os ciclos de Krebs e da ureia

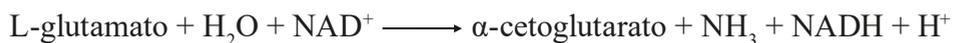
O glutamato atua como verdadeira conexão entre o ciclo do ácido cítrico ou de Krebs e o ciclo da ureia, fornecendo energia necessária para o metabolismo em determinados tecidos.

A função energética que cumpre o glutamato, a partir do metabolismo de seu esqueleto carbônico após trabalhar como aminoácido proteico, é a seguinte:

- Sintetizar aminoácidos não essenciais como a glutamina, prolina, aspartato, alanina e arginina.
- Sintetizar aminoácidos não proteicos como a ornitina e citrulina.
- Sintetizar diversas proteínas, hormônios peptídicos, enzimas, anticorpos, membranas, ao se unir com outros aminoácidos essenciais e não essenciais.

Logicamente, tal doação de energia é cumprida pelo glutamato à luz dos dois processos bioquímicos, já detalhados, dos quais participa ativamente: (i) a transaminação, na qual proporciona seu grupo amino por ação da glutamato transaminase ao oxalacetato do Ciclo de Krebs, convertendo-o em aspartato e formando α -cetoglutarato; e (ii) a desaminação oxidativa por ação da glutamato desidrogenase ou L-glutamato NAD⁺ óxido-reductase, utilizando NAD⁺ e NADP⁺ como coenzimas. Essas enzimas liberam o grupo amino do glutamato na forma do amônia, que iniciará o ciclo da ureia ao formar carbamoil fosfato e α -cetoglutarato o qual segue a rota do ácido cítrico.

Desaminação oxidativa do glutamato



O glutamato, através de seu esqueleto de carbono, doa energia por meio do ciclo de Krebs quando desaminado oxidativamente pela ação da glutamato desidrogenase, dando origem ao α -cetoglutarato que é um intermediário desse ciclo. Essa função também a cumprem os outros aminoácidos de cinco carbonos, glutamina, histidina, prolina e, arginina, quando se convertem em glutamato por diferentes vias metabólicas.

Por outro lado, conforme já descrito, a glutamina forma glutamato ao liberar NH₄⁺ por ação da glutaminase. Por sua vez, a histidina, tal como o triptofano, não sofre transaminação quando começa sua degradação. Em vez disso, mantendo seu anel, sofre a ação catalítica de uma *lise* específica que a fragmenta,

produzindo ácido urocânico. Esse composto, em dois passos seguintes, por uma redução, forma 4-imidazolona-5-propionato. A ligação amida se hidrolisa, formando ácido N-formimino glutâmico. Esta é uma substância útil porque oferece fragmentos de um carbono ativo, que transfere seu grupo formimino ao tetraidrofolato, formando 5-formimino tetraidrofolato e glutamato.

A função energética – já como glutamato – se cumpre em diferentes tecidos, principalmente no enterócito e na placenta, como será descrito mais adiante.

5. METABOLISMO DO GLUTAMATO EM NÍVEL RENAL

O rim dos mamíferos utiliza como combustível, para seus diversos processos metabólicos, os seguintes compostos:

- Ácido graxo palmitato, o qual proporciona de 60 a 80% do combustível;
- Metabólito lactato, o segundo doador de combustível já que, ainda que o palmitato retarde ou iniba seu emprego como energia, não evita sua captação pelo rim. A respeito disso, o lactato captado pelo rim, na presença de excesso de palmitato, se transforma em glicose graças à gliconeogênese;
- Glicose: seu emprego é pequeno, só ajuda em 2 a 6% do consumo;
- Glicerol;
- Corpos cetônicos, combustível utilizado em jejum prolongado, inanição e diabetes;
- Aminoácidos glutamato e glutamina.

Dos combustíveis mencionados, tem especial importância a glutamina, a qual é a amida do ácido glutâmico. Este é o aminoácido em que se transforma o glutamato para poder transportar a amônia tóxica formada no metabolismo das proteínas e, assim, eliminá-la através do ciclo da ureia. A glutamina é um aminoácido proteico não essencial de importância metabólica, uma vez que retorna grupos amino para a circulação sanguínea a maior velocidade do que a asparagina, que também possui dois grupos amino.

As principais características da glutamina são:

- É sintetizada em quantidade suficiente para suprir as necessidades do homem.
- É abundante no sangue; em concentrações basais alcança 650 μ moles/L.
- É o aminoácido de maior concentração no *pool* intracelular.

- Constitui 61% dos aminoácidos do músculo esquelético.
- Representa a metade do total de aminoácidos corporais.
- Regula a homeostase de aminoácidos, junto com a alanina.
- Transporta mais da metade do nitrogênio dos aminoácidos circulantes.
- É consumida avidamente por células que se replicam rapidamente como, por exemplo, os fibroblastos.
- Seu esqueleto de carbono oferece energia ao intestino delgado, tal como o glutamato.
- É liberada pelo músculo esquelético em estado pós-absortivo e em processo de estresse, catabolia, sepsia, estresse cirúrgico ou politraumatismo.
- Diminui a atrofia das vilosidades e a necrose intestinal, que poderiam levar à necessidade de suporte nutricional.
- No suporte nutricional entérico, como aminoácido livre, melhora a integridade da mucosa intestinal e o balanço nitrogenado.
- É precursor da putrina, já que seus átomos provêm do ácido aspártico e da glicina.
- Seu grupo amida substitui o grupo pirofostato unido ao C1 do 5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP), em uma reação catalizada pela glutamina PRPP amido transferase. Esta enzima pode ser inibida por AMP, GMP, IMP, controlando-se a velocidade de reação através da concentração intracelular dos substratos glutamina e PRPP.
- É precursor do anel pirimidina, já que os átomos desta molécula provêm da glutamina e do ácido aspártico, além de CO_2 . À diferença do anel de purina, o de pirimidina se sintetiza antes de se unir com a ribose-5-fosfato, doado pelo PRPP.

A síntese de glutamina depende, então, em grande parte do glutamato. A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), na tabela de Composição de Aminoácidos e Proteínas em Alimentos, mencionada anteriormente, não considera a presença deste composto nos alimentos. Somente apresenta, junto aos outros aminoácidos, a concentração de glutamato expressa em mg/100 g de proteína ou de N_2 dos alimentos.

Então. Como o glutamato sintetiza glutamina?

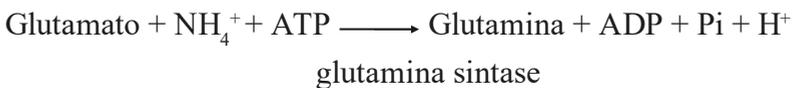
O glutamato é o principal doador de grupos amina em reações de transaminação, e sintetiza glutamina graças à enzima mitocondrial glutamina sintase.

Assim, consegue, fixar a amônia – tóxica – gerada pela degradação dos aminoácidos provenientes da digestão das proteínas da dieta. Dessa forma, se evita que a concentração de amônia chegue a níveis apreciáveis. A amônia é produzida nos tecidos, de onde passa rapidamente à circulação sanguínea em forma de glutamina até chegar ao fígado, onde se converte finalmente em ureia.

Então, a glutamina sintase, em altas concentrações no tecido renal, catalisa a síntese da ligação amida da glutamina às custas da hidrólise de um equivalente de ATP formando ADP e Pi. Isso faz com que a direção da reação esteja fortemente inclinada na direção da síntese da glutamina.

Logo, a reação de síntese de glutamina a partir do glutamato, catalisada pela glutamina sintase, mostra semelhanças e diferenças com a reação catalisada pela glutamato desidrogenase, enzima que favorece a síntese do glutamato por desaminação oxidativa. Embora ambas as enzimas fixem um nitrogênio inorgânico, a glutamato desidrogenase o faz para um grupo amino por oxidação de NADPH e a glutamina sintase para um grupo amida, acompanhada da hidrólise do ATP.

