The background of the slide is a dark, textured image of a molecular structure. It consists of several large, semi-transparent spheres in shades of green, blue, and brown, connected by thin, light-colored lines. The spheres have a grid-like or crystalline texture, and the overall appearance is that of a complex, three-dimensional chemical or biological structure.

Aula 06
Assimilação de metais

Dr. Tiago P. Camargo

Assimilação dos metais pelo organismo

Como íons metálicos são assimilados pelas suas redondezas?



Claramente, isso apresenta três tipos distintos de problemas ilustrados por três tipos diferentes de organismos:

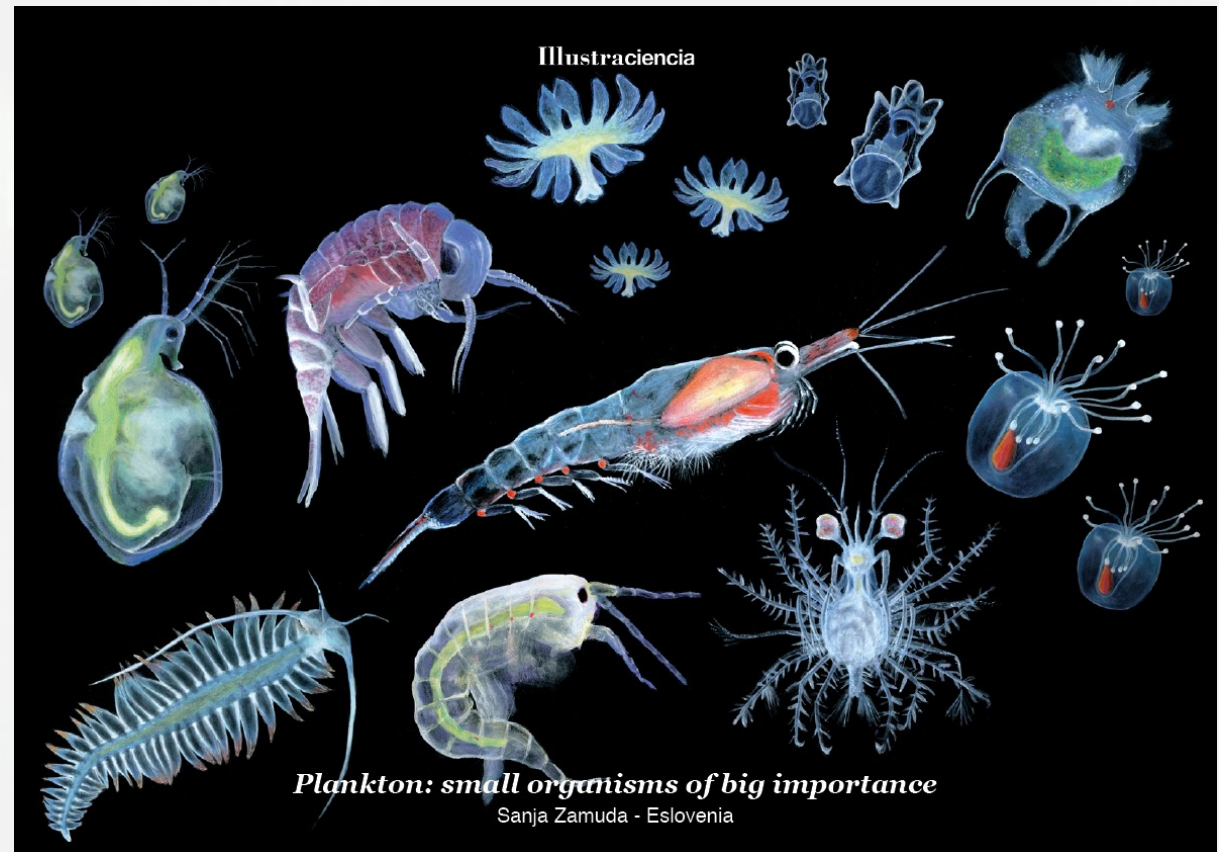
- Para microrganismos unicelulares, eles devem adquirir os íons metálicos de que necessitam em seu ambiente imediato.
- Se eles são organismos multicelulares, mas estão enraizados no solo, como a maioria dos membros da família das plantas, eles devem encontrar sua fonte de nutrição no solo, onde quer que possam estender suas raízes.
- Se forem animais multicelulares móveis, podem procurar comida, pescar ou caçá-los e matá-los ou, no caso dos humanos, comprá-los no supermercado antes de comê-los.

Biogeoquímica Inorgânica

O aparato fotossintético, tanto em bactérias quanto em plantas, tem uma necessidade muito alta de uma variedade de íons metálicos, incluindo ferro para os citocromos (transporte de elétrons) e proteínas FeS, Cu na plastocianina (transportadora de elétrons), Mg nas clorofilas, Mn no complexo evolutivo de O₂ (fotosistema), e Zn para fixação de carbono e para aquisição de CO₂ via anidrase carbônica.

O suprimento de ferro limita a produção de plâncton em um terço dos oceanos do mundo, apesar da concentração perenemente alta de macronutrientes na superfície. A dinâmica da proliferação de fitoplâncton é limitada pelo suprimento de ferro, que por sua vez afeta os ciclos biogeoquímicos de carbono, nitrogênio, silício e enxofre.

Um átomo de ferro pode trazer entre 10.000 a 100.000 átomos de carbono para fora da atmosfera, incentivando o crescimento do fitoplâncton.



Biogeoquímica Inorgânica

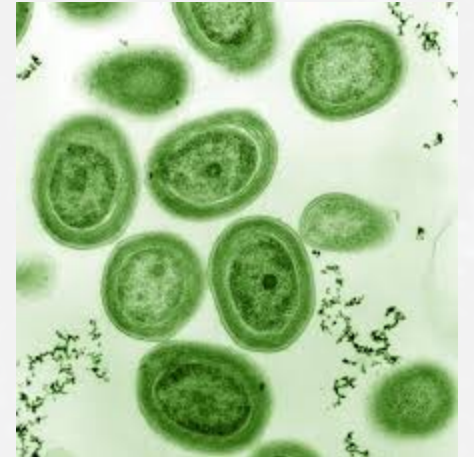
A dissolução no oceano de CO_2 em excesso (gerado pela atividade do homem) resulta em um aumento na pressão parcial de CO_2 , uma diminuição no pH e uma diminuição na concentração de HCO_3^- .

Isso poderia mudar a química do oceano para reduzir a biodisponibilidade de ferro, aumentando o estresse de Fe das populações de fitoplâncton em algumas partes do oceano.

Sabe-se que duas cianobactérias, *Prochlorococcus* e *Synechococcus*, sozinhas, são responsáveis por cerca de 20-40% da fixação global de CO_2 .

As cianobactérias também são os únicos organismos fotossintéticos capazes de fixar nitrogênio, derivando sua energia e constituintes principais apenas do ar: luz solar, CO_2 e N_2 .

Presente nos fósseis pré-cambrianos, eles estão provavelmente entre os organismos vivos mais antigos e foram responsáveis há 2,75 bilhões de anos pela geração de um novo poluente, o oxigênio molecular, por meio da clivagem da água por fotossíntese



Biogeoquímica Inorgânica

Claramente, os organismos marinhos, incluindo não apenas o fitoplâncton, mas também o bacterioplâncton, fungos e macroalgas, requerem íons metálicos para sobreviver e prosperar no oceano.



Sua biodisponibilidade pode muito bem ser controlada em grande medida por sua química e especiação** nos oceanos.

