



Bioinorgânica do Ferro

Dr. Tiago P. Camargo

A química Bioinorgânica do Ferro

Metaloma

Assim como o conteúdo de proteína de um determinado tipo de célula é chamado de “proteoma”, o “metaloma” é a soma de espécies de metais individuais em uma célula. Isso inclui íons metálicos livres e complexos e seus conjuntos com biomoléculas. A metalômica compreende todas as funções biológicas auxiliadas por metal e pode ser dividida em qualitativa (especificação), quantitativa e metalômica comparativa, a última das quais envolve mudanças no metaloma devido a mudanças nas condições externas. Assim, as seguintes informações são obtidas em um metaloma:

- como um metal é distribuído dentro de uma célula de um certo tipo;
- seu ambiente de coordenação
- sua concentração

Embora os problemas abordados pela metalômica incluam:

- análise estrutural-funcional de metaloproteínas e seus modelos;
- regulação da absorção, acumulação e metabolismo de metais em sistemas biológicos;
- o estado do organismo (saúde) no que diz respeito à disponibilidade dos elementos necessários

O problema da mobilização do ferro: estados de oxidação, solubilidade e relevância médica

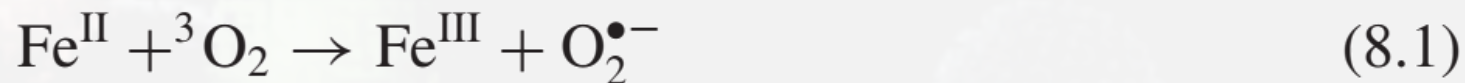
O ferro é um elemento essencial para quase todos os organismos, com exceção dos lactobacilos, participando de diversos processos biológicos como fotossíntese e respiração, fixação de N_2 , metanogênese, metabolismo de H_2 , transporte de oxigênio e biossíntese de DNA.

Mecanismos reguladores complexos atuam na captação, transporte e armazenamento de ferro. Esses processos podem ser divididos em várias etapas:

- reabsorção ativa ou passiva durante a ingestão de alimentos, envolvendo, por exemplo, dissolução, reações redox ou complexação.
- transporte seletivo dos íons de ferro através das membranas para as células.
- processos dentro das células, como incorporação em uma proteína;
- eliminação do metabolismo por excreção ou armazenamento temporário.

O problema da mobilização do ferro: estados de oxidação, solubilidade e relevância médica

Um excesso de ferro livre, em particular Fe^{2+} spin alto, é perigoso para qualquer organismo, pois os radicais podem ser gerados na presença de O_2 ou peróxido de acordo com as equações (8.1) e (8.2)



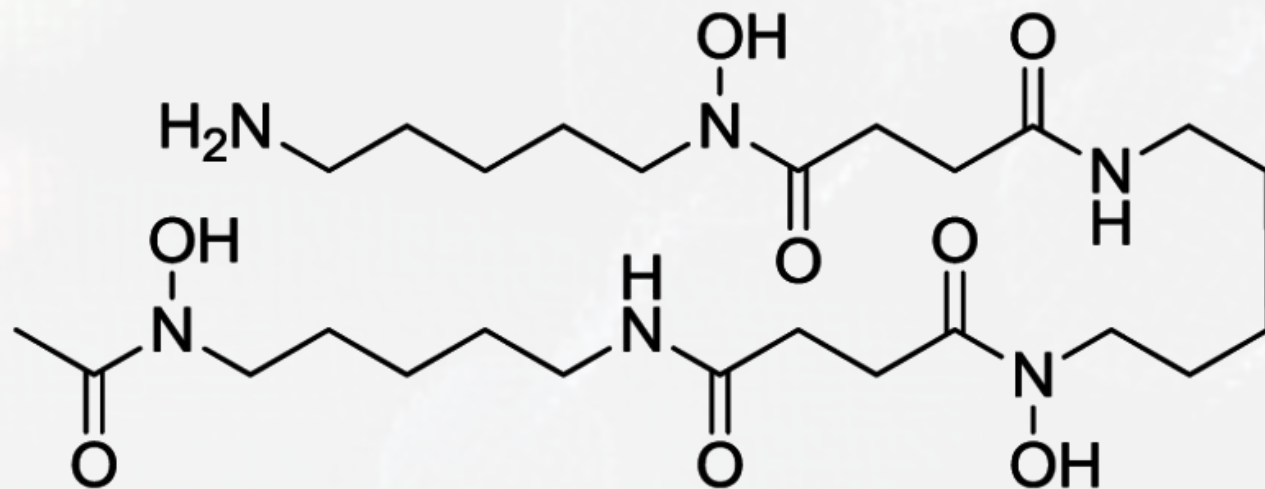
Microrganismos potencialmente patogênicos precisam de um suprimento contínuo de ferro como fator determinante de crescimento para sua reprodução. Assim, a disponibilidade de ferro para bactérias invasoras em um organismo multicelular desempenham um papel importante em doenças infecciosas, como tuberculose, lepra e cólera, em que uma diminuição no teor de ferro do plasma sanguíneo humano é sintomática