Síntese de glutamina a partir de glutamato



Depois, o metabolismo dos aminoácidos em nível renal, especialmente do glutamato e da glutamina, se traduz em um aumento da produção e excreção do íon amônio (NH_4^+) como resposta homeostática do rim à acidose metabólica. A formação de amônia aparece quando atua a enzima glutaminase (dependente de fosfato) que se encontra na membrana interna ou na matriz mitocondrial e que hidrolisa a molécula de glutamina produzindo glutamato e amônia. Em condições de acidose metabólica, os rins aumentam a captação de glutamina e a amônia produzida pela ação da glutaminase reage com átomos de hidrogênio formando o íon amônio, que é um composto não tóxico e de fácil difusão. Os íons amônio produzidos nos túbulos distais dos mamíferos são então excretados diretamente, sem a necessidade de irem ao fígado para a formação da ureia.

A partir daí, graças a um transporte próprio, sai a glutamina para ser convertida em amônia, que por ser tóxica, e devido a que o rim carece de enzimas para a formação da ureia, é levado pelo organismo através do sangue ao fígado, onde finalmente ocorre o ciclo da ureia.

6. METABOLISMO DO GLUTAMATO EM NÍVEL INTESTINAL

Young & Ajami (2000) avaliaram trabalhos sobre glutamato realizados por mais de 50 anos. Desses, destacam especial importância aqueles realizados por Neame & Wiseman (1958), que descreveram concentrações de alanina e cetoácidos no sangue mesentérico durante a absorção de ácido glutâmico no intestino delgado de cães, gatos e coelhos *in vivo*. Posteriormente, Munro (1979) publicou casos em que são discutidas concentrações de glutamato no sangue e fatores que afetam a relação glutamato/glutamina em uma dieta suplementada com glutamato. Os trabalhos realizados por Windmueller e Spaeth (1975) e Windmueller (1982), a respeito do metabolismo intestinal da glutamina, assim como os de Battezzati *et al.* (1995), coincidiram em que, em nível do tecido intestinal, ocorre um significativo metabolismo do glutamato e da glutamina ingeridos através dos alimentos, o que confirma que muito pouco ou nada do glutamato entra na corrente sanguínea portal ou sistêmica após o consumo de alimentos.

Dando continuação a esses trabalhos, Reeds *et al.* (1996) constataram, em suínos, concentrações de glutamato relativamente estáveis no plasma, tanto em períodos de jejum como de alimentação, ao longo das 24 h do dia. Esses resultados confirmam que o glutamato é o maior doador de energia na mucosa intestinal, com uma função adicional: sintetizar glutatona. Posteriormente, Reeds *et al.* (1997) relataram que em suínos recém-desmamados o glutamato no lúmen, mais do que a glutamina derivada do glutamato, foi a melhor fonte para sintetizar glutatona na mucosa intestinal. Dado que o esqueleto de carbono do glutamato é cetoglutarato, intermediário do ciclo de Krebs, após fosforilação oxidativa, fornece energia como ATP, água e CO₂. Vernon & Ajami (2000) afirmavam que, independentemente da sua origem, o glutamato já absorvido inicia seu metabolismo no enterócito, onde 80 a 90% do glutamato forma α -cetoglutarato por transaminação. O que não é metabolizado constitui o *pool* de aminoácidos, no qual cumpre funções como tal.

Por outro lado, o trabalho de Garattini (2000) relembra os conceitos postulados 20 anos antes sobre as funções do glutamato, ressaltando que é de importância especial pelo seu papel no metabolismo energético em nível enterocitário, assim como por participar da percepção do gosto umami e ser um aditivo alimentar de uso seguro, entre outros benefícios.

Fernstrom (2000) destacou o esmerado trabalho de Reeds *et al.* (2000), os quais trabalharam com suínos. Esses animais, além de serem mamíferos e terem metabolismo similar ao do homem, são suficientemente robustos, podem

sobreviver após uma cirurgia e ganhar rápido crescimento ao consumir uma dieta baseada em todas as proteínas e carboidratos do leite. Os resultados de Reeds *et al.* (2000) revelaram que 95% do glutamato dos alimentos é metabolizado na mucosa intestinal, e que, desta quantidade, 50% forma CO₂.

Brosnan *et al.* (2001) relatou que o glutamato, como cosubstrato em reações de transaminação e desaminação de outros aminoácidos, oferece esqueleto de carbono para gliconeogênese e para gerar ATP. Finalmente, os estudos de Nijijima (2000) mostraram a relação entre os receptores da mucosa bucal para o glutamato e seus sensores, possivelmente, receptores, como evidência neurofisiológica da habilidade do glutamato para estimular os sensores aferentes do nervo vago no intestino delgado. Tal estimulação induziria uma ativação reflexa das fibras aferentes desde o cérebro até o pâncreas, facilitando a digestão, absorção e distribuição de nutrientes. Assim, Fernstrom (2000) deixa claro que a proteína dos alimentos, depois do trabalho de enzimas proteolíticas do estômago, pâncreas e intestino delgado, é hidrolisada até aminoácidos livres e pequenos peptídeos, os quais, com transportadores específicos no lúmen, são absorvidos pelo intestino.

Wu (1998) se dedicou a estudar diversos aspectos metabólicos dos aminoácidos citrulina, prolina e arginina, e verificou que, para o epitélio intestinal, o glutamato e a alanina entérica serviam como importante fonte de energia. No entanto, pouco ou nada se sabia dos sítios responsáveis pela absorção e transporte dos produtos da proteína da dieta. Contudo, Prezioso & Scalera (1996), em estudos farmacológicos usando vesículas de membrana com microvilosidades, sugeriram a localização de um sistema de transporte dependente de sódio para o L-glutamato na parte apical das células, sem poder determinar o lugar exato na membrana para o transporte.

7. METABOLISMO DO GLUTAMATO NO TECIDO MUSCULAR, CONJUNTIVO E COLÁGENO

Sobre o metabolismo do glutamato, a maioria dos trabalhos é realizada nos tecidos hepáticos, renal, intestinal e cérebro, sendo poucos em outros tecidos, como é o caso do tecido muscular e conjuntivo. Por conta disso, torna-se importante de serem abordados neste capítulo.

7.1. Metabolismo do glutamato no músculo humano em repouso e em atividade

O músculo esquelético constitui a maior reserva proteica do homem e dos mamíferos; por conta disso, é a principal fonte de energia – não gordurosa – armazenada. Isso é evidenciado em adultos como perda de massa muscular após um jejum ou uma dieta pobre em calorias.

O glutamato é o centro de várias reações de transaminação que afetam a produção de aspartato, alanina e glutamina, assim como de vários intermediários do ciclo dos ácidos tricarboxílicos ou ciclo de Krebs. Por esse motivo, Mourtzakis & Graham (2002) estudaram os efeitos de tal aminoácido com o músculo em repouso e durante exercício, em indivíduos saudáveis, aos quais foram administrados glutamato monossódico e placebo. Como resultado, observou-se elevação dos níveis de glutamato, aspartato, glutamina e taurina no plasma, tanto em descanso como em exercício. Entretanto, os níveis dos outros aminoácidos não sofreram variações. Curiosamente, ao chegar ao máximo do exercício, o glutamato do músculo diminuiu e permaneceu assim durante o exercício, apesar de seu constante ingresso na circulação sanguínea por ingestão.

- a) Em exercício: frente ao aumento dos níveis de glutamina e alanina no músculo esquelético, os investigadores sugeriram que o glutamato tem um papel importante na transferência de grupos amino e no ciclo dos ácidos tricarboxílicos.
- b) Em repouso: como não houve mudanças nos níveis de alanina nem de amônia, argumentou-se que ao se ingerir glutamato, ainda que ele seja abundante no *pool* de aminoácidos tanto no músculo ativo quanto no músculo em descanso, há um aumento de sua disponibilidade. Porém, durante o exercício, se altera a distribuição de glutamato devido às reações de transaminação dentro do músculo ativo, tal como apontado por Meister (1990). Isso se traduz em um maior nível de alanina e uma redução de amônia.