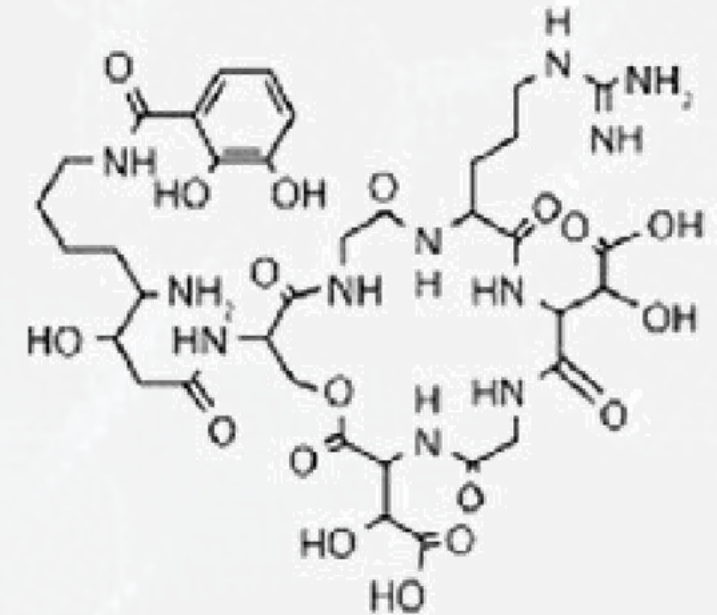
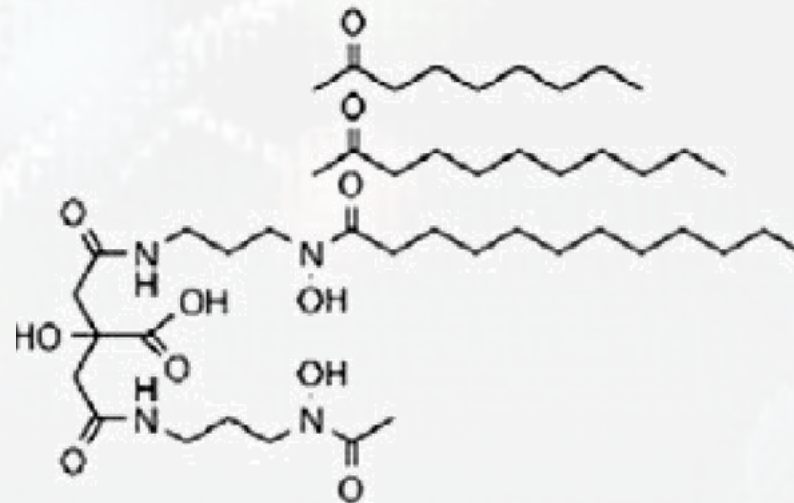
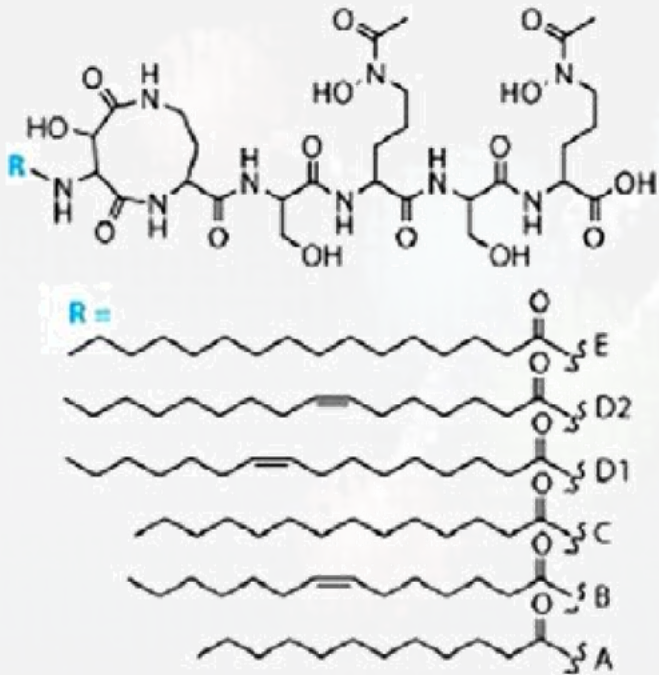
Uma estratégia para facilitar a captação de íons metálicos seria a produção de ligantes orgânicos. Sabe-se que um grande número de íons de metais traço, incluindo cobalto, cobre, ferro, níquel e zinco, são complexados na água do mar por ligantes biogênicos que parecem ser específicos para estes metais.

** A especiação de um elemento é a determinação das formas físico-químicas individuais do elemento que somadas são iguais à concentração total desse elemento.

Biogeoquímica Inorgânica

Duas classes estruturais de sideróforos** foram identificadas e caracterizadas a partir de bactérias marinhas:

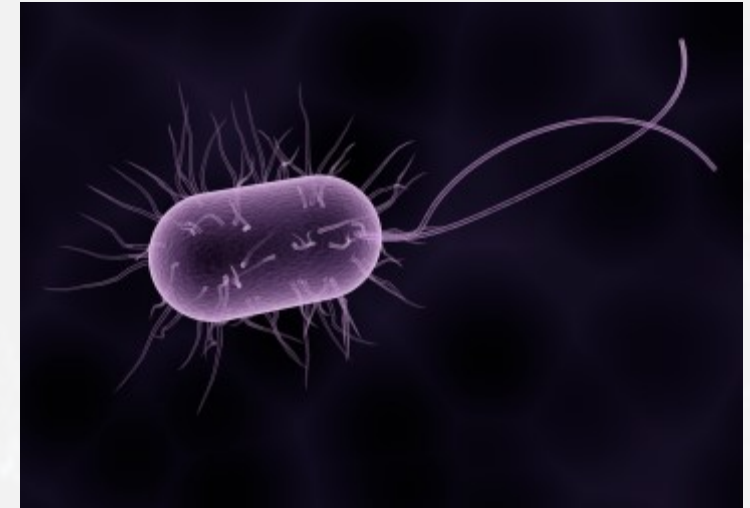
- sideróforos que são anfifílicos com variações nos comprimentos de cadeia dos ácidos graxos anexados.
- sideróforos que têm uma fração alfa hidroxí carboxílica, que é fotoreativa quando coordenada a Fe(III).



** composto orgânico que atua na captação de metais por organismos como bactérias.

Assimilação de metais em bactérias

As bactérias são cercadas por paredes celulares rígidas que lhes conferem suas formas características e permitem que vivam em ambientes hipotônicos sem inchar e romper suas membranas plasmáticas.



Para que íons metálicos carregados ou mesmo hidratados entrem no citoplasma dessas bactérias, eles devem cruzar *duas* membranas e o espaço periplasmático, o que requer um grande número de proteínas de transporte.

O impacto dos projetos de sequenciamento de genoma em nossa compreensão sobre as vias de assimilação de metais tem sido enorme, particularmente entre organismos com genomas que não são muito grandes nem muito complexos. Isso, é claro, significa que, uma vez identificado um gene de assimilação de metal, sua presença e *presumível funcionalidade podem ser atribuídas a outros membros da família*.

Assimilação de metais em bactérias

A seguir, discutiremos a absorção / assimilação de íons metálicos do ambiente para o próprio organismo.

Ferro

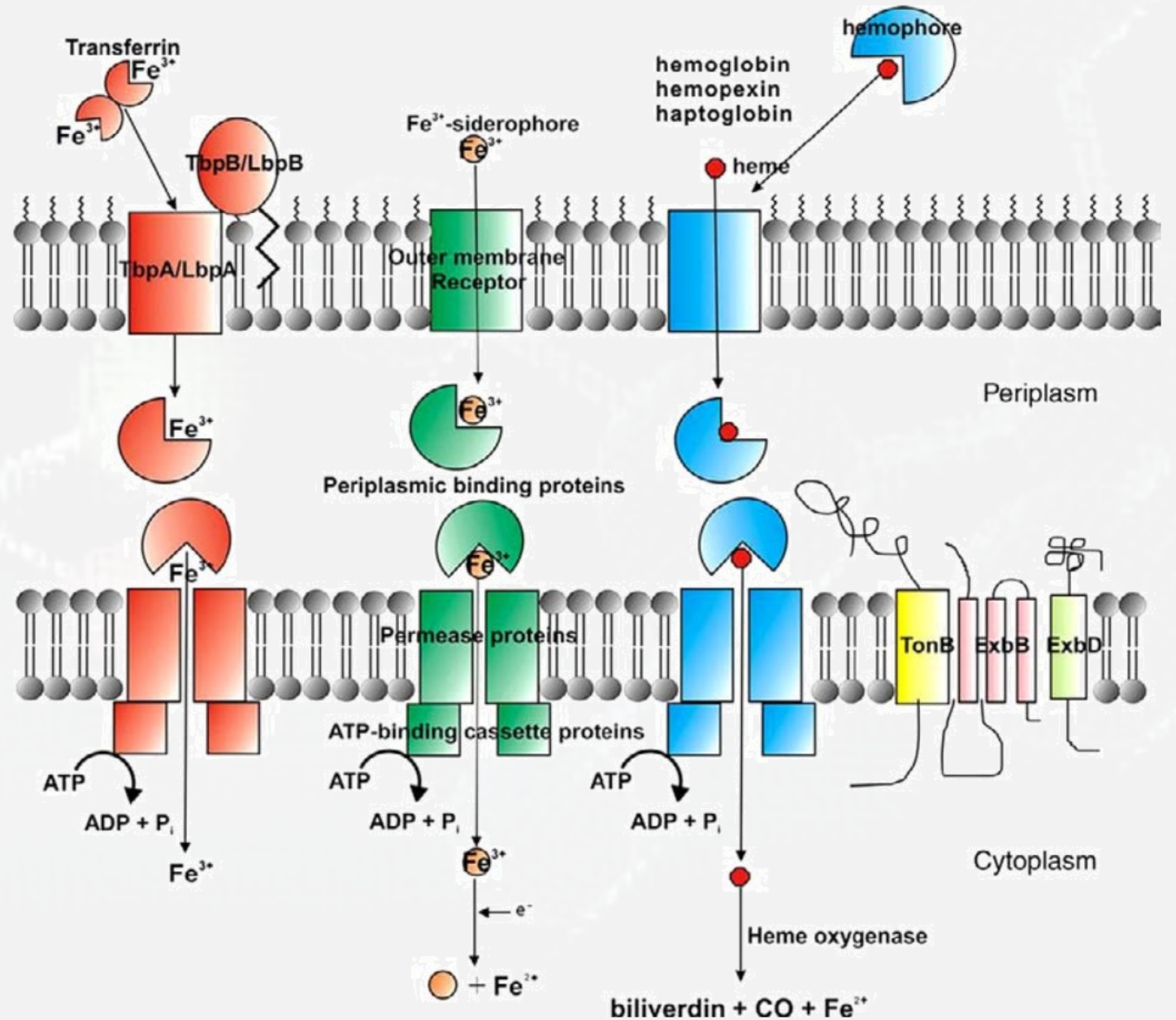
Por causa da baixa solubilidade do ferro (Fe^{3+}) (em pH 7, a concentração de Fe^{3+} livre é de cerca de 10^{-9} M) e das grandes quantidades de ferro necessárias para seu crescimento, as bactérias desenvolveram uma grande variedade de sistemas de absorção de ferro. Provavelmente refletem o tipo de fontes de ferro presentes em seu ambiente particular em um determinado momento.