Como os microrganismos não podem ativar o ferro fortemente ligado no soro sanguíneo, eles precisam utilizar espécies de ferro “livres”; capturadores de ferro e ligantes complexantes difusores de membrana podem, portanto, exibir propriedades antibióticas. O ferro dos complexos de porfirina do tipo heme é fortemente ligado e pode ser liberado apenas dentro das células por meio de ação enzimática.

O problema da mobilização do ferro: estados de oxidação, solubilidade e relevância médica

O metabolismo do ferro no organismo humano tem relevância médica geral. Dos 10–20 mg de ferro recomendados no suprimento alimentar diário, em média apenas cerca de 10–15% é reabsorvido. Tanto a deficiência de ferro causada por desnutrição (anemia) e sobrecarga de ferro devido a defeitos genéticos (talassemia), bem como a ingestão excessiva de ferro como um fator de risco suspeito de longo prazo para doenças cardíacas coronárias, pode causar sintomas patológicos graves.

Agentes complexantes como a de ferrioxamina podem ligar o ferro mesmo se ele for coordenado pela proteína transportadora transferrina ou por proteínas de armazenamento; no entanto, eles não podem liberar o ferro do heme



O problema da mobilização do ferro: estados de oxidação, solubilidade e relevância médica

Embora o ferro seja o metal de transição mais abundante na biosfera, ele não está prontamente biodisponível. Em um ambiente aquoso aeróbio, Fe^{3+} é a espécie de ferro predominante, mas em contraste com o Fe^{2+} substitucionalmente lábil, o Fe^{3+} é insolúvel em pH 7 na forma livre.

De acordo com o produto de solubilidade de 10^{-38} para $\text{Fe}(\text{OH})_3$, a concentração teórica de Fe^{3+} seria apenas cerca de 10^{-17} M; no entanto, a formação de complexos aqua/hidroxo contribui para uma solubilidade significativamente maior, embora ainda muito pequena.

Assim, mesmo os microrganismos que sobreviveram ao desenvolvimento de uma atmosfera oxidante farão uso de compostos especiais de baixo peso molecular para acumular Fe^{3+} de seu ambiente; se necessário, mesmo a partir de fases sólidas, como partículas contendo óxido de ferro.

Esses ligantes quelantes solúveis especiais têm uma afinidade extremamente alta para Fe^{3+} e são chamados de “sideróforos”. Eles fornecem ferro para posterior transporte, armazenamento e incorporação em proteínas e atuam por meio de processos de redução / protonação, em receptores de membrana, por exemplo.

Sideróforos: absorção de ferro por microorganismos

Muitos sideróforos diferentes são conhecidos, isolados de bactérias, leveduras e fungos. Todos são ligantes quelatos de ocorrência natural com baixas massas moleculares entre 500 e 1000 Da e uma alta afinidade para o Fe(III).