O trabalho de Mourtzakis & Graham (2002) é interessante, já que o glutamato foi mais estudado no intestino e no fígado do que no músculo. Esse trabalho conclui que, ainda que o glutamato tenha um papel integral em diversos processos metabólicos, somente as concentrações de aspartato, taurina, alanina e glutamina no músculo, foram afetadas por sua ingestão. Esses aminoácidos são liberados em quantidades similares durante o exercício, porém ao se ter uma

maior disponibilidade de glutamato desde sua administração, se evidencia uma elevação dos transportadores para cada um deles, concluindo-se que o glutamato e a glutamina são aminoácidos com reações muito próximas durante o exercício.

Assim, o glutamato desempenha um papel mais determinante no metabolismo da alanina do que no da glutamina. A alanina é um aminoácido não essencial, com estrutura composta unicamente por três carbonos, o carbono alfa carboxila, um metileno unido à amina e a um metil, que é sua cadeia lateral. É um aminoácido glicogênico que, ao perder seu grupo amino, passa a formar piruvato. No ciclo glicose-alanina, trabalha como transportador de carbono desde o músculo ao fígado, para a gliconeogênese. O glutamato, ao ceder seu grupo amino ao ácido pirúvico – por uma reação de transaminação – contando com a coenzima piridoxal fosfato, forma alanina a partir do piruvato e α -cetogluturato a partir do glutamato.

O aspartato aumenta tanto durante o descanso como no exercício ao se aumentar o glutamato, em níveis que podem ser atribuídos à interrelação entre glutamato e aspartato. O contínuo aumento do aspartato no plasma é, provavelmente, devido à sua diminuição no fígado, assim como previamente foi sugerido para o glutamato. Conforme já descrito no metabolismo do ciclo da ureia, o glutamato é precursor do aspartato.

Por outro lado, a taurina – aminoácido não proteico – aumenta após a ingestão de glutamato durante o descanso e muito mais durante o exercício, o que poderia prevenir um aumento da glicose durante o exercício.

7.2. Glutamato, precursor de prolina, aminoácido não essencial, indispensável como constituinte do colágeno

A prolina é o único dos 20 aminoácidos proteicos considerado aminoácido *não essencial* que o homem sintetiza para fazer a maior parte do seu tecido conjuntivo, o colágeno, incorporando também a outros aminoácidos como a hidroxiprolina, lisina e glicina. O colágeno e a elastina constituem 30% e 11%, respectivamente, do tecido conjuntivo o qual é o que forma os tendões e articulações sob os epitélios.

O glutamato também pode ser utilizado na célula intestinal para a síntese de prolina. Inicialmente, o glutamato forma glutamato γ -semialdeído, o qual perde uma molécula de água, sem intervenção enzimática, e se cicliza formando pirrolina 5-carboxilato. Este composto, por ação de um NADPH^+H^+ libera NADP^+ oxidado e forma o aminoácido prolina (Figura 4.4).

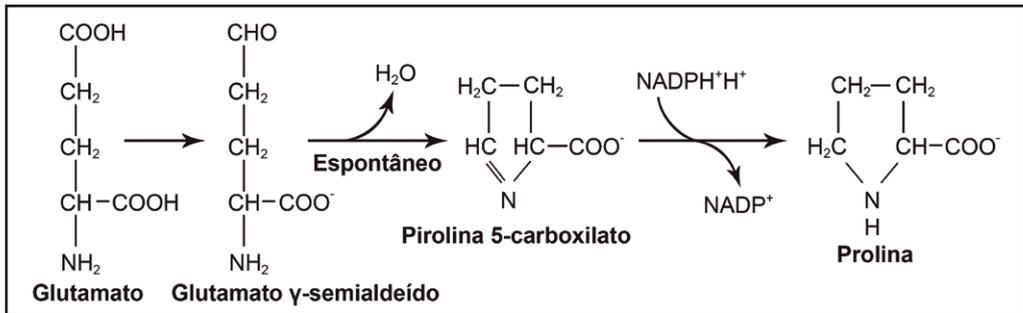


Figura 4.4 – Formação de prolina a partir de glutamato.

Fonte: figura adaptada de Ortiz Ureta, 2012.

Entender a importância da prolina faz lembrar o que é o colágeno, sua síntese e seu papel no tecido conjuntivo do homem.

O colágeno é uma molécula de proteína que forma fibras flexíveis que oferecem resistência à tração. Essas fibras estão presentes em todos os organismos multicelulares e são secretadas por células do tecido conjuntivo, fibroblastos e outros tipos de células.

O ponto de ruptura das fibras colágenas dos tendões humanos é alcançado com uma força de várias centenas de quilogramas por centímetro quadrado. Ao ferver tais fibras, ocorre desnaturação das proteínas, traduzida em abrandamento e facilidade de consumo. Logo, ao esfriar, sempre em solução aquosa, se converte em gelatina.

A síntese do colágeno se inicia justamente com sua proteína precursora, chamada tropocolágeno, que mede aproximadamente 300 nm (nanômetros) de comprimento e 1,4 nm de diâmetro. Essa molécula está formada por três cadeias polipeptídicas (cadeias alfa), cada uma com massa molecular de, aproximadamente, 100.000 Da (daltons) que estão organizadas em uma tripla hélice. As cadeias peptídicas são formadas predominantemente pelos aminoácidos, prolina, hidroxiprolina, lisina e glicina, fundamentais na formação da super-hélice.

Os aminoácidos prolina, glicina e lisina que conformam as cadeias do colágeno cumprem funções diferentes:

- Prolina: por sua estrutura anular rígida, estabiliza a forma helicoidal da cadeia alfa. Intervém na formação do segmento peptídico da hidroxiprolina do colágeno.
- Glicina: ocupa um lugar a cada três resíduos, localizando-se ao longo da região central, o que faz com muita facilidade por seu pequeno tamanho,

- favorecendo a acomodação das três cadeias α da super-hélice do colágeno. Assim, forma-se uma tripla hélice dextrógira com uma distância de 8,6 nm entre as voltas, unidas por pontes de hidrogênio que afetam a, aproximadamente, 2/3 de cada cadeia alfa.
- c) Lisina é o único aminoácido essencial do colágeno. Sua função é permitir que os tropocolágenos se unam entre si por ligações de algumas lisinas, chamadas *crosslinking* ou ligações cruzadas. Nos resíduos de nitrogênio dessas lisinas *crosslinking* atua a enzima lisina oxidase, transformando-os em aldeídos. Assim, a lisina passa a se chamar alisina, capaz de formar ligações covalentes com outras alisinas constituindo, assim, as fibras de colágeno.

Como o glutamato gera prolina?

É um processo metabólico que tem os seguintes passos:

3. O glutamato, através de seu grupo carboxila, com a energia de um ATP, forma δ -glutamilfosfato em reação catalisada pela γ -glutamil quinase. Essa enzima é regulada por inibição de feedback através dos níveis de prolina já formada.
4. O δ -glutamilfosfato, intermediário, se reduz a glutamato γ -semialdeído, que pode ser transaminado, formando ornitina ou prolina.
5. O glutamato γ -semialdeído se cicla automaticamente com a perda da água sem intermédio de enzimas, formando δ -1-pirrolina-5-carboxilato.
6. O δ -1-pirrolina-5-carboxilato é reduzido pela ação da enzima δ -1-pirrolina-5-carboxilato reductase, perdendo sua insaturação graças ao NADPH + $^+H^+$ e formando prolina.

O mecanismo de interconversão entre a δ -1-pirrolina-5-carboxilato e a prolina, pode atuar como mecanismo de transporte, transferindo equivalentes redutores provenientes da via da pentose fosfato nas mitocôndrias. A prolina também se sintetiza a partir da arginina da dieta, transformando-se, primeiramente, em ornitina, pela via da arginase.