Muitas bactérias altamente patogênicas também podem adquirir ferro do grupo heme de seus hospedeiros mamíferos, secretando proteínas chamadas hemóforos, que liberam o grupo heme da hemoglobina para proteínas de transporte específicas na membrana externa. Ainda, outros patógenos podem usar o ferro ligado à transferrina e à lactoferrina.

Assimilação de metais em bactérias

Ferro

Todas as três vias de captação de ferro requerem um receptor de membrana externa, uma proteína de ligação periplasmática (PBP) e um transportador via ligação de ATP de membrana interna (ABC). Enquanto o Fe-sideróforos e o heme são transportados através da membrana externa por seus receptores.



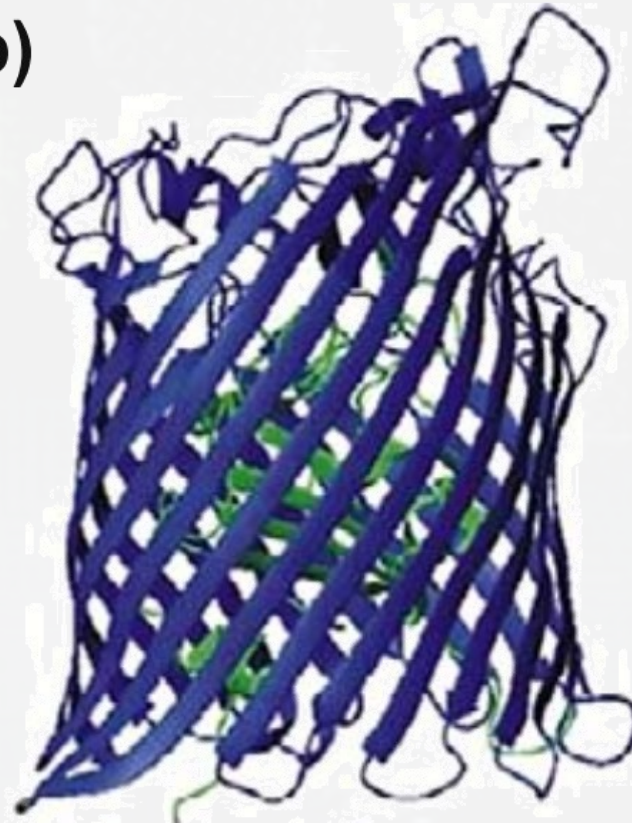
Assimilação de metais em bactérias **Ferro**

Todos os transportadores de membrana externa (OMTs) envolvidos na absorção de ferro são constituídos por um barril beta de 22 fitas, que é obstruído por um domínio de "cortiça" globular alfa-beta misturado independentemente dobrado de cerca de 160 resíduos de aminoácidos.

(a)

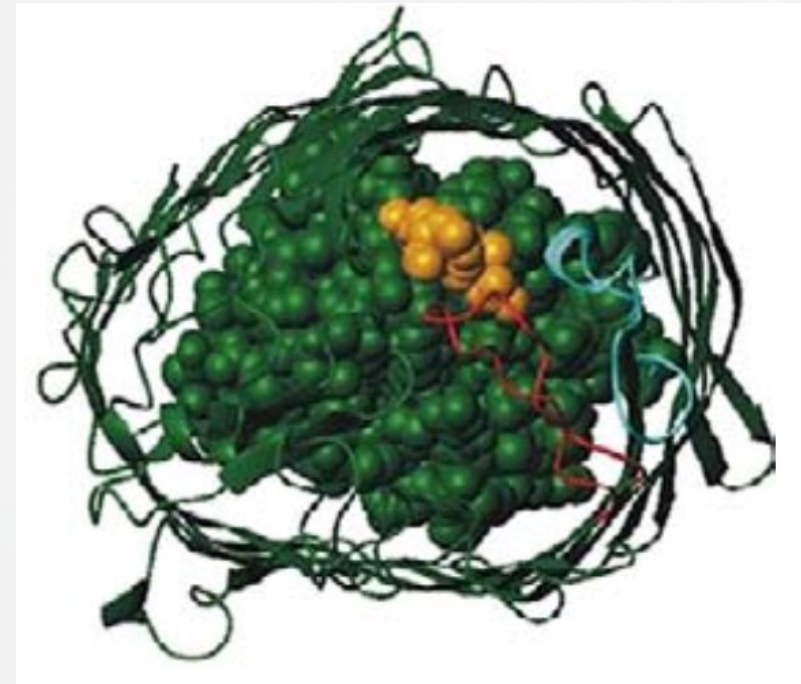
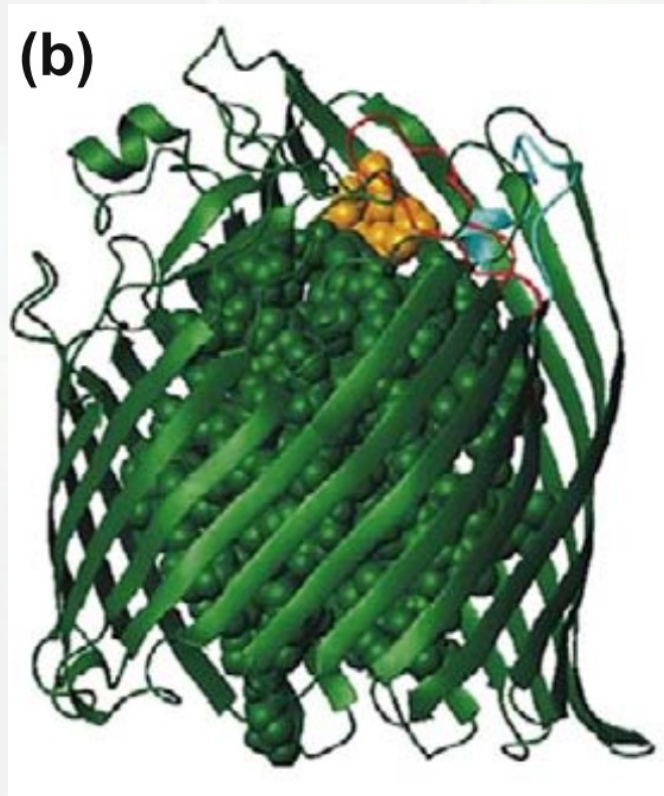


(b)



