

PAPEL DOS MINERAIS COMO COFADORES ENZIMÁTICOS*

INTRODUÇÃO

Todas as formas de matéria viva requerem elementos inorgânicos ou minerais para desempenhar os seus processos vitais normais. Entre 80-85 % da matéria mineral corporal, ou cinzas, do corpo está localizada no esqueleto e consiste principalmente de sais de Ca, P e Mg. A glândula tireóide armazena ao redor de 80 % do I do corpo. Os demais minerais estão distribuídos de forma mais uniforme pelo corpo, onde eles existem em uma variedade de combinações e características funcionais. Estes elementos precisam ser mantidos dentro de estreitos limites para que a integridade funcional e estrutural dos tecidos possa ser mantida em segurança, e a saúde e a produção otimizadas.

Ao contrário de outros nutrientes, os minerais não podem ser sintetizados pelos organismos vivos, sendo as suas principais funções: (1) componentes estruturais de órgãos e tecidos, (2) constituintes de tecidos e fluidos corporais como eletrólitos e (3) catalisadores em sistemas hormonais e enzimáticos.

O objetivo desta revisão visa identificar e relacionar os diferentes elementos minerais que atuam como cofatores enzimáticos no organismo, descrevendo sua função apenas no que se refere a este processo específico ao qual estão ligados.

Cofatores são pequenas moléculas orgânicas ou inorgânicas, fraca ou fortemente ligados às enzimas, que podem ser necessárias para a função catalítica da enzima. Estes cofatores não estão ligados permanentemente à molécula da enzima mas, na ausência deles, a enzima é inativa. A fração protéica de uma enzima, na ausência de seu cofator, é chamada de APOENZIMA. Quando unida ao cofator, chamamos de HOLOENZIMA. Vinte e cinco por cento das enzimas corporais possuem cofatores metálicos e são chamadas de metaloenzimas.

Inibidores e ativadores modificam a taxa de uma reação na qual eles não são substratos. São geralmente pequenas moléculas e íons, podendo ser também outras enzimas. A sua ação pode ser reversível ou irreversível. Se ligados covalentemente, são irreversíveis. As ativações e inibições reversíveis são iniciadas por pontes de van der Waals, eletrostáticas e de hidrogênio. Os ativadores aceleram as taxas da reação enzimática por promoverem o estado ativo do substrato ou da enzima. Diferente dos cofatores, os

* Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal (VET00036) do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS pelo aluno CLÓVIS CLENIO DIESEL SENGGER, no primeiro semestre de 2002. Professor da disciplina: Félix H.D. González.

ativadores não entram na reação como bisubstratos. Íons metálicos que ativam enzimas o fazem estabilizando a conformação do seu sítio ativo. Alguns íons metálicos divalentes são essenciais para uma determinada ação enzimática. Eles desempenham um papel fundamental na estrutura e não podem ser facilmente trocados, enquanto outros podem ser livremente intercambiados com a matriz exterior.

OS MINERAIS COMO COFATORES OU ATIVADORES ENZIMÁTICOS

Cálcio (Ca).

Atua na ativação da adenosina-trifosfatase que age na liberação de um grupo fosfato da molécula de ATP, transformando-a em ADP, nos processos de mobilização de energia nas células (Figura 1). O Ca^{+2} também atua ativando a fosforilase quinase na glicogenólise hepática, que fornece glicose para o músculo durante parte da fase aeróbica do exercício, já que o fígado possui a enzima glicose-6-fosfato fosfatase.