Praticamente todas as proteínas contêm uma ou mais regiões com maior quantidade de quatro aminoácidos não essenciais, prolina, glutamato, serina e treonina, designando a cada um desses aminoácidos com as letras P para prolina, E para glutamato, S para serina e T para treonina. Cada uma dessas regiões com somente 12 a 60 resíduos no comprimento é conhecida como sequências

PEST. A prolina é um constituinte das proteínas com sequência PEST de vida curta. Segundo Mathews & Van Holde (2000), a maioria das proteínas de vida curta são aquelas que têm um tempo de vida entre $\frac{1}{2}$ e 2 h. Isso corrobora o apontado na extensa revisão sobre biossíntese de aminoácidos e suas funções precursoras realizada por Meister (1990). Nelson & Cox (2021) também reafirmam esses resultados. Em suas respectivas obras sobre Bioquímica os autores enfatizam que tais proteínas com sequências PEST se degradam rapidamente. Dentre os aminoácidos da sequência PEST, a prolina, sintetizada em mamíferos e outros seres vivos, pode tornar-se novamente em glutamato mediante a inversão das reações de seu catabolismo. Assim, a prolina se transforma em desidroxiprolina pela ação da prolina desidrogenase que incorpora uma molécula de água, resultando em glutamato γ -semialdeído. Posteriormente, por ação da glutamato semialdeído desidrogenase se forma o glutamato que é utilizado nas células para diversos fins.

8. METABOLISMO DO GLUTAMATO EM ERITRÓCITOS E NO PLASMA

Murray (2000) resume em 11 pontos os aspectos mais importantes do metabolismo dos eritrócitos. Os primeiros aspectos são todos relacionados com o metabolismo dos carboidratos: dependem da glicose como fonte de energia; a glicólise, ao produzir lactato, é a via de produção de ATP nos eritrócitos, por não possuir mitocôndrias, não há produção de ATP através da fosforilação oxidativa; têm transportadores que conseguem manter seu equilíbrio iônico e hídrico, entre outros. Em outros aspectos, o autor ressalta que a glutathiona reduzida (GSH) é muito importante no metabolismo do eritrócito por sua ação contra os peróxidos danosos. Quanto ao metabolismo dos aminoácidos, somente destaca o fato de que, quando o eritrócito chega ao fim de seu tempo de vida, a globina se degrada em aminoácidos que são utilizados pelo organismo para diversos fins; o grupo heme se degrada liberando ferro e tetrapirrol que passa a formar parte da billirrubina, a qual será secretada pela bile.

8.1. Glutamato no sangue, plasma e eritrócitos

A concentração de aminoácidos no sangue total, eritrócitos e plasma é muito variada em homens adultos durante as 24 h depois de ingerir uma dieta saudável, com uma variação rítmica já observada por Feigin *et al.* (1967). Posteriormente, Feigin *et al.* (1968) identificaram alguns fatores que afetam essa periodicidade circadiana dos aminoácidos estudados individualmente.

8.1.1. Glutamato em eritrócitos

Sobre a regulação dos níveis de glutamato nos eritrócitos, Stegink *et al.* (1982a) trabalhando com adultos alimentados com dietas ricas em proteínas, observaram que a concentração de glutamato no plasma aumentava 1-2 h após as refeições (almoço ou jantar), com ou sem adição de glutamato monossódico (MSG). Essa concentração diminui notoriamente ao longo de 24 h, sugerindo que o aminoácido se metaboliza rapidamente.

8.1.2. Glutamato no plasma e em eritrócitos ao administrar, além de glutamato, o edulcorante aspartame

Extensa bibliografia, entre os anos 1969 e 1980, evidencia os danos que provoca administrar (por via subcutânea ou oral) altas doses de aminoácidos dicarboxílicos, aspartato e glutamato a roedores neonatos, produzindo necrose neuronal hipotalâmica. Desses trabalhos, destacam-se o de Olney (1969) (via subcutânea) sobre lesões cerebrais, obesidade e outros distúrbios em ratos; e outro de Olney & Ho (1970) relatando dano cerebral em ratos jovens, ao consumir aspartato ou cisteína e glutamato, por via oral. Entretanto, o dano ao cérebro de primatas foi questionável. Assim, o demonstraram Stegink *et al.* (1982b), ao adicionar aspartame (edulcorante formado por ácido aspártico, fenilalanina e metanol) a refeições que continham considerável quantidade de glutamato monossódico (MSG). Encontraram, logicamente, um aumento de fenilalanina; porém, ao contrário do esperado, só verificaram um pequeno efeito nas concentrações de glutamato e de aspartato no plasma, que se mostraram um pouco maiores do que as observadas nas dietas sem agregar o aspartame. Esses resultados evidenciaram o rápido metabolismo dos dois aminoácidos dicarboxílicos nas células intestinais. A resposta foi razoável, já que o aspartame, que é o dipeptídeo L-aspartatil-fenilalanil-metil éster, é hidrolisado na mucosa intestinal até liberar seus dois aminoácidos aspartato e fenilalanina, mais metanol, deixando aberta a possibilidade de ocorrerem interações entre ambos os aminoácidos dicarboxílicos.

Tsai & Huang (2000) trabalharam com indivíduos adultos sãos, dando a eles uma dieta de 1,5 g de proteína e 40 kcal/kg p.c. diariamente. Uma semana depois, os indivíduos receberam a mesma dieta mais 100 mg de glutamato dividido em três vezes: 15, 40 e 45 mg/kg, no café da manhã, almoço e jantar, respectivamente. Analisando a concentração de aminoácidos no sangue total, plasma e eritrócitos, os autores observaram uma variação circadiana do glutamato no plasma, com altos níveis de glutamato nos eritrócitos após o almoço e jantar, os quais

diminuíam notavelmente no período matutino. Esses resultados demonstraram que o glutamato se metaboliza rapidamente. Todavia, ainda que não chegaram a definir a função do glutamato intracelular nos eritrócitos, verificaram que a concentração se modificava segundo sua presença na dieta.

Estudando as concentrações de glutamato em eritrócitos, Watford (2002) coincidindo com os trabalhos mencionados, argumentou o seguinte:

- A glutamina é o maior substrato para a síntese de glutamato no eritrócito. O glutamato que se encontra nas células em questão seria gerado principalmente através da reação da enzima glutamina aminotransferase sobre a amida nitrogenada mencionada anteriormente. Essa reação foi observada *in vivo* ao trabalhar com glutamina marcada com N_{15} , introduzida na circulação de uma ovelha. Os resultados mostraram acúmulo intracelular do glutamato marcado. Em homens, o glutamato marcado com N_{15} entrou nos eritrócitos muito lentamente, enquanto a entrada da glutamina marcada foi muito mais rápida. Não foi relatado se a infusão da glutamina marcada provocou aumento intracelular do glutamato marcado;
- A síntese de glutamato é o principal destino do metabolismo do glutamato intracelular;
- A maior quantidade do glutamato que entra na dieta diária é metabolizada dentro da mucosa intestinal. Porém, essa quantidade é pequena em comparação com a quantidade de glutamato necessária para o metabolismo de síntese de outros aminoácidos e influencia pouco no fluxo do glutamato extracelular;
- O glutamato predomina nos eritrócitos de 2 a 4 vezes mais do que no plasma e desempenha um papel no fluxo do glutamato interorgânico. Entretanto, essas concentrações de glutamato nos eritrócitos não mudaram no seu trajeto através dos tecidos;
- A função do glutamato no sangue é desconhecida; porém, sabe-se que sua concentração depende do glutamato da dieta. Assim, há duas vezes mais glutamato nos eritrócitos de ratos adaptados, por 10 dias, a dietas com pouca proteína (5%), do que naqueles consumindo dietas com suficiente proteína (20%). Efeito semelhante ocorre nos eritrócitos em humanos que recebem alimentação sem proteínas, como acontece em aqueles com má nutrição energético-proteica e com hipercapnia crônica. Nesses indivíduos, igualmente como observado em ratos, há maior concentração de glutamato nos eritrócitos.

Com base no esquema de Griffith & Meister (1979), que aponta possíveis caminhos do metabolismo do glutamato nos eritrócitos, verifica-se como o glutamato no sangue é utilizado para a síntese de outros aminoácidos e para a síntese de glutatona, quer seja o glutamato obtido diretamente da dieta ou formado pela desaminação da glutamina graças à glutaminase ou à glutamina amino transferase (Figura 4.5).