Assimilação de metais em bactérias **Ferro**

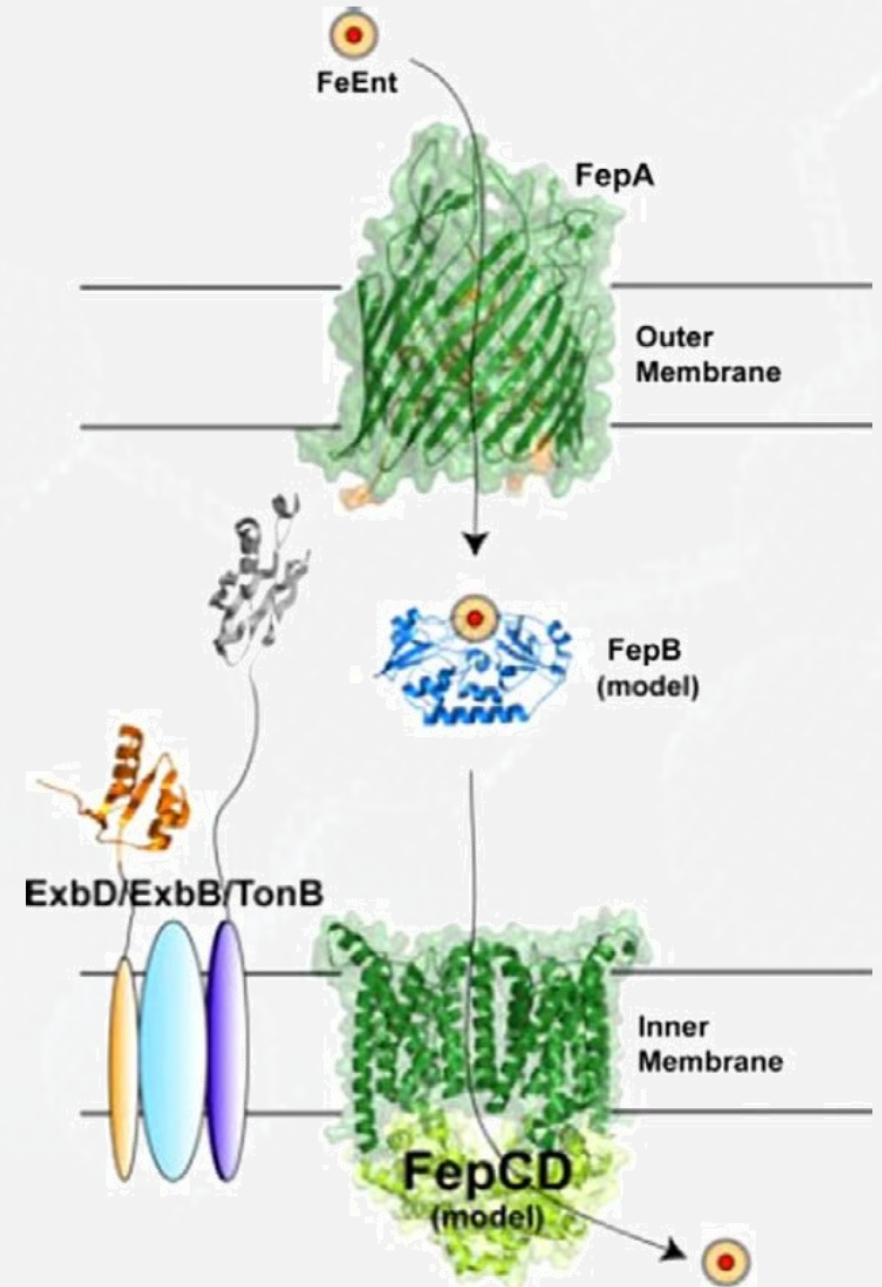
O sideróforo de ferro se liga ao topo do domínio da 'cortiça'. A ligação induz uma mudança conformacional em duas alças extracelulares, reduzindo a acessibilidade do citrato férrico. Para que o sideróforo férrico se mova para o espaço periplasmático, a cortiça deve ser pelo menos parcialmente deslocada do interior do barril beta.



Assimilação de metais em bactérias **Ferro**

Uma vez que o Fe^{3+} -sideróforo, heme ou Fe^{3+} tenham sido entregues ao periplasma pelos OMTs, eles são transportados por proteínas de ligação periplasmática através do espaço periplasmático.

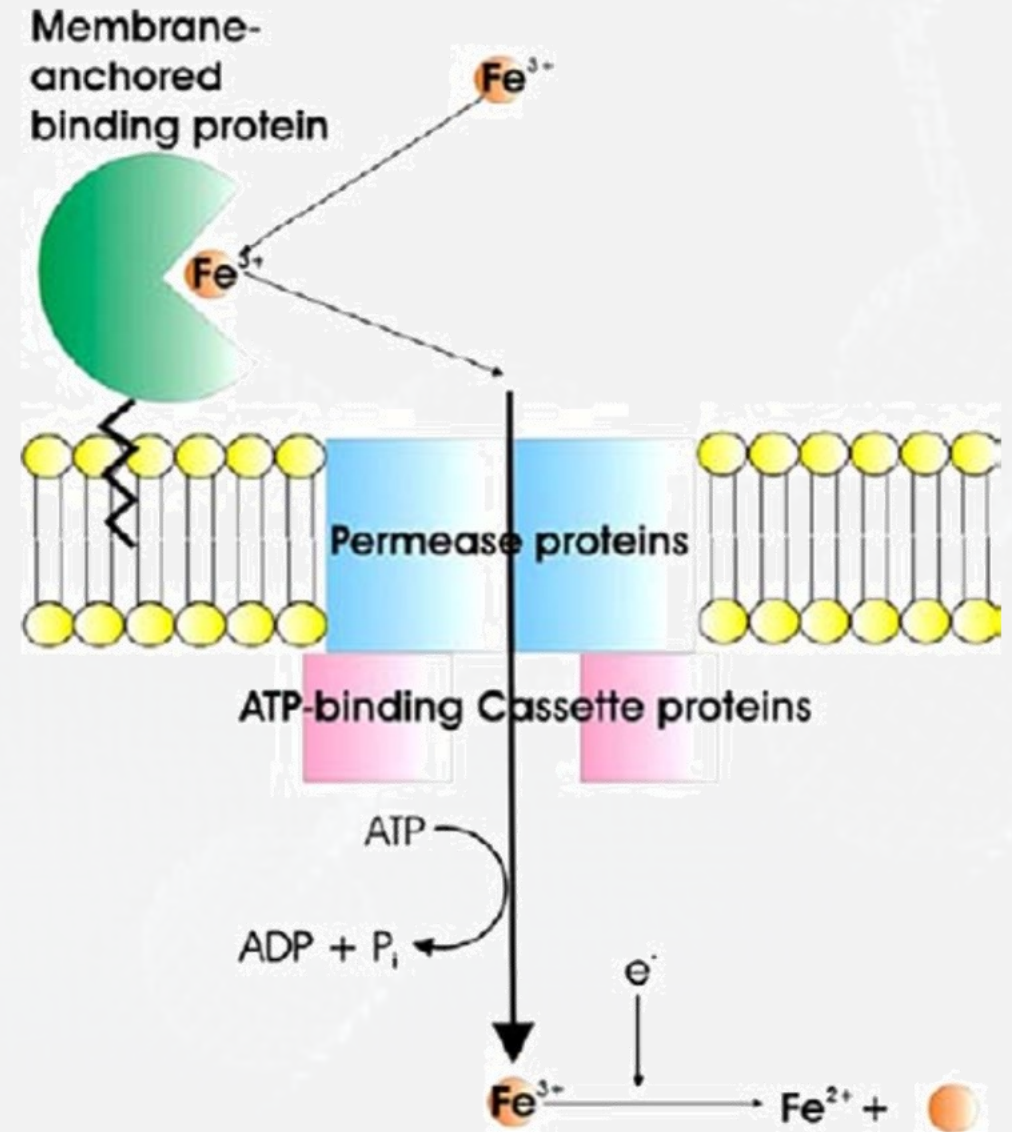
O PBP ligado ao sideróforo, então, acopla na face periplasmática de seu transportador correspondente na membrana plasmática, que os libera para o citoplasma às custas da hidrólise de ATP.



Assimilação de metais em bactérias **Ferro**

No citosol, o ferro deve ser liberado de seu sideróforo ou do grupo heme. Uma vez que a química de coordenação de sideróforos, com sua preponderância de ligantes duros, é projetada para complexar Fe^{3+} ,