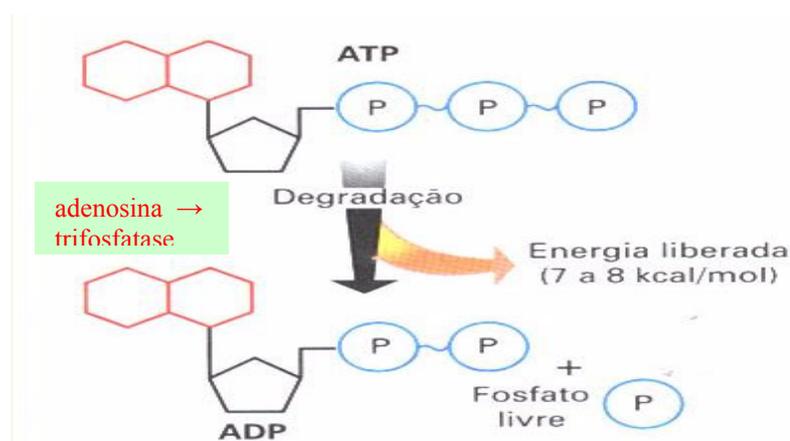


Figura 1. Ação da adenosina-trifosfatase, ativada pelo Ca, na degradação do ATP para liberação de energia.

O Ca atua ainda na regulação de enzimas usando a calmodulina como mediador. Um aumento na concentração intracelular de Ca determina a ativação da calmodulina, formando o complexo Ca-calmodulina o qual ativa diferentes enzimas como fosfodiesterases que atuam na hidrólise de oligonucleotídeos no duodeno, adenilciclase para formação de AMPc no cérebro, fosforilase quinase, glicogênio-sintetase quinase e fosfolipase A_2 .

Em conjunto com o PTH (hormônio da paratiróide), o Ca atua na regulação do nível do 1,25-DHC(dihidroxi-colecalciferol). Baixos níveis plasmáticos de Ca aumentam a

atividade da 25-hidroxi-colecalciferol-1 α -hidroxilase, uma enzima mitocondrial dos túbulos renais, que produz o 1,25-DHC, hormônio ativo.

Magnésio (Mg).

Segundo a literatura, o Mg atua como cofator ou ativador de mais de 300 enzimas no organismo. Entre estas estão as enzimas hexoquinase (Figura 2), e glicoquinase nas quais o Mg é cofator e que atuam na fosforilação da glicose no citosol na fase preparatória da glicólise, além da glicose-6-fosfatase, da fosfogliceratoquinase, da piruvato quinase e da enolase (Fig.3), que atuam em diferentes pontos da glicólise no citosol.

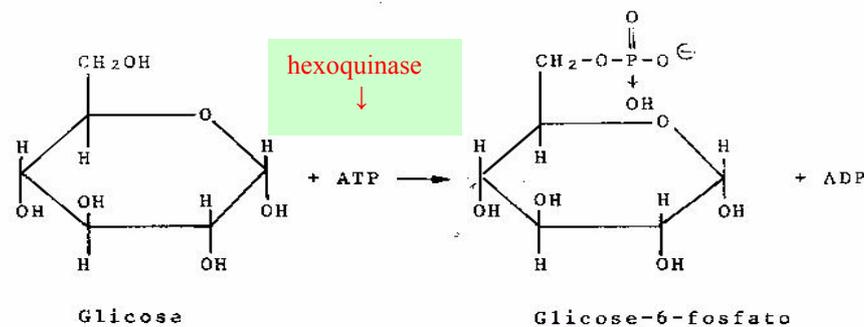


Figura 2. Reação de transferência do radical fosforil externo do ATP para a glicose catalisada pela hexoquinase que tem como cofator o Mg.

Os ruminantes, que absorvem quantidades mínimas de glicose por via intestinal, não possuem a glicoquinase, que é exclusiva do fígado nos monogástricos. A hexoquinase é uma das enzimas regulatórias da via glicolítica, sendo inibida por seu produto (glicose-6-fosfato), que atua como modulador negativo.

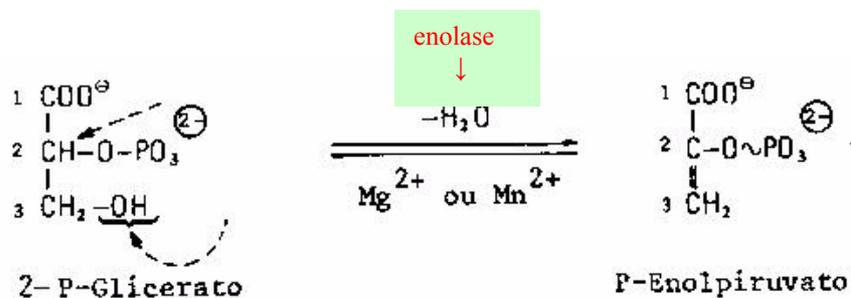


Figura 3 – Efeito da enolase na rota da glicólise no citosol, tendo como cofator o Mg.