Sua biossíntese é regulada pelo fornecimento de ferro e uma proteína reguladora de ligação ao DNA, FUR (Fe uptake Regulation), que é ativada por Fe²⁺ e desempenha um papel essencial no mecanismo de feedback.

Todos os sideróforos formam quelatos muito estáveis com Fe³⁺ spin alto hexacoordenados. Uma medida quantitativa para a "estabilidade" do complexo formado entre o sideróforo e o Fe é a constante de formação do complexo, K_f.



$$K_f = \frac{[\text{FeSid}^{(3-n)}]}{[\text{Fe}^{3+}][\text{Sid}^{n-}]}$$

Sideróforos: absorção de ferro por microorganismos

Embora tenha valores elevados, o K_f (para Fe(III)) varia em uma ampla faixa; de 10^{23} a 10^{49} M, as constantes para os complexos Fe^{2+} correspondentes são muito menores, devido à carga menor e ao raio iônico maior desse íon; assim, um mecanismo de liberação de ferro pode ser efetuado por redução acoplada à transferência de prótons.

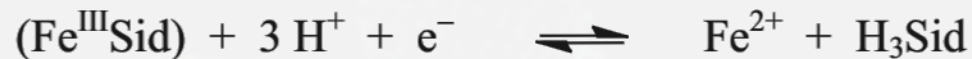
Table 8.1 Stability constants and redox potentials for iron complexes of naturally occurring siderophores (from [13–16]).

Siderophore ligand	$\log K_f$ (Fe^{3+} complex)	E_0 (mV) (at potential limiting high pH)
catecholate		
enterobactin	~49	-990
bacillibactin	47.6	
hydroxamate		
coprogen	29.35	-447
deferrioxamine B	30.6	-468
ferrichrome A	32.0	-440
rhodotorulic acid	62.2 (3 : 2 stoichiometry!)	-419
α-hydroxycarboxylate		
mugineic acid	32.5	-102
rhizoferrin	25.3	-82
mixed		
aerobactin (2 hydroxamate, 1 α -hydroxycarboxylate)	27.6	-336
mycobactin (2 hydroxamate, 1 oxazoline)	26.6	

Sideróforos: absorção de ferro por microorganismos

De acordo com a equação de Nernst para a dependência da concentração do potencial redox, o Esquema (8.5) mostra a correlação entre a constante de estabilidade, K_f , o potencial redox da transição $\text{Fe}^{2+/3+}$ e a constante de dissociação de ácido, K_a , do ligante sideróforo.

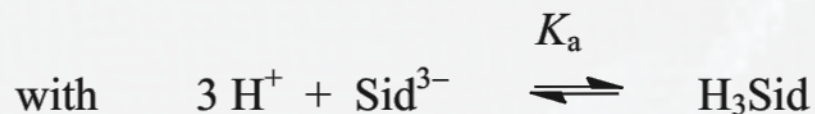
A maioria dos sideróforos pode ser dividida em 3 grupos: α -hidroxicarboxilatos, hidroxamatos e catecolatos. Em todos os casos, os ligantes são capazes de anéis de cinco membros não tensionados e insaturados com átomos de oxigênio carregados negativamente como centros de coordenação. Três desses ligantes constituem um sítio de ligação hexacoordenado para Fe^{3+} . Esta situação resulta em uma alta estabilidade de complexos correspondentes com o ácido de Lewis Fe^{3+} “duro” e altamente carregado.



$$E = E_0 + 0.059 \text{ V} \cdot \log \frac{[(\text{Fe}^{\text{III}}\text{Sid})][\text{H}^+]^3}{[\text{Fe}^{2+}] [\text{H}_3\text{Sid}]}$$

$$= E_0 + 0.059 \text{ V} \cdot \log \frac{[\text{Fe}^{3+}]}{[\text{Fe}^{2+}]} \cdot K_a \cdot K_f$$