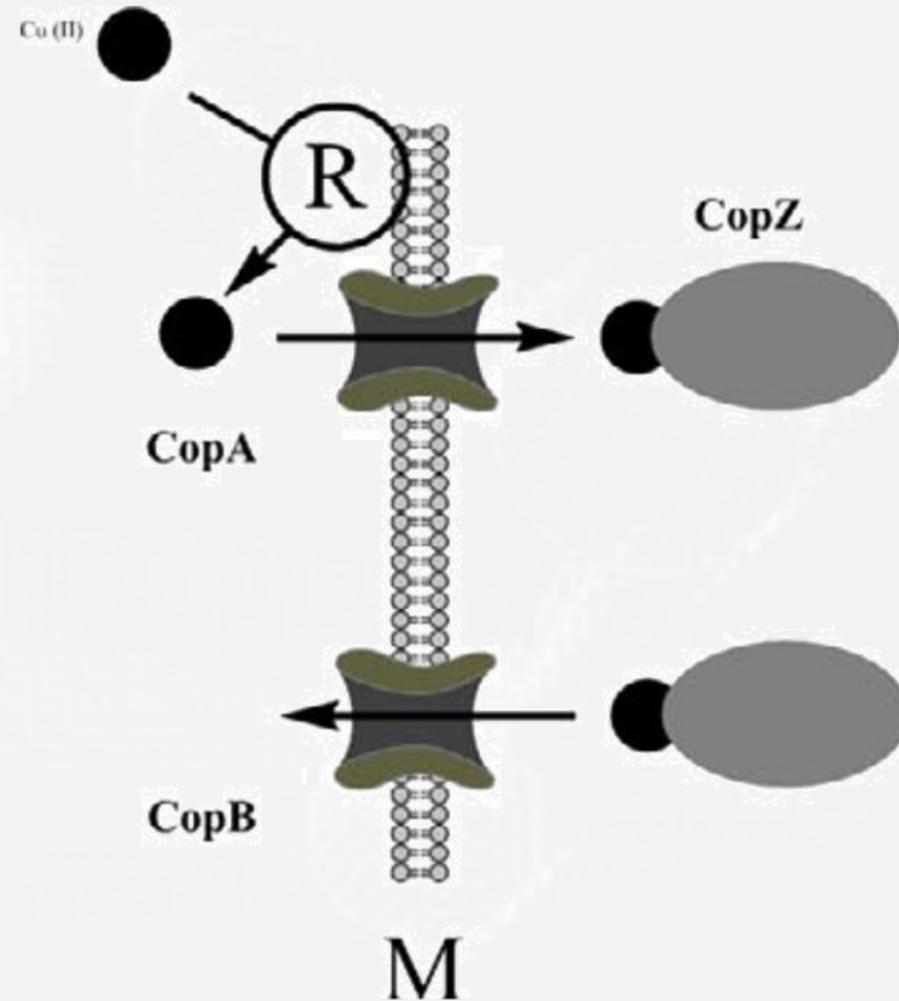
A redução de Fe^{3+} diminui a constante de ligação substancialmente, resultando em um complexo quelato de Fe^{2+} fraco, do qual o íon Fe pode se dissociar com relativa facilidade.



Assimilação de metais em bactérias **Cobre e Zinco**

Devido à sua importância em muitas enzimas, as bactérias tiveram que desenvolver sistemas de absorção de cobre e zinco.

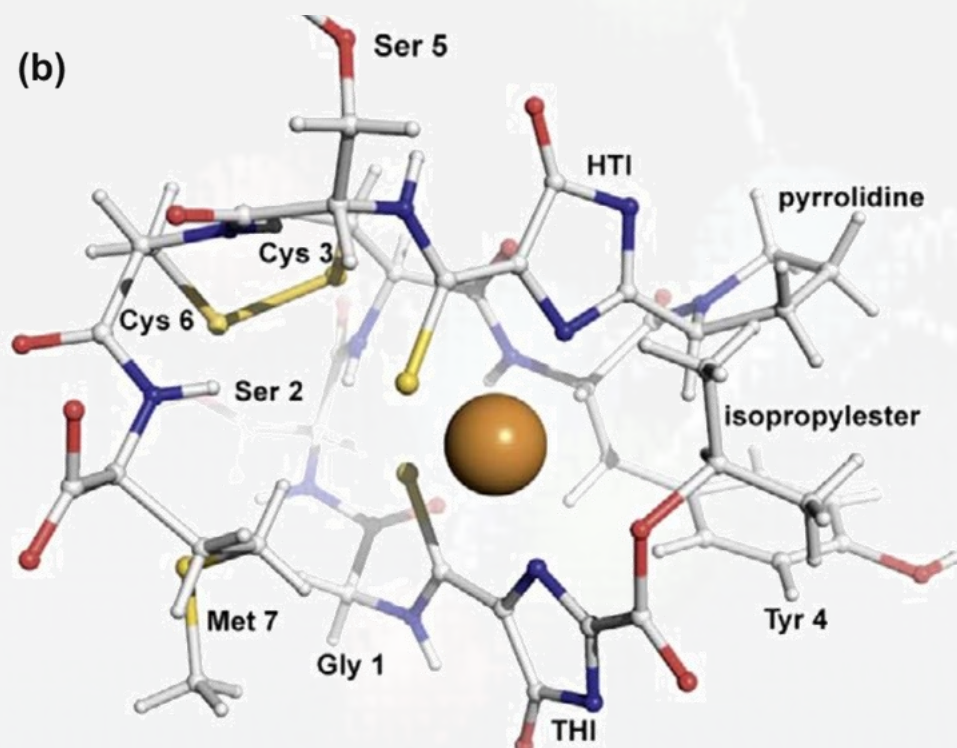
Na membrana, uma redutase (indicada como R), reduz Cu^{2+} a Cu^{1+} , que é absorvido pelo CopA quando o cobre está em baixa concentração. Em contraste, quando o cobre está em excesso, o CopB expulsa esse excesso. Tanto o CopA quanto o CopB pertencem à subclasse P1 das ATPases do tipo P, que inclui as proteínas envolvidas nos distúrbios do metabolismo do cobre em humanos, doença de Menkes e doença de Wilson.



Assimilação de metais em bactérias **Cobre e Zinco**

Devido à sua importância em muitas enzimas, as bactérias tiveram que desenvolver sistemas de absorção de cobre e zinco.

As bactérias sintetizam e liberam um composto de ligação de cobre de alta afinidade, chamado metanobactina.



Embora ainda não esteja estabelecido como Cu-metanobactina é internalizada por metanotrofos, por analogia com sideróforos férricos, é provável que uma via semelhante ao mecanismo para o Ferro.

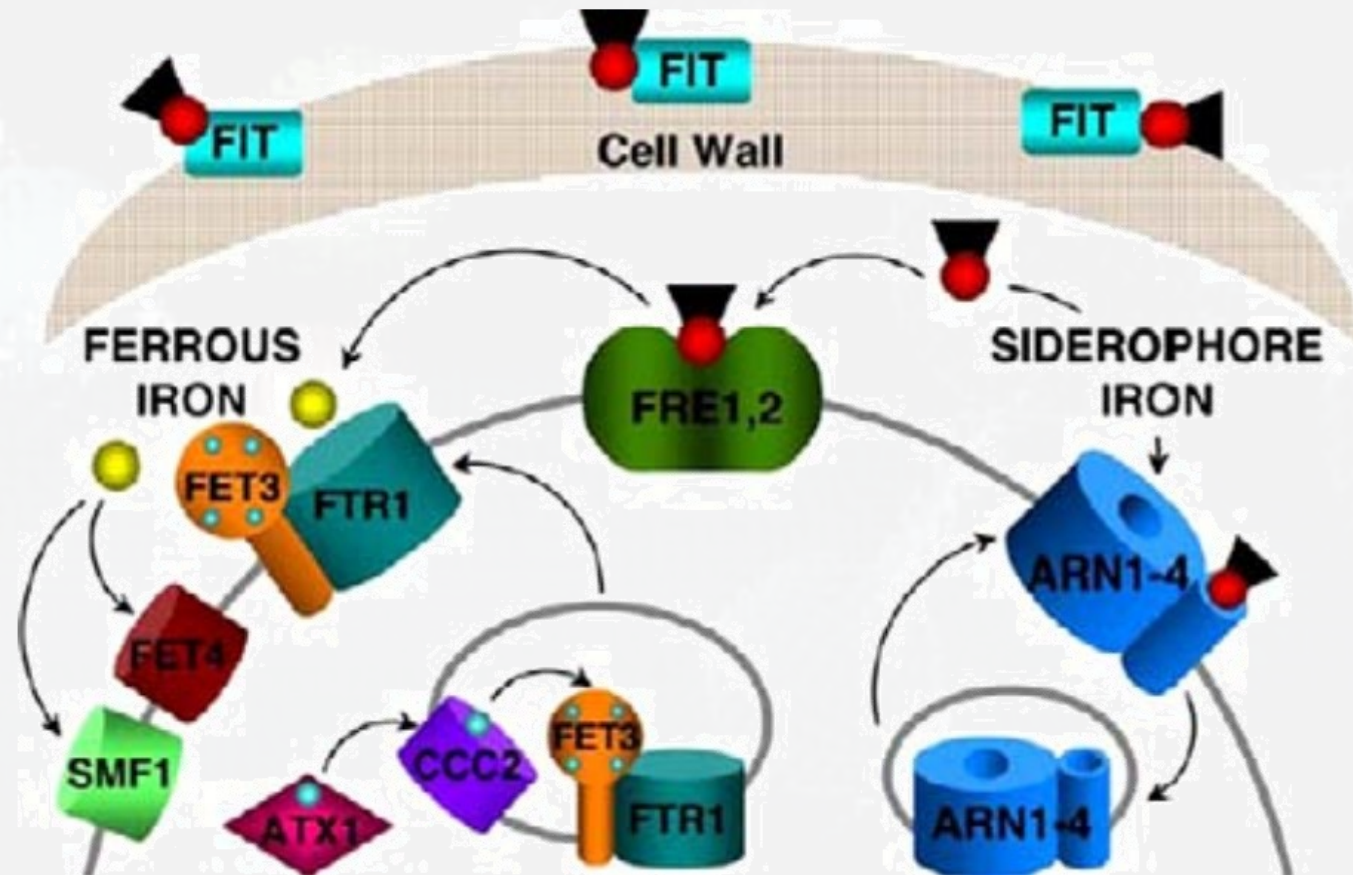
Assimilação de metais em bactérias **Cobre e Zinco**

Da mesma forma, para o zinco, as bactérias desenvolveram sistemas de absorção. Em muitas bactérias, o sistema de captação de Zn^{2+} de alta afinidade que usa um transportador via ligação de ATP (ABC), que transporta principalmente zinco e manganês, e é encontrado em quase todas as espécies bacterianas.