O magnésio também atua como cofator de diferentes enzimas na oxidação da glicose pela via das pentoses-fosfato. É cofator das enzimas glicose 6-fosfato desidrogenase que transforma a glicose-6-fosfato em 6-fosfoglicono-lactona (ácido glicônico), da lactonase que transforma este último metabólito em 6-fosfogliconato, da 6-fosfogliconato desidrogenase que transforma este em ribulose-5-fosfato, e da transcetolase tiamina pirofosfato que atua na transformação tanto da ribose-5-fosfato em sedoheptulose-7-fosfato, como na transformação da xilulose-5-fosfato em gliceraldeído-3-fosfato, no ciclo das pentoses-fosfato.

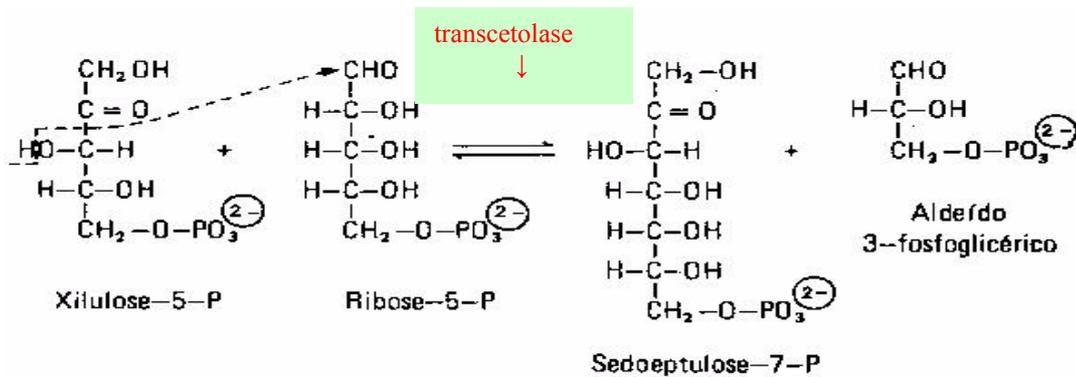


Figura 4. Reação de transferência do fragmento de 2 carbonos da xilulose-5-P para a ribose -5-P no ciclo das pentoses-fosfato, catalisada pela transcetolase que tem Mg como cofator.

É ainda ativador essencial para as enzimas que fazem transferência de grupamentos fosfato como a mioquinase que é importante no sistema adenilato de formação de ATP onde: ATP + AMP por ação da mioquinase formam 2 moléculas de ADP, as quais por fosforilação oxidativa com 2 Pi produzem 2 ATP, além da difosfopiridinad nucleotídeo quinase e creatina quinase.

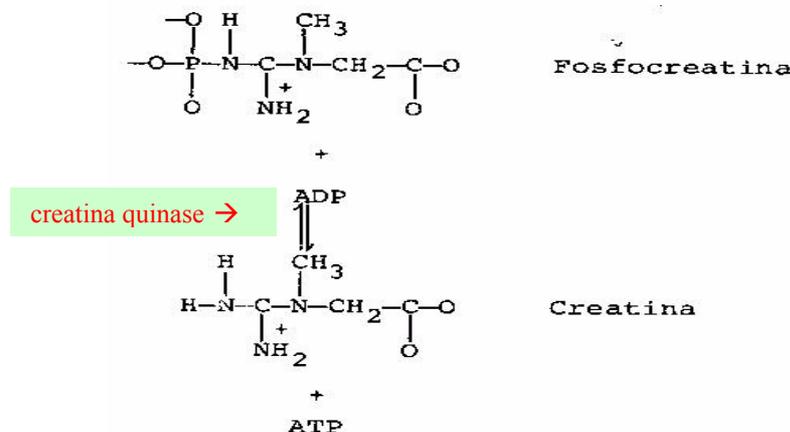


Figura 5. Conversão da creatina em fosfocreatina pela ação da creatina quinase ativada pelo Mg.