(8.5)

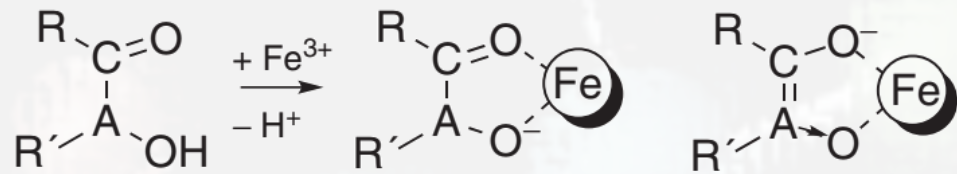


and $K_a = \frac{[\text{H}_3\text{Sid}]}{[\text{H}^+]^3 [\text{Sid}^{3-}]}$

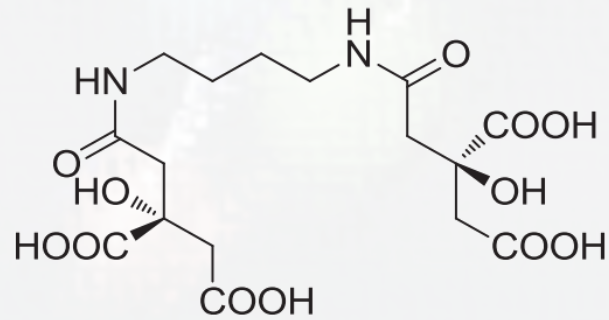
Sideróforos: absorção de ferro por microorganismos

Ferricromos e ferrioxaminas, bem como complexos à base de ácido rodotorúlico e aerobactina, são representantes típicos de complexos de sideróforo de hidroxamato, enquanto a rizoferrina é um sideróforo de hidroxicarboxilato.