Embora as estruturas cristalinas de várias proteínas de ligação periplasmática (SBPs) tenham sido determinadas, ainda não está claro como essas proteínas discriminam entre a ligação de zinco e manganês.

Assimilação de metais em Fungos **Ferro**

As leveduras de brotamento do gênero *Saccharomyces* são utilizadas como organismos de modelo simples extremamente atraentes para o estudo da biologia celular eucariótica. *Saccharomyces cerevisiae*, usada comercialmente na panificação e na produção de bebidas alcoólicas e de álcool industrial, continua servindo de paradigma para estudos do metabolismo fúngico do ferro.

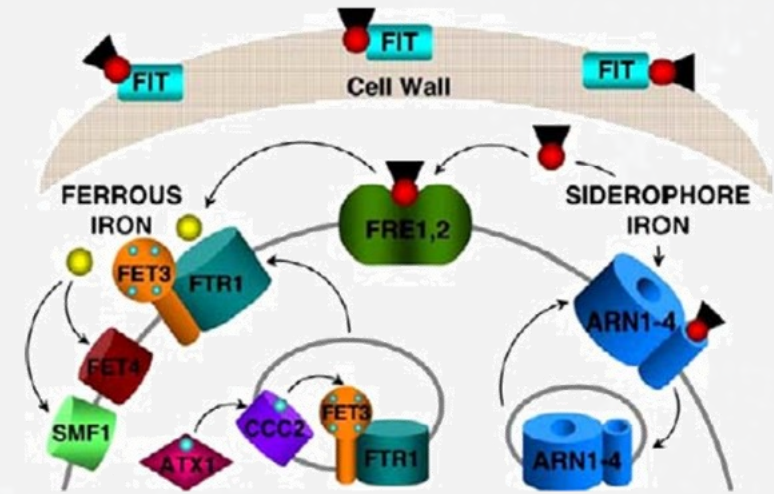


A Figura resume os sistemas de absorção de ferro pela *Saccharomyces cerevisiae*. Existem essencialmente três mecanismos envolvidos, que são descritos em detalhes a seguir:

Assimilação de metais em Fungos

Ferro

Em dois deles, após a redução para Fe^{2+} na membrana plasmática, o ferro é absorvido por um dos dois mecanismos possíveis, uma via de alta afinidade envolvendo a reoxidação do Fe^{2+} (a via da ferroxidase), ou uma via de baixa afinidade, envolvendo transporte direto de Fe^{2+} .



Antes que o ferro possa ser absorvido pela membrana plasmática, ele deve cruzar a parede celular, uma estrutura dinâmica, composta por uma rede de glucanos e quitina, e uma camada externa de manoproteínas (FIT).

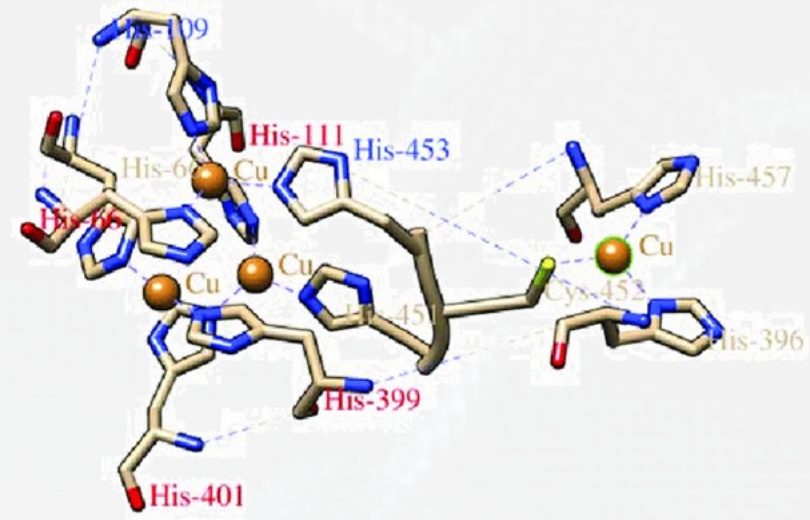
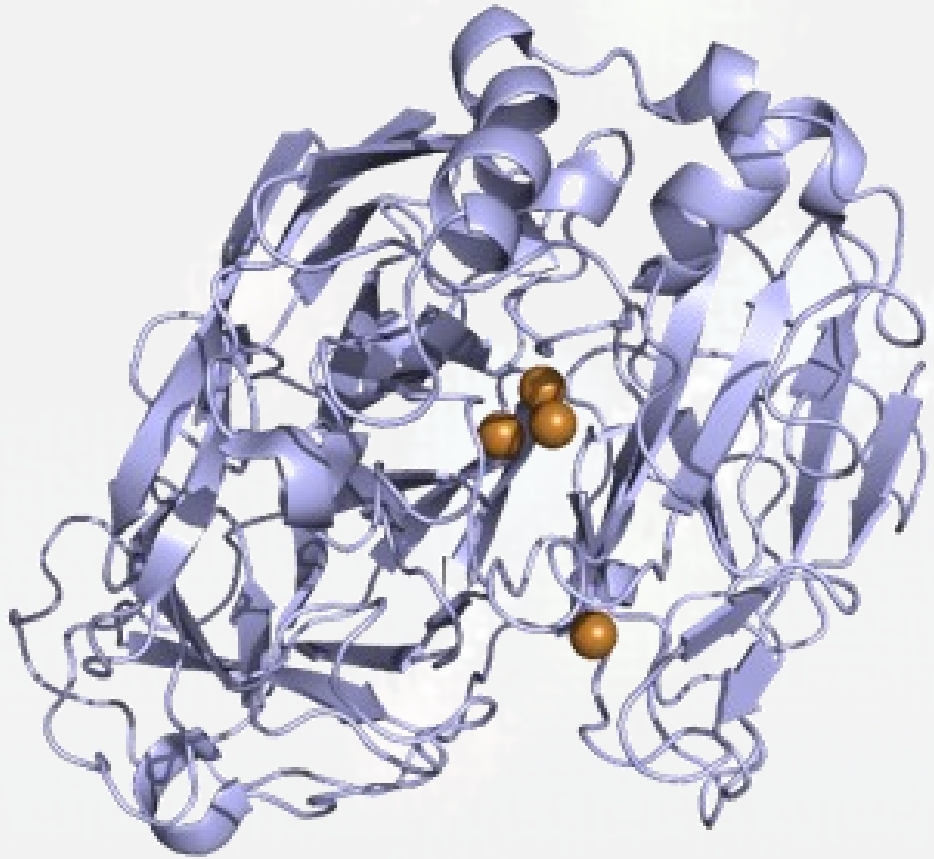
A via de alta afinidade envolve a oxidação de Fe^{2+} a Fe^{3+} pela ferroxidase FET3 e subsequente transporte de Fe^{3+} através da membrana plasmática pela permease FTR1.



Assimilação de metais em Fungos

Ferro

FET3 é um membro da família das multicobre oxidases, que incluem ascorbato oxidase, lacase e ceruloplasmina, e não se torna funcional até que seja carregado com cobre intracelularmente por meio das atividades da chaperona de cobre ATX1p e do transportador de cobre CCC2p.