O magnésio também ativa a isocitrato desidrogenase que é uma enzima alostérica e se constitui em um dos pontos de controle do ciclo, a piruvato carboxilase que é chamada de reação anaplerótica pois tem a função de restaurar a concentração de um intermediário do ciclo a qual é ativada alostéricamente por acetil-CoA , a piruvato oxidase e as enzimas de condensação nas reações do ciclo de Krebs.

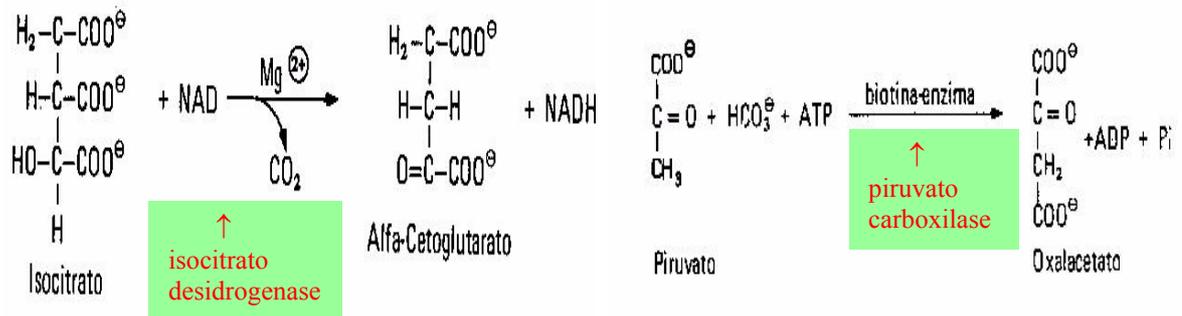


Figura 6. Reações do ciclo de Krebs, cujas enzimas são ativadas pelo magnésio.

Outras enzimas ativadas pelo Mg são a arginina succinato sintetase no ciclo da uréia, a glutamina sintetase (Figura 7), que ocorre no fígado e cujo produto, a glutamina, se constitui em uma espécie de reserva de N, podendo cedê-lo para uma série de compostos (hexosaminas, purinas, etc) ou ainda liberá-lo para a urina, a lactonase e a difosfopiridinad nucleotídeoquinase. No interior da mitocôndria, o Mg está vitalmente envolvido no metabolismo dos carboidratos e lipídios, atuando como catalisador de um amplo número de enzimas.

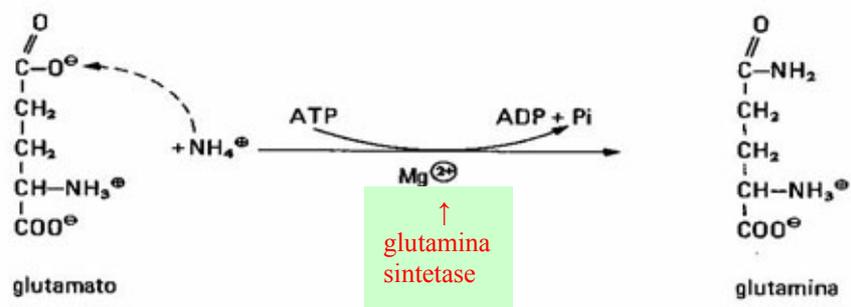


Figura 7. Síntese de glutamina catalisada pela glutamina sintetase em presença de Mg.

Enxôfre (S).

É componente da glutathion peroxidase que tem a função de manter um potencial redox adequado nas células, porém atua de forma antagonista ao selênio que também faz parte da enzima, diminuindo a atividade da mesma quando o nível de selênio na dieta é baixo e o nível de S é alto.

Potássio (K).