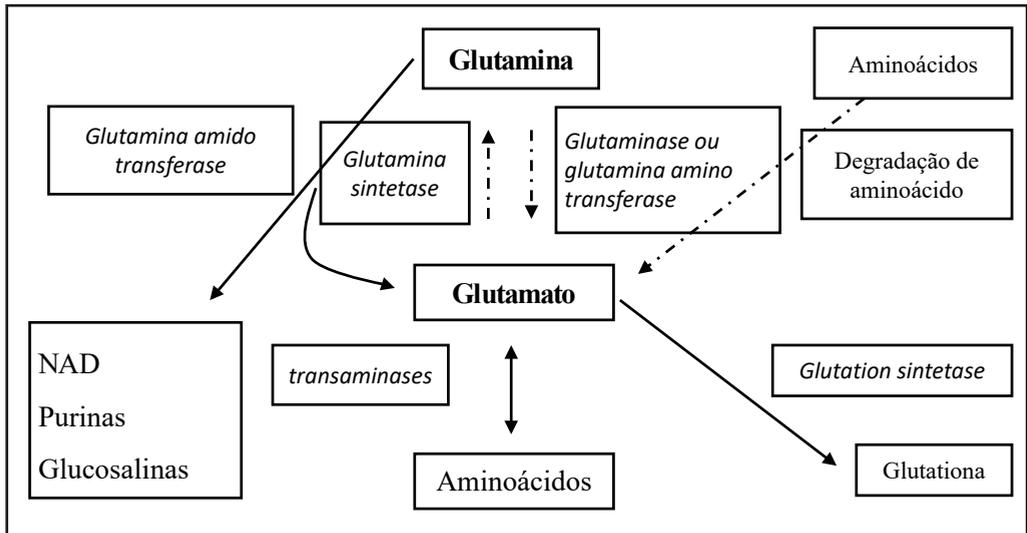


Figura 4.5 – Metabolismo do glutamato nos eritrócitos.

Fonte: figura adaptada de Griffith & Meister, 1979.

8.1.3. Glutamato no plasma, eritrócitos e músculo, em relação à insulina

Elwyn *et al.* (1972) estudaram a distribuição do glutamato entre eritrócitos e plasma (2-4:1 a favor dos eritrócitos), indicando que os eritrócitos poderiam ter um papel especial como transportadores desse aminoácido do intestino ao fígado e a outros tecidos periféricos. Aoki *et al.* (1972), reportaram que os eritrócitos são também importantes no transporte de glutamato para o músculo.

Divino Filho *et al.* (1997 e 1998), estudando distúrbios do metabolismo proteico, encontraram altos níveis de glutamato em eritrócitos e no plasma, sendo o único aminoácido com correlação inversa entre eritrócitos e músculo. Por exemplo, ao trabalhar com pacientes urêmicos, detectaram acúmulo de glutamato em eritrócitos, sem encontrar um regulador que ocasionasse tal acúmulo. À luz dos resultados em ambos os trabalhos, o glutamato em eritrócitos poderia ser um

melhor índice do metabolismo de proteínas do que o glutamato no plasma, conceito que ainda não foi confirmado. Além disso, verificar que a concentração de glutamato em eritrócitos – não no plasma – é inversamente correlacionada com os níveis do glutamato no músculo de pacientes com hemodiálise, poderia indicar que este aminoácido se acumula nos eritrócitos quando ingressa em baixa quantidade no músculo.

8.1.4. Glutamato, no plasma e em eritrócitos relacionado a carboidratos

Stegink *et al.* (1983), sempre estudando as concentrações de glutamato em eritrócitos, observaram um possível efeito dos carboidratos sobre os níveis de glutamato nessas células e no plasma em humanos que ingerem uma grande dose de glutamato monossódico na água, 50 mg/kg p.c. O estudo foi realizado quantificando as concentrações de glutamato e comparando-as com as de uma forma líquida (hidrolisado de milho), em vez de água.

O glutamato dissolvido somente em água resultou em um pico alto no plasma; por outro lado, ao se agregar carboidratos à solução, o pico diminuiu. O carboidrato poderia servir como fonte de piruvato para as células mucosas, facilitando a transaminação do glutamato, o que reduziria sua liberação à circulação periférica. Baixas concentrações de glutamato no plasma, depois de se ingerir diversos alimentos com glutamato, poderiam indicar que, nelas, há carboidratos. O processo aumentaria o catabolismo do glutamato na mucosa e a baixa liberação da glicose na circulação periférica. Há dados consistentes (Windmueller, 1982) que indicam que glutamato e glutamina são os substratos de maior energia para o intestino.

8.1.5. Glutamato como parte da glutationa

- A glutationa, segundo Kondo *et al.* (1984), é o tripeptídeo glutamil-cisteinil-glicina formado por três aminoácidos não essenciais: glutamato, cisteína e glicina (Glu-Cys-Gly).
- A molécula de glutationa é nitrogenada e contém enxofre, é intracelular e é a mais comum em toda célula viva, de 0,1 a 10 mM, em forma reduzida (GSH) e em forma oxidada (GSSG).
- Seu grupo tiol (SH) lhe outorga a estabilidade que lhe permite cumprir seu papel como antioxidante e limpador biológico (*scavenger*) importante, participando ainda da regulação de genes e nas reações redox.

- Em sua forma reduzida (GSH) atua como redutor, mantendo, em forma reduzida, o grupo sulfidril de algumas enzimas.
- Para a biossíntese da glutatona, o glutamato se condensa com o aminoácido cisteína em uma primeira reação catalisada pela enzima γ -glutamil-cisteína sintetase, formando γ -glutamil-cisteína. Esta última molécula, em combinação com a glicina, forma a glutatona (reduzida) graças à glutatona sintetase. Toda a síntese ocorre dentro da célula.
- A glutatona está presente em micro-organismos, em tecidos animais e vegetais;
- No homem, está presente no fígado, rins, pulmões, coração, intestinos e músculos;
- Dentro das células, está nas mitocôndrias, no retículo endoplasmático e núcleo das células. Neste último local, aumenta sua concentração na apoptose ou morte celular programada.
- Transporta e armazena a cisteína como γ -glutamil-cisteína no rim.
- Estabiliza as membranas dos eritrócitos.
- Participa na síntese de DNA e RNA, eicosanoides, leucotrienos e outras biomoléculas.
- Atua como antioxidante, desintoxicando xenobióticos eletrofílicos, como, por exemplo, ao reduzir o peróxido (H_2O_2) até água em uma simultânea oxidação de glutatona (GSH) a glutatona bissulfito (GSSG).
- Protege estruturas reativas de oxigênio, presentes na formação de vitaminas C e E, a partir de seus produtos oxidados.
- Participa na atividade antioxidante do selênio como cofator da glutatona peroxidase e da piridoxina.
- Sua insuficiência leva à deterioração da defesa antioxidante, ligada a diversas enfermidades. Associa-se à síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS), hepatite, cirrose, diabetes, queimaduras e desnutrição energética proteica.
- Além disso, é transportador de aminoácidos em vários tipos de células.
- Protege as células da radiação e das toxinas do meio ambiente. É muito clara a formação de um derivado mercaptúrico a partir de um contaminante orgânico muito perigoso, como é o diclorobenzeno. Inicia-se com a atuação da glutatona sobre o diclorobenzeno, pela ação enzimática da GSH-S-transferase, a qual permite a eliminação de um HCl, formado

pelo H da glutatona reduzida e um cloro (Cl) do diclorobenzeno. Assim, fica a glutatona interligada à molécula do contaminante justamente na ligação da qual se liberou o cloro (Cl). Depois da ação da γ -glutamil transpeptidase, o glutamato se separa, seguido de uma reação similar que separa a glicina. Dessa forma, fica o anel unido somente à cisteína, momento em que, pela ação de uma N-acetilase, se desprende uma CoA gerando o ácido mercaptúrico, o qual não é tóxico.

Sobre a função da glutatona como transportador de aminoácidos, Meister (1988) descreve com detalhe essa função específica, motivo pelo qual, desde então, o processo bioquímico é conhecido com *Esquema de Alton Meister* (1988 e 1990) (Figura 4.6).