(b)

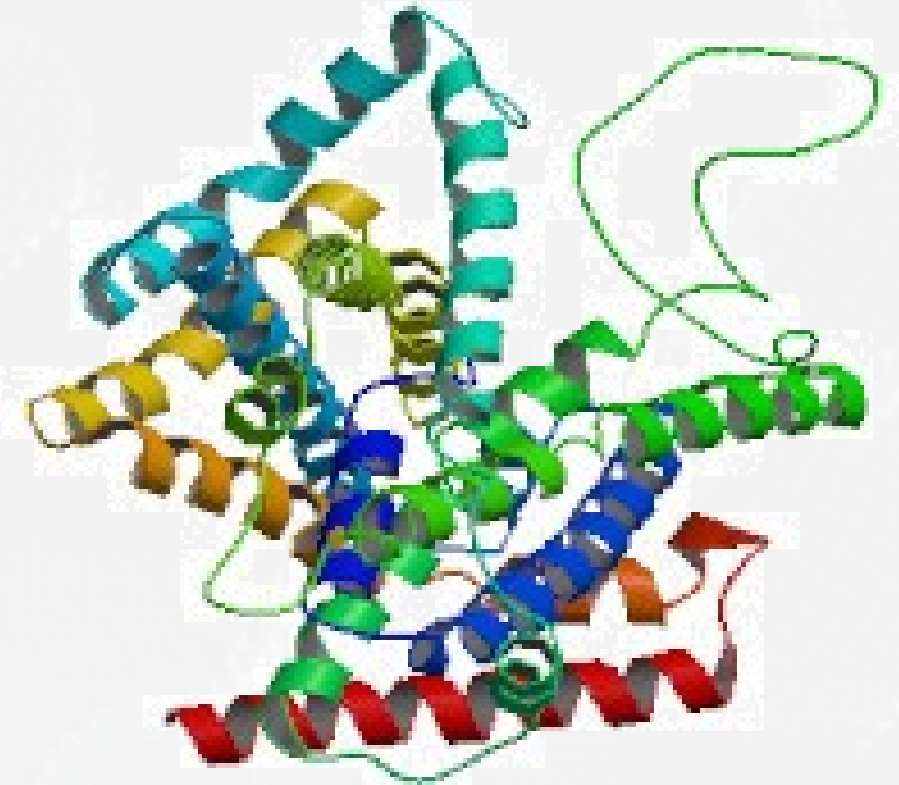
Assimilação de metais em Fungos

Ferro

Na via de baixa afinidade, o Fe^{2+} é transportado diretamente para a célula por meio de transportadores de íons de metais bivalentes, que, como as redutases, não são específicos para Fe, mas também podem transportar Mn, Ni e Cu.

Uma dessas famílias de transportadores em *S. cerevisiae*, as proteínas Smf1. O transporte de Fe^{2+} por Smf1 está acoplado ao transporte de H^{1+} , com uma estequiometria de um H para um Fe (1:1).

Outro transportador de Fe^{2+} é a proteína Fet4, que, como as proteínas Smf, tem baixa especificidade de substrato, mas provavelmente representa a principal via de absorção de ferro para levedura de fermentação de pães, em altos níveis de ferro no meio de cultura.



Assimilação de metais em Plantas

Ferro

O ferro é importante nas plantas não apenas por causa de seu papel em processos fundamentais como fotossíntese, respiração, fixação de nitrogênio e síntese de DNA, mas também por causa de seu envolvimento em enzimas-chave da síntese de hormônios vegetais, como lipoxigenases e enzimas formadoras de etileno.

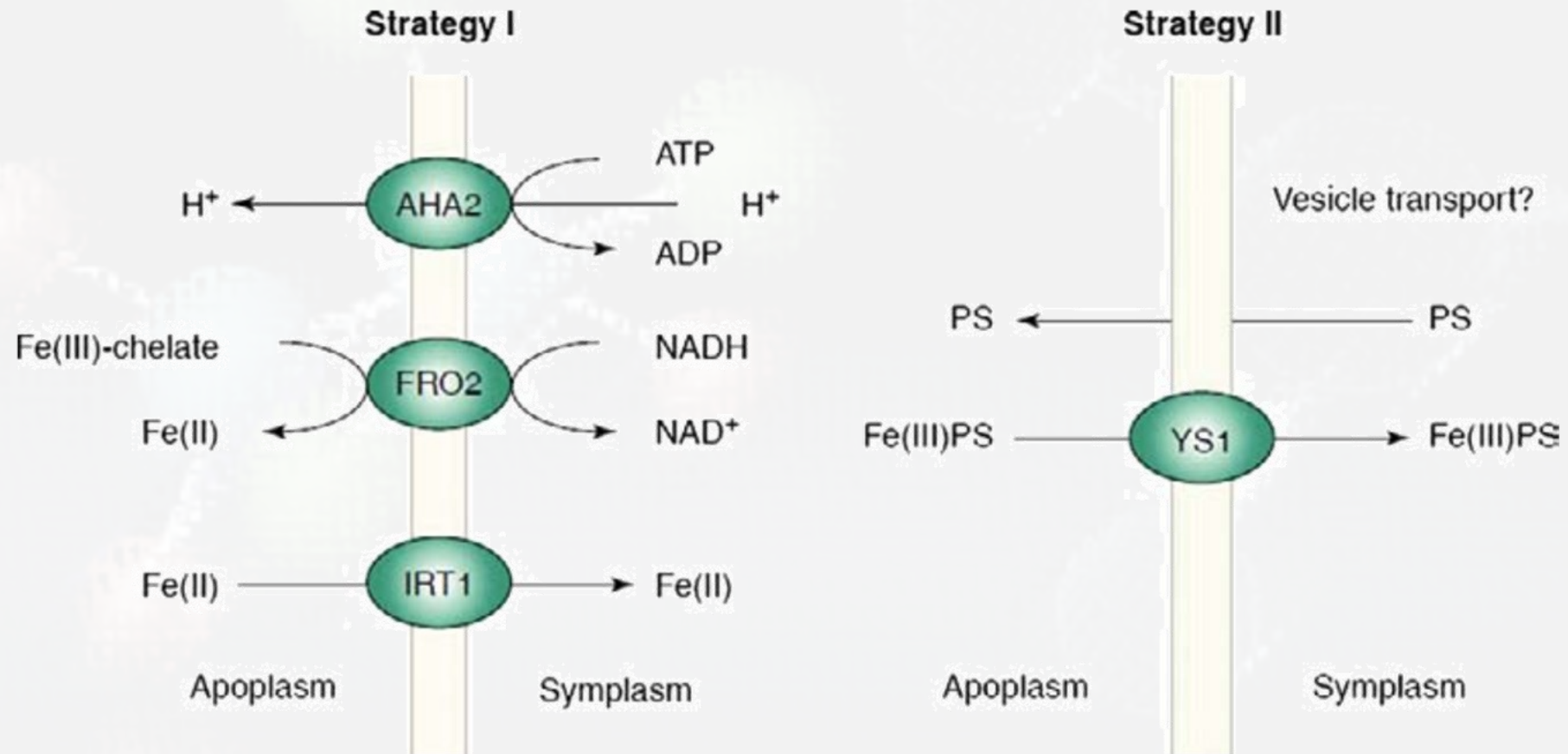
Apesar de o ferro representar 4-5% da composição mineral sólida total dos solos, ele geralmente está presente nos solos em uma forma pouco solúvel, e sua biodisponibilidade é ainda mais diminuída nos valores de pH neutro e alcalino encontrados no semiárido e solos calcários (ricos em carbonato de cálcio).



Assimilação de metais em Plantas

Ferro

A absorção de ferro pela planta pode ser dividida em duas famílias distintas, com estratégias bastante distintas. As plantas da **Estratégia I** reduzem o Fe^{3+} a Fe^{2+} fora das raízes e, a seguir, absorvem o Fe^{2+} . Em contraste, as plantas da **Estratégia II** solubilizam Fe^{3+} excretando fitosideróforos- Fe^{3+} , que são absorvidos por transportadores específicos, e o ferro é então reduzido a Fe^{2+} no simplasma* da célula da raiz



* lado interno da membrana plasmática em que a água e os solutos de baixo peso molecular podem se difundir livremente.

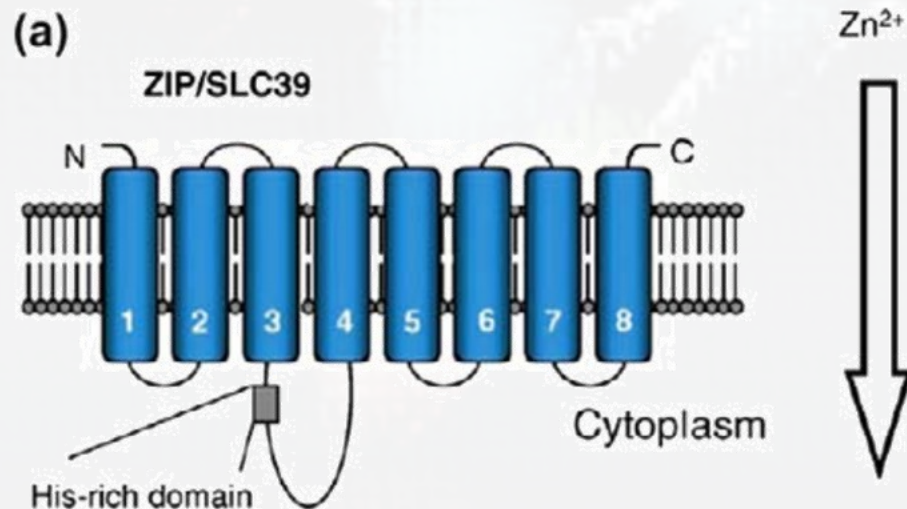
Assimilação de metais em Plantas

Cobre e Zinco

Estudos genéticos na levedura *S. cerevisiae* identificaram duas proteínas envolvidas na captação de cobre de alta afinidade na membrana plasmática, CTR1 e CTR3. Após a redução do Cu^{2+} pelas redutases, FRE1 e FRE3 essas proteínas transportam Cu^{1+} .