O potássio atua ou funciona como cofator em vários sistemas enzimáticos, que incluem a utilização e transferência de energia, síntese protéica e metabolismo dos carboidratos. O K^+ deve se manter em equilíbrio iônico com os íons Na^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} . Alguns dos sistemas enzimáticos ativados ou influenciados pelo K^+ incluem a adenosina trifosfatase, a hexoquinase, anidrase carbônica, amilase salivar que hidrolisa as ligações α -1,4 do amido e glicogênio, piruvato quinase e frutoquinase que faz a fosforilação no carbono 6 da frutose.

Cloro (Cl).

Essencial para ativação da amilase intestinal que faz a hidrólise do amido e dextrinas, sendo desta forma importante na nutrição de monogástricos.

Ferro (Fe).

O ferro está presente em várias enzimas responsáveis pelo transporte de elétrons (citocromos), para ativação do oxigênio (oxidases e oxigenases) e para o transporte de oxigênio. O sistema citocromo (Figura 8), é uma série de reações nas quais ocorre oxidação com produção de ATP e formação de H_2O . Os citocromos são transportadores de elétrons, ligando a oxidação do substrato com a redução do oxigênio molecular no metabolismo aeróbico.

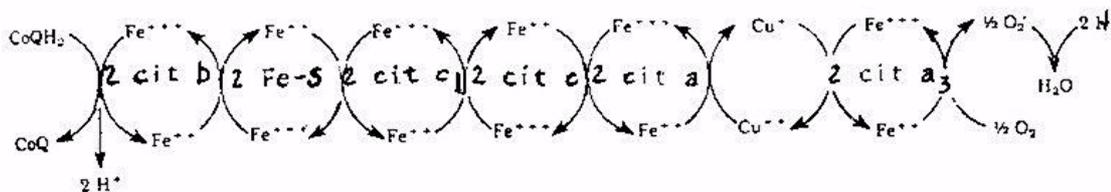


Figura 8. Ação dos citocromos na cadeia respiratória.

As enzimas que contém ferro incluem a catalase, citocromo A, B, e C, lactoperoxidase no leite, verdoperoxidase nos leucócitos, succinato desidrogenase, a fosfatase no fluido uterino em suínos e glutamato formimino-transferase.

As enzimas ativadas pelo ferro incluem a triptofano peroxidase-oxidase, aconitase, fenilalanina hidroxilase e histidina descarboxilase. As enzimas catalase e peroxidase, quebram as moléculas de peróxido na presença de agentes redutores. Os citocromos funcionam como transportadores de elétrons, ligando a oxidação do substrato com a redução do oxigênio molecular no metabolismo aeróbico. O ferro desempenha papel significativo no ciclo do ácido tricarboxílico, já que todas as 24 enzimas envolvidas contêm Fe tanto nos seus centros ativos ou como cofator essencial.

Na pigmentação das penas de certas raças de frango o feno pode ser um componente essencial de uma enzima envolvida na formação da melanina.

Cobalto (Co).

Embora pela sua função não esteja perfeitamente enquadrado neste estudo, o Co foi aqui incluído pela sua importância indireta como componente da vitamina B₁₂, a qual é parte essencial de vários sistemas enzimáticos que desempenham funções metabólicas básicas. A maioria das reações das enzimas da vitamina B₁₂, envolve a transferência ou síntese de unidades de um carbono, especialmente grupos metila. Embora as ações mais importantes da vitamina B₁₂ sejam referentes ao metabolismo dos ácidos nucléicos e proteínas, ela também atua em: (1) síntese de purinas e pirimidinas; (2) transferência de grupos metila; (3) formação de proteínas à partir de aminoácidos; e (4) metabolismo dos carboidratos e das gorduras.

No metabolismo animal, o propionato dietético ou de origem metabólica é convertido a succinato, o qual entra no ciclo de Krebs. O propionato é um composto de 3 carbonos, e o succinato de 4 carbonos, portanto este processo requer a introdução de uma unidade de carbono. A metilmalonil-CoA isomerase é uma enzima que requer vitamina B₁₂, a qual catalisa a conversão de metilmalonil-CoA para succinil-CoA.