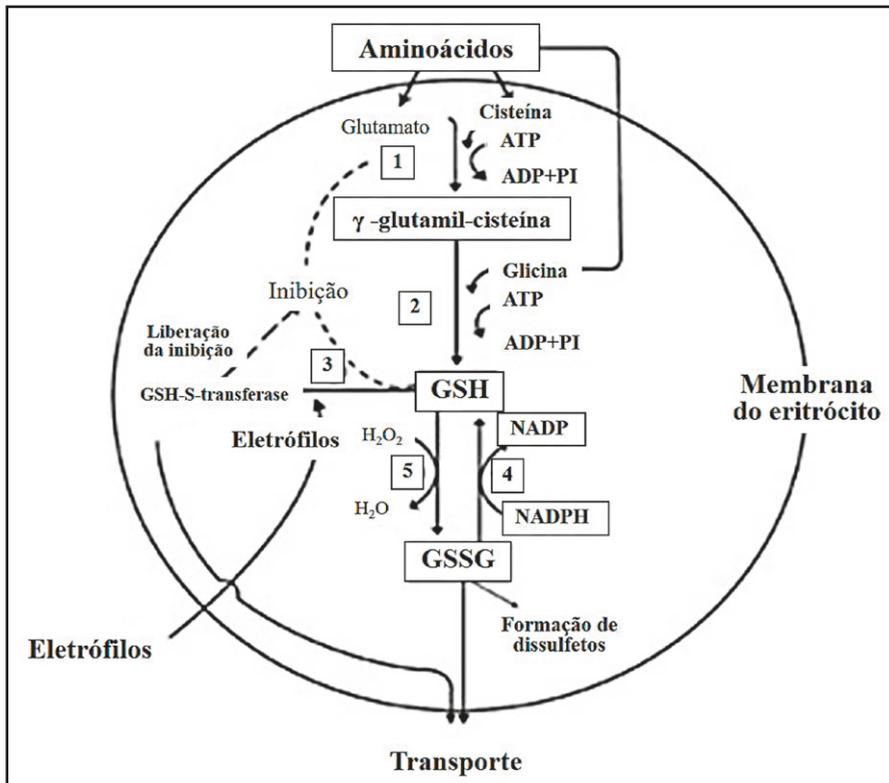


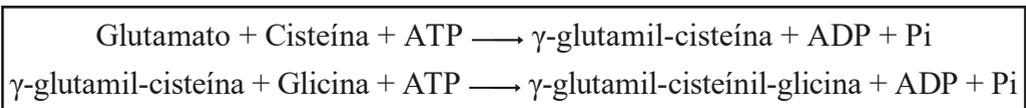
Figura 4.6 – Inter-relações metabólicas envolvidas na síntese de glutatona em eritrócitos humanos.

- (1) enzima GC sintetase; (2) enzima glutatona sintetase; (3) enzima GSH-S-transferase; (4) enzima glutatona reductase; (5) enzima glutatona peroxidase.

Fonte: figura baseada no ciclo γ -glutamil ou *Esquema de Alton Meister*, sobre o transporte de aminoácidos de fora para dentro da célula. Herrera, 1993.

Conforme o *Esquema de Alton Meister*, a síntese de glutatona ocorre quando o glutamato se une à cisteína e à glicina, dentro da célula, seguindo as seguintes etapas:

1. Primeiramente, tendo ATP como fonte de energia e pela ação da enzima γ -glutamil-cistenil sintetase, se forma o dipeptídeo glutamil-cisteína, ao unir-se o ácido glutâmico com a cisteína.
2. Depois, numa segunda reação pela enzima glutatona sintetase, o dipeptídeo glutamil-cisteína adiciona glicina, formando o tripeptídeo γ -glutamil-cisteína-glicina ou glutatona.



3. Uma vez sintetizada, a glutatona se hidrolisa ou se degrada a γ -glutamil para receber um novo aminoácido; com ele, atravessa a membrana celular, o libera no interior da célula e sai novamente para recompor o tripeptídeo.

Conseqüentemente, o transporte de aminoácidos – *via glutamil* – tem características muito próprias:

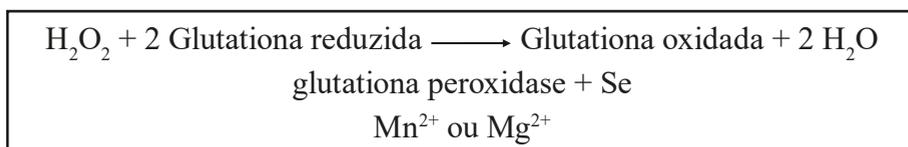
- É custoso do ponto de vista energético, devendo-se hidrolisar 3 ATP.
- Nenhuma enzima se ativa por íons Na^+ , como ocorre no transporte de aminoácidos.
- Os aminoácidos ingressam na célula seguindo um gradiente de Na^+ e, em seguida, esses íons são expulsos da célula por ATPase Na^+ e K^+ .
- A síntese ocorre por ações sequenciais da γ -glutamil-cisteína e a glutatona sintetase, em uma reação que é inibida por retroalimentação da glutatona reduzida.
- A interrupção de GSH se inicia pela ação da γ -glutamil transpeptidase, que catalisa a transferência do grupo γ -glutamil da glutatona por receptores de aminoácidos, dipeptídeos e H_2O .
- Desses aminoácidos, a cisteína é o receptor mais ativo, enquanto que a metionina e a glutamina são receptores menos ativos.
- A cisteinilglicina, formada na reação de transpeptidação, é degradada pela enzima dipeptidase em glicina e cisteína.

- Os aminoácidos γ -glutamil formados em transpeptidação são substratos da γ -glutamil ciclotransferase, que os converte em 5-oxoprolina e a ela, em glutamato.

9. AÇÃO ANTIOXIDANTE DA GLUTATIONA

Ainda que nem todos os livros de bioquímica aceitem o transporte de aminoácidos pela glutathione, todos privilegiam sua função como parte importante do sistema de defesa antioxidante interna do corpo. Dessa forma, dão suporte à atividade das vitaminas antioxidantes C e E, reduzindo espécies reativas do oxigênio como o peróxido de hidrogênio, graças à enzima glutathione peroxidase, conforme a seguinte reação:

Enzima glutathione peroxidase transformando glutathione reduzida em glutathione oxidada:



A reação anterior requer selênio para formar glutathione oxidada, que já não tem propriedades protetoras. Porém, pode regressar à sua forma reduzida pela enzima glutathione reductase, empregando NADPH como fonte de elétrons. Os eritrócitos obtêm NADPH através da via das pentose fosfato.

Assim, o sistema da glutathione peroxidase/glutathione reductase se apresenta no organismo como um meio de defesa, combatendo os intermediários reativos do oxigênio, capazes de causar dano a órgãos e tecidos. A glutathione reductase é uma enzima que catalisa a redução da glutathione oxidada a glutathione reduzida, a qual será utilizada pela glutathione peroxidase para a redução do peróxido e de lipoperóxidos, espécies reativas do oxigênio.

A enzima glutathione peroxidase tem um papel importante na defesa antioxidante. Devido à sua presença nos diferentes tecidos e órgãos, está envolvida na fisiopatologia de várias enfermidades, tais como câncer, diabetes mellitus, obesidade, úlcera péptica, mal de Parkinson, isquemia e envelhecimento.

Fica claro que a função fundamental da glutathione é proteger a célula contra a ação de agentes oxidantes endógenos e exógenos, manter a estabilidade da membrana, contribuir na manutenção da estrutura da hemoglobina, participar na síntese de proteínas nos reticulócitos, assim como preservar algumas enzimas e proteínas da membrana (Tabela 4.2).

Tabela 4.2 – Efeitos que podem ser esperados de um suplemento de glutatona

Previne cataratas	Estabiliza o nível de açúcar no sangue
Previne descolamento de retina	Protege o sistema digestivo
Previne o câncer	Melhora o sistema imunológico
Põe fim ao crescimento de tumores	Retarda o processo de envelhecimento
Desintoxica o fígado	Otimiza o resultado atlético
Desintoxica o sistema linfático	Reduz o dano cerebral por embolia
Retira as fleumas nos pulmões	Diminui o nível de colesterol
Previne doença cardíaca, artrite	Protege os eritrócitos
Previne diabetes	

A glutatona diminui com a idade, exercício violento e doenças como diabetes, fibrose cística, AIDS (*acquired immunodeficiency syndrome*), cirrose, infecções, má nutrição proteica e tratamentos quimioterápicos, entre outros.