(a) α -hydroxycarboxylate or hydroxamate coordination

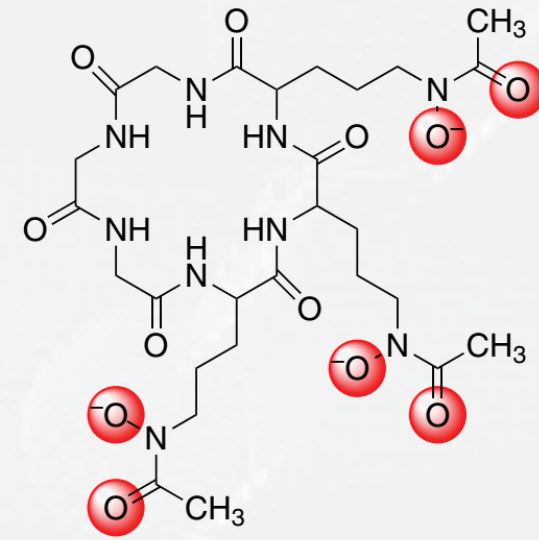


A = C, N




rhizoferrin

(b) catecholate complex



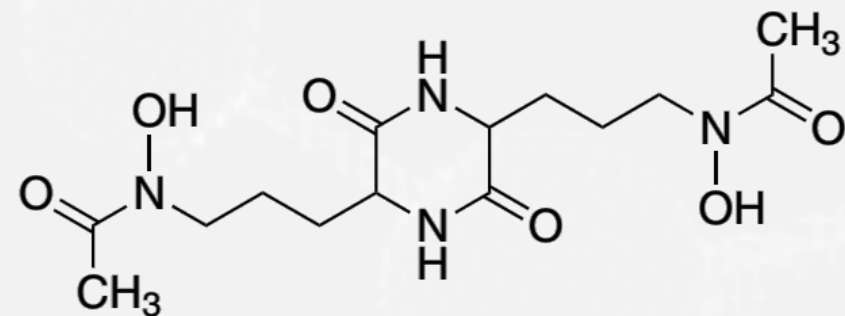
ferrichrome

 coordination centers for Fe

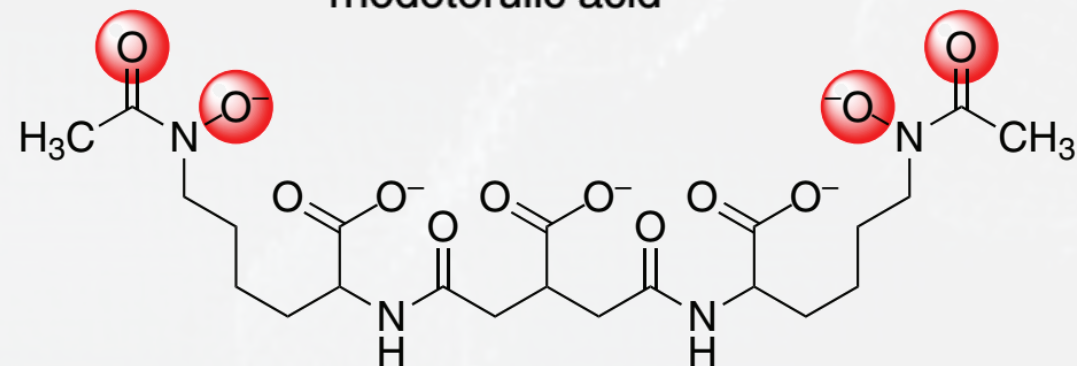
Sideróforos: absorção de ferro por microorganismos

O ácido rodotorúlico é um dipeptídeo de N-hidroxi-L-ornitina e é sintetizado pelo organismo de levedura *Rhodotorula pilimanae*. Ao contrário da maioria dos outros sideróforos, que formam complexos de 1: 1 com o ferro, o ácido rodotorúlico apresenta uma estequiometria de 3: 2. Além do ferro (III), o cromo (III) também pode ser fortemente ligado.

Aerobactina (8.12) é um derivado do ácido cítrico no qual as porções de ácido carboxílico periféricas são substituídas por grupos de ácido hidroxâmico. Algumas cepas de *E. coli*, bem como bactérias como *Aerobacter aerogenes*, sintetizam esse agente quelante.