O metabolismo do ácido propiônico é de especial interesse na nutrição de ruminantes em função das grandes quantidades produzidas durante a fermentação dos carboidratos no rúmen. A principal fonte de energia para os ruminantes não é glicose, mas principalmente os ácidos acético e propiônico. Na deficiência de Co ou de vitamina B₁₂, a taxa de desaparecimento de propionato do sangue é diminuída e ocorre acúmulo de metilmalonil-CoA. Isto resulta em acréscimo na excreção urinária do ácido metilmalônico

e também perda de apetite porque a diminuição do metabolismo do propionato leva à um aumento nos níveis sanguíneos de propionato, o que está inversamente correlacionado com o consumo voluntário de alimento.

Cobre (Cu).

É um componente essencial de várias metaloenzimas fisiologicamente importantes entre as quais a citocromo oxidase, a lisil oxidase, a superóxido dismutase, a dopamina β -hidroxilase e a tirosinase.

O cobre é constituinte da importante metaloenzima citocromo oxidase, que é a oxidase terminal da cadeia respiratória: ela catalisa a redução do O₂ a água, um passo essencial na respiração celular.

A lisil oxidase é uma enzima chave na formação das ligações cruzadas de colágeno e elastina que contém cobre, a qual é necessária para adicionar um grupo hidroxila aos resíduos de lisina no colágeno, permitindo a ligação cruzada entre as fibras do colágeno. A ligação cruzada dá à proteína a rigidez e elasticidade estrutural.

A despigmentação é a principal manifestação da deficiência de cobre em muitas espécies, fato observado usualmente nos pelos e na lã de mamíferos e atribuída à ausência de atividade da tirosinase (polifenil oxidase). A provável explicação é uma quebra na conversão de tirosina em melanina.

A ligação da deficiência de Cu e a integridade do sistema nervoso central, ou seja, a ataxia enzoótica em cordeiros, resulta de uma redução da atividade da citocromo oxidase e assim uma incompleta formação de mielina.

A relação do Cu com o sistema imune ocorre através da superóxido dismutase, uma enzima dependente de Zn, Cu e Mn e o seu papel nos sistemas de fagocitose microbiana. Em bovinos afetados por deficiência de cobre, os neutrófilos tiveram diminuída a sua capacidade de ingerir *Candida albicans*.

Aumentos dos níveis de triglicerídios, fosfolipídios e colesterol no soro de ratos alimentados com baixos níveis de Cu, juntamente com alterações da função cardíaca, estão associados a alterações no metabolismo dos lipídios e ácidos graxos de cadeia longa, o que pode ser atribuído ao papel predominante do Cu no sistema enzimático superóxido dismutase.

Zinco (Zn).

O zinco está associado com enzimas tanto como parte da molécula, quanto como ativador. No seu papel estrutural, o Zn usualmente estabiliza a estrutura quaternária das enzimas. Em 1939 já ficou demonstrado que o Zn era constituinte da metaloenzima anidrase carbônica. Hoje se sabe que o Zn participa de vários sistemas enzimáticos, especialmente DNA e RNA polimerases (Figura 9), sendo portanto participante de processos de proliferação celular e síntese de proteínas.