Em um trabalho de Martínez *et al.* (2006), sobre conceitos atuais do metabolismo da glutatona e a utilização dos isótopos estáveis para a avaliação da sua homeostase, reafirma-se que o transporte estereoespecífico de aminoácidos livres da dieta e dos liberados na digestão ocorre, preferencialmente, no rim e no intestino. Cinco sistemas de transporte são detalhados a seguir, para o caso dos aminoácidos livres:

1. Aminoácidos de 2 e 3 carbonos (glicina e alanina) e aminoácidos neutros (valina leucina e isoleucina). Deve ser lembrado que os dois primeiros também são neutros.
2. Aminoácidos aromáticos: triptofano, fenilalanina, tirosina e aminoácidos neutros.
3. Aminoácidos básicos: lisina, arginina e histidina.
4. Aminoácidos neutros e aromáticos.
5. Para aminoácidos livres como transporte de dipeptídeos ou *Esquema de Alton Meister*.

9.1. Glutamato como precursor do carboxiglutamato na coagulação do sangue

O γ -carboxiglutamato (GLA) é a estrutura que permite a maturação dos fatores de coagulação II, VII, IX e X.

Como o glutamato forma γ -carboxiglutamato?

Champe *et al.* (2004) demonstraram como resíduos de glutamato com CO_2 , O_2 e a forma hidroquinona da vitamina K formam γ -carboxiglutamato (GLA). GLA é uma molécula que, por estar presente na protrombina, com sua ação quelante sobre íons Ca^{++} forma o complexo protrombina-cálcio que se une às plaquetas. Outros resíduos de γ -carboxiglutamato se encontram em outras proteínas, como a osteocalcina, sem se saber o papel que desempenham.

9.2. Glutamato em outros tecidos importantes

9.2.1. Glutamato no leite materno

O glutamato, segundo a Composição de Aminoácidos nos Alimentos da FAO (1981), é o aminoácido livre mais abundante do leite materno humano, 952 mg/g de N, o que poderia indicar que cumpre um papel determinante no desenvolvimento do intestino do bebê.

A respeito disso, Sarwar (1998) compilou trabalhos que ressaltam o papel do glutamato e da glutamina na síntese de proteínas e de ácidos graxos do leite de mamíferos. Verifica-se a presença de 1.339-2.157 $\mu\text{mol/L}$ de glutamato livre no leite humano, um pouco mais do que em leite de elefanta (1.332 $\mu\text{mol/L}$) e de égua (1.119 $\mu\text{mol/L}$) e muito mais do que no leite de vaca (349 $\mu\text{mol/L}$). O leite materno humano, rico em glutamato e glutamina, teria um papel protetor frente a enfermidades crônicas como as alergias. Por outro lado, a presença de outros aminoácidos livres como treonina e cisteína, participariam na síntese de glicoproteínas do muco intestinal, na síntese das proteínas produzidas pelas células imunes e na síntese de glutatona.

9.2.2. Glutamato no fígado fetal e na placenta

Battaglia (2000) estudou o glutamato na placenta onde, de maneira similar àquilo que ocorre no enterócito de adultos, é utilizado como fonte importante de energia, e faz isso em uma alta porcentagem (60% da disponibilidade de glutamato). O fígado do feto é o fornecedor dominante de glutamato, ainda que a placenta possa diretamente utilizar glutamato proveniente do sangue materno. Não se conhece o motivo dos intestinos dos adultos e a placenta consumir quantidades elevadas de glutamato para a geração de energia. O grupo amino do glutamato, ao sofrer desaminação, forma NH_4^+ , ficando seu esqueleto de carbono para obter energia quando há déficit. Tanto o transporte como o metabolismo

do glutamato e da glutamina durante o desenvolvimento fetal, de acordo com o estudado por Battaglia (2000), apresentam as seguintes características que enfatizam a interação desses aminoácidos entre a placenta e o fígado fetal:

- A glutamina é enviada à circulação fetal mais rapidamente do que outros aminoácidos.
- 45% dos carbonos da glutamina do feto participam da produção de glutamato; em vez disso, somente 6% de carbonos do glutamato são convertidos em glutamina na placenta. Os carbonos restantes do plasma fetal são convertidos em CO₂.
- A quantidade retirada de glutamato disponível no plasma materno para a placenta é maior do que 60%.
- Por outro lado, 90% do glutamato no plasma fetal são excretados pela placenta.
- O metabolismo do glutamato e da glutamina no feto tem sido pouco estudado.

Finalmente, a placenta e o intestino dos adultos utilizam glutamato como importante fonte de energia, até 60% do glutamato total fetal.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBARRACÍN, S. L. *et al.* “L-Glutamato: un aminoácido clave para las funciones sensoriales y metabólicas”. *Arch Latinoam Nutr.* 66(2): 2016.
- AOKI, T. T. *et al.* “Effect of insulin on muscle glutamate uptake. Whole blood versus plasma glutamate analysis”. *J Clin Invest.* 51(11): 2889-2894, 1972.
- BATTAGLIA, F. C. “Glutamine and glutamate exchange between the fetal liver and the placenta”. *J Nutr.* 130 (4S Suppl): 974S-977S, 2000.
- BATTEZZATI, A.; BRILLON, D. J. & MATTHEWS, D. E. “Oxidation of glutamic acid by the splanchnic bed in humans”. *Am J Physiol.* 269: E269-E276, 1995.
- BERG, J. *et al.* *Biochemistry.* 8. ed. New York, Freeman and Company, 2015.
- BROSNAN, J. T. *et al.* “Alanine metabolism in the perfused rat liver. Studies with (15)N”. *J Biol Chem.* 276(34): 31876-31882, 2001.
- BYRD-BREDBENNER, C. *et al.* *Perspectives in nutrition.* 8. ed. New York, Mc Graw Hill, 2009.

CHAMPE, P.; HARVEY, H. A. & FERRIER, D. S. “Aminoácidos: eliminación del nitrógeno”. In: CHAMPE, P.; HARVEY, H. A. & FERRIER, D. S. *Bioquímica*. 3. ed. México, McGraw-Hill Interamericana, 2004.

CODEX, CODEX ALIMENTARIUS. *Sistema Internacional de Numeração de Aditivos Alimentares. vol. 1A: Sección 5. Aditivos Alimentarios*. Roma, FAO 1999.

DIVINO FILHO, J. C. *et al.* “Free amino-acid levels simultaneously collected in plasma, muscle, and erythrocytes of uraemic patients”. *Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 12(11): 2339-2348, 1997.

DIVINO FILHO, J. C. *et al.* “Glutamate concentration in plasma, erythrocyte and muscle in relation to plasma levels of insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-1 and insulin in patients on haemodialysis”. *The Journal Of Endocrinology*. 156(3): 519-527, 1998.

ELWYN, D. H. *et al.* “Roles of plasma and erythrocytes in interorgan transport of amino acids in dogs”. *Am J Physiol*. 222(5): 1333-1342, 1972.

ESPINOSA, R. M. M. *Avances en el metabolismo del nitrógeno*. Editorial Club Universitario, San Vicente del Raspeig, Alicante, España, 2017.

FAO, ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA. *Contenido en aminoácidos de los alimentos y datos biológicos sobre las proteínas. Colección FAO: alimentación y nutrición n. 21*. 3. ed., Roma, 1981.

FEIGIN, R. D.; KLAINER, A. S. & BEISEL, W. R. “Circadian periodicity of blood amino acids in adult man”. *Nature*. 215: 512-514, 1967.

FEIGIN, R. D.; KLAINER, A. S. & BEISEL, W. R. “Factors affecting circadian periodicity of blood amino acids in man”. *Metabolism*. 17(9): 764-775, 1968.

FERNÁNDEZ VELASCO, D. A. “Estructura y propiedades de las proteínas”. In: LAGUNA, J. & PIÑA, E. *Bioquímica de Laguna*. 5. ed. México, Manual Moderno, 2002.