rhodotorulic acid

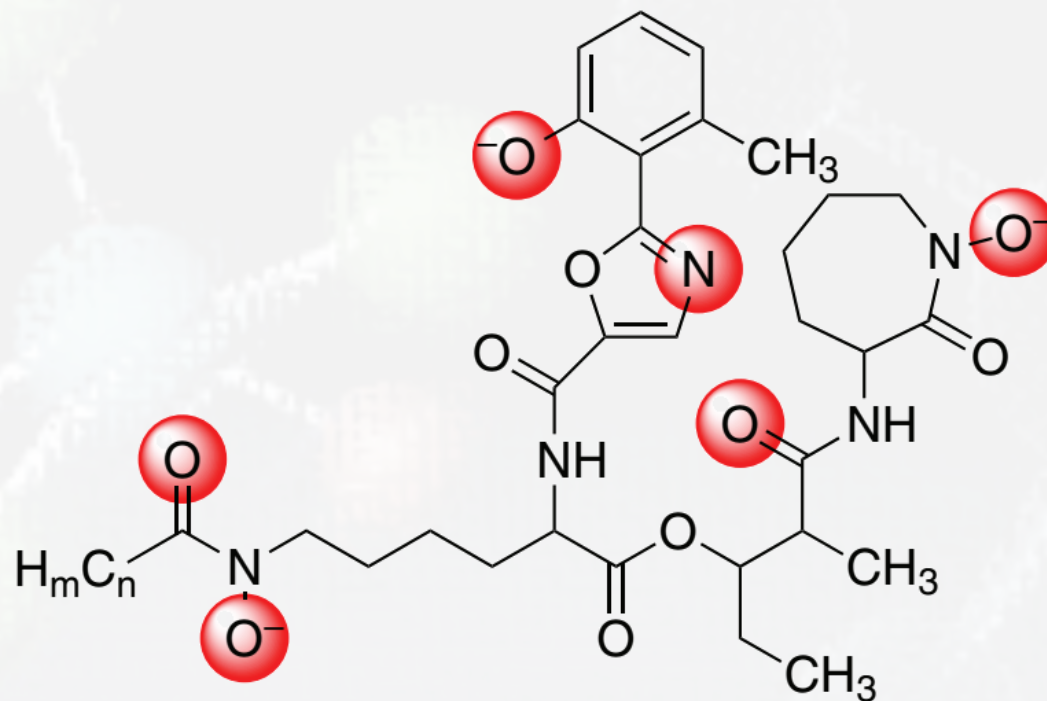


aerobactin



Sideróforos: absorção de ferro por microorganismos

Alguns sideróforos contêm vários dos recursos de coordenação. A micobactina, por exemplo, contém dois grupos de ácido hidroxâmico, uma função fenolato e um grupo oxazolina, que doa um átomo de nitrogênio (imina) para coordenação com o ferro.



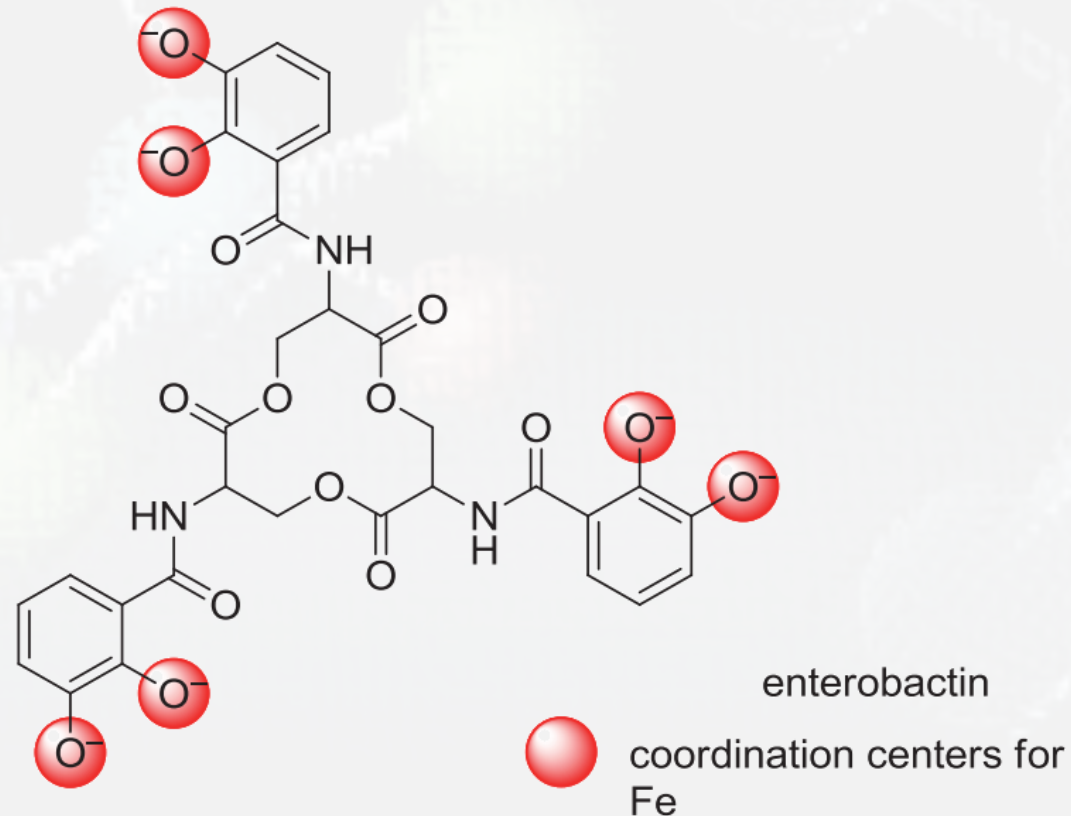
mycobactin ($n > 12$)