Há também um sistema de captação de cobre de baixa afinidade por meio de permeases FET4 e SMF1.

A absorção de zinco em fungos é realizada em grande medida pela família **ZIP** (Zrt-, Irt-like Protein) de transportadores de íons metálicos. Sem qualquer exceção conhecida, os membros da família ZIP transportam zinco e / ou outros íons metálicos do espaço extracelular, ou do lúmen de organelas celulares, para o citoplasma.

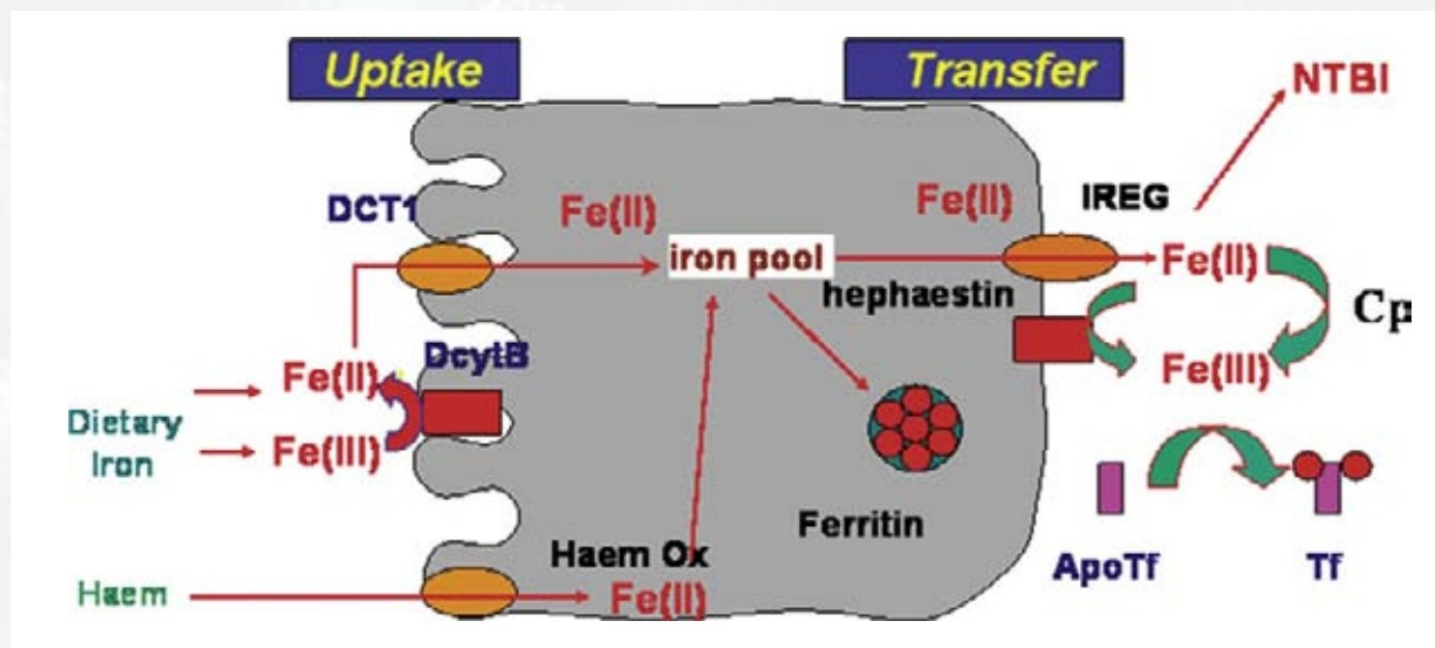


A maioria das proteínas ZIP tem oito domínios transmembrana previstos e topologias previstas semelhantes com os terminais N e C localizados na face extra citoplasmática da membrana com um domínio rico em His frequentemente na alça citoplasmática longa entre os domínios transmembrana 3 e 4.

Assimilação de metais em Mamíferos **Ferro**

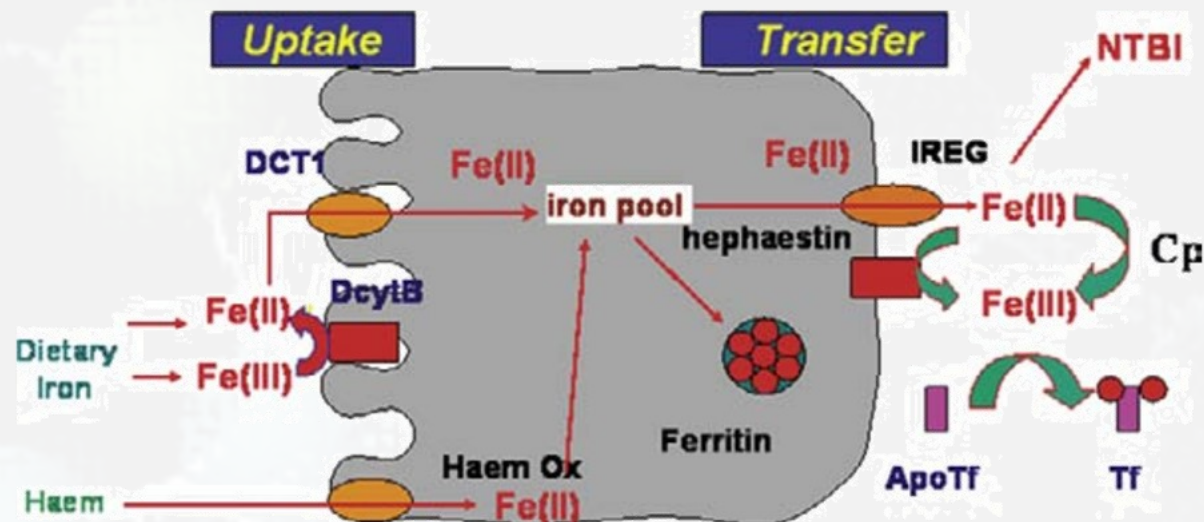
Uma vez que nos mamíferos, os metais precisam primeiro ser assimilados no trato intestinal e, posteriormente, transportados para as células dos diferentes órgãos do corpo através da corrente sanguínea, nos restringiremos nesta seção ao transporte de íons metálicos através dos enterócitos da parte superior do intestino delgado onde ocorre essencialmente toda a absorção dos constituintes da dieta, sejam eles íons metálicos, carboidratos, gorduras, aminoácidos, vitaminas.

No trato intestinal dos mamíferos, o ferro da dieta está essencialmente em duas formas, ferro heme e ferro não heme férrico.



Assimilação de metais em Mamíferos **Ferro**

No trato intestinal dos mamíferos, o ferro da dieta está essencialmente em duas formas, ferro heme e ferro não heme férrico.



O ferro é retirado do trato gastrointestinal tanto na forma heme ou ferro não heme. O primeiro é degradado para liberar $Fe(II)$ pela hemoxigenase, enquanto o último é reduzido pela DcytB e transportado através da membrana apical pelo DCT-1. Dentro do enterócito, a reserva de ferro pode se equilibrar com a proteína de armazenamento intracelular ferritina. O ferro é transportado para fora da célula pelo IREG-1; sua incorporação na apo transferrina pode ser auxiliada pela atividade da ferroxidase da hepestina. O ferro é entregue às células através da transferrina para o ciclo celular.

Dcytb, Duodenal cytochrome b; **DCT1**, divalent cation transporter protein 1; **IREG-1**, iron-regulated transporter-1; **Haem ox**, haem Noxygenase; **Cp**, ceruloplasmin; **Tf**, transferrin; **NTBI**, non-transferrin-bound iron.

Assimilação de metais em Mamíferos **Cobre e Zinco**

A captação de cobre através do trato gastrointestinal ainda não é totalmente conhecida, e deve ocorrer utilizando o transportador de cátions divalentes DMT1. No nível celular, o Cu é importado através da membrana plasmática das células de mamíferos como Cu^{1+} , por membros da família CTR (copper transporter).

Excepcionalmente, as proteínas CTR podem mediar a absorção de drogas anticâncer de platina em células de mamíferos

A família ZIP está envolvida no transporte de Zn para o citosol, principalmente através da membrana plasmática. Embora o genoma humano codifique 14 proteínas relacionadas a ZIP, a ZIP4 parece mediar a captação de Zn. Seu envolvimento na captação de Zn na dieta pelos enterócitos intestinais está bem estabelecido, e mutações em ZIP4 foram encontradas em pacientes com acrodermatite enteropática, um distúrbio recessivo da absorção de Zn que resulta em deficiência de Zn