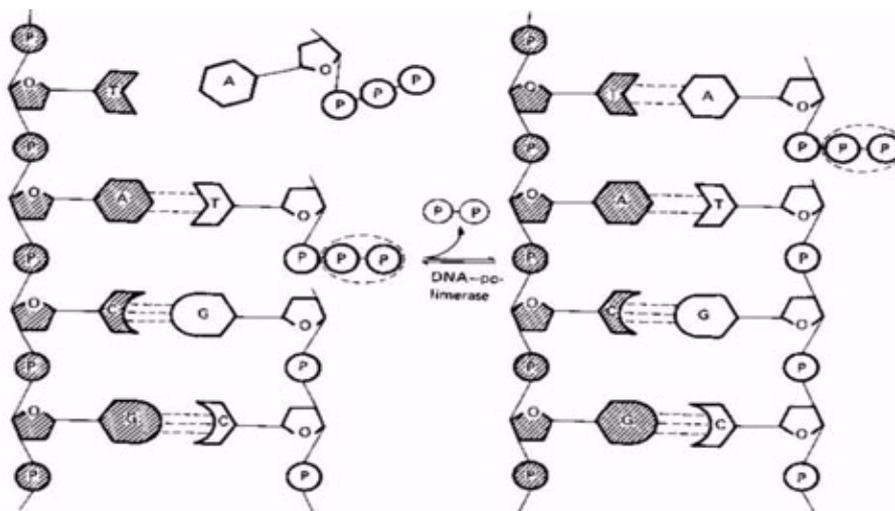


Figura 9. Mecanismo de ação da DNA-polimerase, dependente de Zn.

A deficiência de Zn diminui a atividade da fosfatase alcalina no plasma; da álcool desidrogenase no fígado, retina e testículos; da timidina quinase no tecido conectivo e fetal; da carboxipeptidase A pancreática e da RNA-polimerase DNA-dependente nuclear do fígado. O funcionamento do Zn nos sistemas enzimáticos, está altamente relacionado no metabolismo dos ácidos nucleicos, na síntese de proteínas e no metabolismo de carboidratos. Em tecidos de rápido crescimento, a deficiência de Zn reduz grandemente a síntese de DNA, RNA e proteínas e portanto, diminui a divisão celular, o crescimento e a recuperação de tecidos. Entre os efeitos mais notáveis da deficiência de zinco na produção e secreção de hormônios estão aqueles relacionados a testosterona, insulina e corticosteróides.

A diminuição do crescimento é universalmente observada na deficiência de Zn, talvez em função da diminuição da biossíntese de ácidos nucleicos.

A síntese e o turnover de colágeno no osso são marcadamente reduzidos pela diminuição de atividade da collagenase tibial, uma metaloenzima de Zn. A pele, que é

particularmente rica em Zn, mostra lesões de paraqueratose que são sinais característicos de deficiência de Zn, isto porque o mineral desempenha um papel importante na síntese do colágeno e ácidos nucleicos da pele.

A atuação do Zn sobre a atividade da timidina quinase e a polimerase RNA DNA-dependente, as quais são vitais para a síntese protéica, pode estar relacionada com a deficiente formação da proteína retinol-ligante, transportadora de vitamina A no sangue, em animais deficientes neste mineral, diminuindo a mobilização desta vitamina do fígado. Por outro lado, a atividade da enzima álcool desidrogenase é diminuída em animais deficientes, sendo que esta enzima é necessária para a interconversão do álcool Vit. A (retinol) em aldeído vitamina A (retinal), um processo essencial para a visão normal, e que na deficiência causa cegueira noturna.

Selênio (Se).

É um componente essencial da enzima glutathione peroxidase (GSH-Px), que tem a função de oxidar o glutathione, que é um tripeptídeo (γ -glutamyl-cysteinyl-glycine), o que impede a oxidação dos ácidos graxos da membrana plasmática, causada pelo aumento nos níveis de peróxidos (H_2O_2). Caso ocorra a formação de hidroperóxidos lipídicos na ausência de níveis adequados de tocoferol (vitamina E), e/ou GSH-Px, podem resultar danos diretos ao tecido celular. A peroxidação dos lipídios pode destruir a integridade estrutural da célula e causar desordens metabólicas. A vitamina E nas membranas celulares e subcelulares é a primeira linha de defesa contra a peroxidação de fosfolipídios vitais. Entretanto, mesmo com níveis adequados de vitamina E, alguns peróxidos são formados. O Se como parte da enzima GSH-Px, é a segunda linha de defesa, destruindo aqueles peróxidos antes que eles possam ter a oportunidade de causar danos à membrana.

O Se também participa como cofator nas enzimas desidrogenase fórmica, glicina redutase e iodotironina-5'-deiodinase (Figura 10), a qual é uma enzima de membrana que catalisa a deiodinação da L-tiroxina no hormônio da tireóide biologicamente ativo 3,3',5'-triiodotironina.