FERNSTROM, J. D. “Pituitary hormone secretion in normal male humans: Acute responses to a large, oral dose of monosodium glutamate”. *J Nutr*. 130(4S Suppl): 1053S-1057S, 2000.

- FILER L. J. *et al.* *Glutamic Acid: advances in biochemistry and physiology*. New York, Raven Press, 1979.
- GARATTINI, S. J. “Glutamic acid, twenty years later”. *J Nutr.* 130(4S): 901S-909S, 2000.
- GRIFFITH, O. W. & MEISTER, A. “Glutathione: interorgan translocation, turnover, and metabolism”. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76(11): 5606-5610, 1979.
- HERRERA, E. *Elementos de bioquímica*. México, Interamericana McGraw-Hill, 1993.
- HORTON, H. R., *et al.* *Bioquímica*. México, Prentice Hispanoamericana, 1997.
- ISG, INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON GLUTAMATE. *The journal of nutrition: official publication of the american society for nutritional sciences*. October 1998. Bergamo, Rockville Pike, Bethesda, 130 (4 S), 2000.
- JONES, M. E. “Conversion of glutamate to ornithine and proline: pyrroline-5-carboxylate, a possible modulator of arginine requirements”. *J Nutr.* 115: 509-515, 1985.
- KONDO, T.; TANIGUCHI, N. & KAWAKAMI, Y. “Significance of glutathione S-conjugate for glutathione metabolism in human erythrocytes”. *Eur J Biochem.* 145(1): 131-136, 1984.
- LOZANO, J. *Bioquímica para ciencias de la salud*. 2. ed. Madrid, McGraw-Hill Interamericana, 2001.
- MARTÍNEZ, S. M. *et al.* “Conceptos actuales del metabolismo del glutatión”. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 40 (1): 45-51, 2006.
- MATAIX, J. & NAVAS, P. “Aminoácidos y otros componentes nitrogenados considerados nutrientes condicionalmente esenciales”. In: MATAIX, J. *Nutrición y alimentación humana*, tomo II. Barcelona, Océano/Ergon, 2005.
- MATHEWS, C. K. & VAN HOLDE, K. E. *Metabolismo de los compuestos nitrogenados: principios de la biosíntesis, la utilización y el recambio bioquímica*. 2. ed. Madrid, McGraw-Hill Interamericana, 2000.
- MEISTER, A. “Glutathione metabolism and its selective modification”. *J Biol Chem.* 263: 17205-17208, 1988.

- MEISTER, A. "On the transamination of enzymes". *Ann N Y Acad Sci.* 585: 13-31, 1990.
- MONTGOMERY, R.; CONWAY, T. & SPECTOR, A. *Bioquímica, casos y texto.* Madrid, Mosby-Year Book Wolfe Publishing, 1992.
- MOURTZAKIS, M. & GRAHAM, T. E. "Glutamate ingestion and its effects at rest and during exercise in humans". *J Appl Physiol.* 93: 1251-1259, 2002.
- MUNRO, H. N. "Factors in the regulation of glutamate metabolism". In: FILER, L. J. *et al.* (ed). *Glutamic acid: advances in biochemistry and physiology.* New York, Raven Press, 1979, pp. 55-68.
- MURRAY, R. K. "Eritrocitos y leucocitos". In: *Bioquímica de Harper.* 16. ed. México, Manual Moderno, 2000.
- NEAME, K. D. & WISEMAN, G. "The alanine and oxo acid concentrations in mesenteric blood during the absorption of L-glutamate acid by the small intestine in dog, cat and rabbit in vivo". *J Physiol.* 140: 148-155, 1958.
- NELSON, L. D. & COX, M. M. *Lehninger principles of biochemistry.* 3. ed. New York, Worth Publisher, 2000.
- NIIJIMA, A. "Reflex effects of oral, gastrointestinal and hepatoportal glutamate sensors on vagal nerve activity". *J Nutr.* 130: 971S-973S, 2000.
- NINOMIYA, K. "Natural occurrence". *Food Rev Int.* 14 (2): 177-211, 1998.
- OLNEY, J. W. "Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate". *Science.* 164: 719-721, 1969.
- OLNEY, J. W. & HO, O. L. "Brain damage in infant mice following oral intake of glutamate, aspartame or cysteine". *Nature.* 277: 609-611, 1970.
- ORTIZ URETA, C. A. *Repasando bioquímica y nutrición.* 2. ed. Lima, Universidad de San Martín de Porres, 2012, p. 536.
- PREZIOSO, G. & SCALERA, V. "Sequential ordered mechanism for the sodium-glutamate transport in intestinal brush border membrane vesicles". *Biochim Biophys Acta.* 1279(2): 144-148, 1996.
- REEDS, P. J. *et al.* "Enteral glutamate is almost completely metabolized in first pass by the gastrointestinal tract of infant pups". *Am J Physiol.* 270: E413-E418, 1996.

- REEDS P. J. *et al.* "Enteral glutamate is the preferential precursor for mucosal glutathione synthesis in the piglet". *Am J Physiol.* 273: E408-E415, 1997.
- REEDS, P. J. *et al.* "Intestinal glutamate metabolism". *J Nutr.* 130: 978S-982S, 2000.
- ROSE, W. C. "The nutritive significance of the amino acids". *Physiol. Rev.* 18:109-136, 1938.
- SARWAR, G. *et al.* "Free amino acids in milks of human subjects, other primates and non-primates". *Brit J Nutr.* 79: 129-31, 1998.
- Science and Technology Agency of Japan. *The standard tables of food composition in japan, amino acids.* Tokyo, Printing Bureau, Ministry of Finance, 1986.
- STEGINK, L. D.; FILER, L. J. Jr. & BAKER, G. L. "Plasma and erythrocyte amino acid levels in normal adult subjects fed a high protein meal with and without added monosodium glutamate". *J Nutr.* 112(10): 1953-1960, 1982a.
- STEGINK, L. D.; FILER, L. J. Jr. & BAKER, G. L. "Effect of aspartame plus monosodium L-glutamate ingestion on plasma and erythrocyte amino acid levels in normal adult subjects fed a high protein meal". *Am J Clin Nutr.* 36(6): 1145-1152, 1982b.
- STEGINK, L. D.; FILER, L. J. Jr. & BAKER, G. L. "Effect of carbohydrate on plasma and erythrocyte glutamate levels in humans ingesting large doses of monosodium L-glutamate in water". *Am J Clin Nutr.* 37(6): 961-968, 1983.
- TSAI, P. J. & HUANG, P. C. "Circadian variations in plasma and erythrocyte glutamate concentrations in adult men consuming a diet with and without added monosodium glutamate". *J Nutr.* 130(4S Suppl): 1002S-1004S, 2000.
- VERNON, R. Y. & AJAMI, A. M. "Glutamate: An Amino Acid of Particular Distinction". *J Nutrition.* 130: 892S-900S, 2000.
- VILLAVICENCIO, M. *Bioquímica*, tomo II. Lima, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2007, p. 410.
- WATFORD, M. Net interorgan transport of L-glutamate in rats occurs via the plasma, not via erythrocytes, *The Journal of Nutrition*, 132(5), 952-956, 2002.
- WHITE, A. *et al.* *Principles of biochemistry.* 6. ed. Tokyo, McGraw-Hill Kogakusha, 1978.

WINDMUELLER, H. G. & SPAETH, A. E. "Intestinal metabolism of glutamine and glutamate from the lumen as compared to glutamine from blood". *Arch Biochem Biophys.* 171: 662-672, 1975.

WINDMUELLER, H. G. "Glutamine utilization by the small intestine". *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol.* 53: 201-237, 1982.

WU, G. "Intestinal mucosal amino acid catabolism". *J Nutr.* 128: 1249-1252, 1998.

YANG, D. & BRUNENGRABER, H. "Glutamate, a window on liver intermediary metabolism". *J Nutr.* 130(4S Suppl): 991S-994S, 2000.

YOUNG, V. R. & AJAMI, A. M. "Glutamate: an amino acid of particular distinction". *J Nutr.* 130(4S Suppl): 892S-900S, 2000.