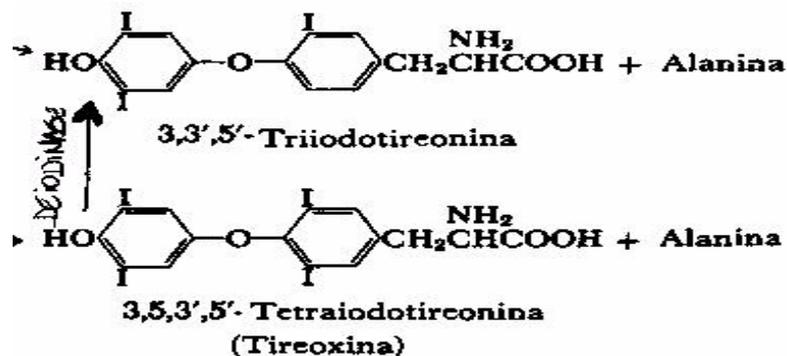


Figura 10. Ação da enzima iodotironina-5'-deiodinase tendo como cofator o Se na transformação da tiroxina em triiodotironina, forma ativa do hormônio da tireóide.

Manganês (Mn).

Pode funcionar tanto como ativador enzimático, bem como constituinte de metaloenzimas. Entre as metaloenzimas incluem-se a arginase, piruvato carboxilase e Mn-superóxido dismutase. Enquanto o número de metaloenzimas de Mn é limitado, aquelas que podem ser ativadas pelo Mn são numerosas. Entre estas estão hidrolases, quinases, descarboxilases e transferases. Tanto como ativador ou componente da enzima, o Mn é frequentemente o cátion prioritário, porém outro cátion, especialmente o Mg, pode substituir parcialmente o Mn com pouca ou nenhuma perda na atividade enzimática. Exemplo disso são as enzimas biotina-dependentes, tais como a piruvato carboxilase que continua a fixar CO₂ durante a deficiência de Mn, porque o Mg substitui o Mn na enzima.

Os ossos da maioria das espécies deficientes em Mn apresentam-se consideravelmente mais curtos e engrossados, uma vez que o Mn é essencial para o desenvolvimento da matriz orgânica dos ossos que é composta grandemente por mucopolissacarídeos. Uma diminuição na síntese de mucopolissacarídeos associada com a deficiência de Mn tem sido relacionada a ativação de glicosiltransferases, cujas enzimas são importantes para síntese de glicoproteínas e polissacarídeos.

Molibdênio (Mo).

Tem sido identificado como componente de seis enzimas, entre elas a xantina oxidase, a aldeído oxidase e a sulfito oxidase, as quais em mamíferos estão envolvidas no metabolismo das purinas, pirimidinas, pteridinas e aldeídos e na oxidação do sulfito, além da nitrato redutase. A xantina oxidase e a aldeído oxidase estão envolvidas na cadeia de transporte de elétrons nas células, envolvendo o citocromo C. A aldeído oxidase pode estar

envolvida no metabolismo da niacina e a sulfito oxidase oxida o sulfito a sulfato para excreção final na urina.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- CANTARROW, A. & SCHEPARTZ, B. *Bioquímica*. Livraria Atheneu . São Paulo. 4^a ed. 912 p. 1969.
- GONZÁLEZ, F.H.D. & SILVA, S.C. *Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária*.
<http://www.ufrgs.br/favet/bioquímica/poligraf/poligraf.htm> Acesso em 16/04/2002.
- McDOWELL, L.R. *Minerals in Animal and Human Nutrition*. Academic Press.London. 522 p. 1992.
- WANNMACHER, C.M.D & DIAS, R.D. *Bioquímica Fundamental*. UFRGS. 6^a. ed. 556 p. 1986.
- WANNMACHER, C.M.D & DIAS, R.D. *Bioquímica Fundamental*. UFRGS. v. 3, 2^a ed. 123 p. (sd).