coordination centers for Fe

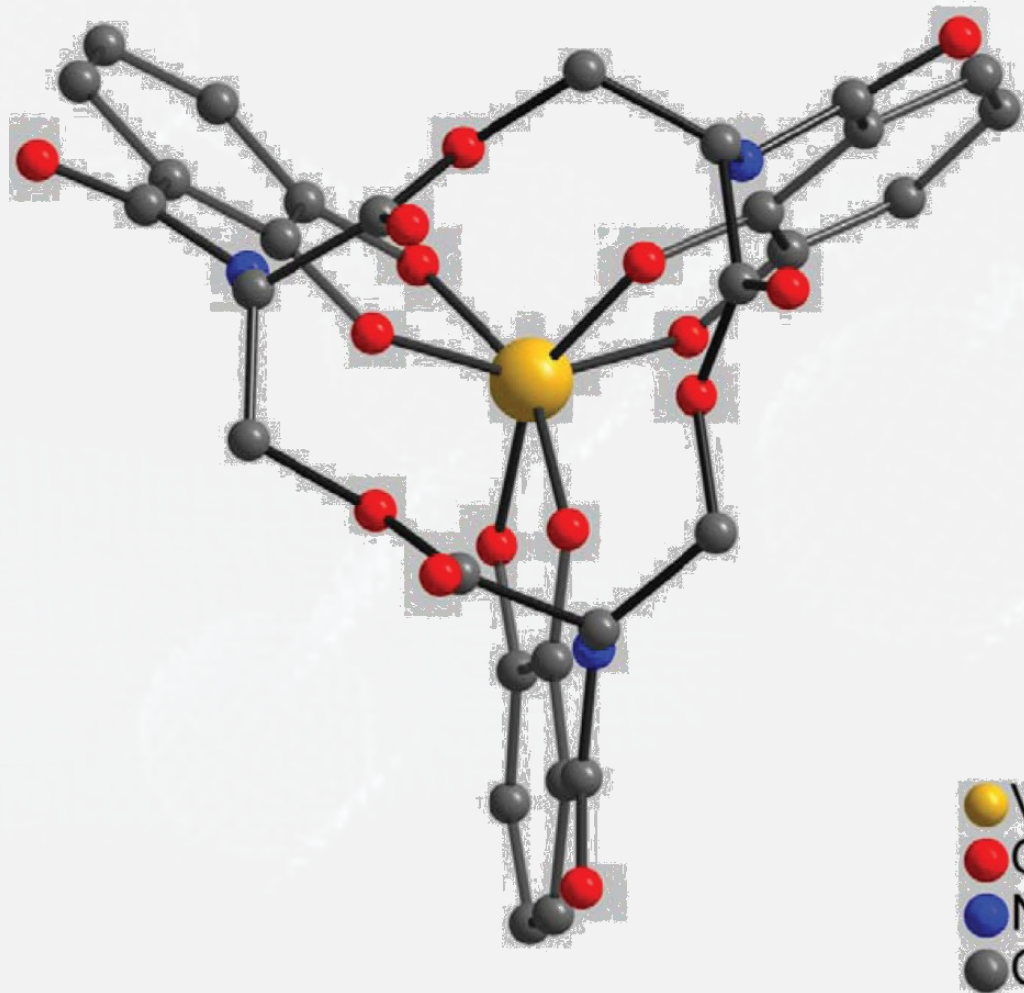
Sideróforos: absorção de ferro por microorganismos

Enquanto os sideróforos de hidroxamato são encontrados principalmente em microorganismos superiores, como fungos e leveduras, os sideróforos catecolatos são sintetizados principalmente por bactérias. Enterobactina, parabactina e agrobactina são os representantes mais proeminentes dos sideróforos do grupo dos catecolatos; em contraste com os hidroxamatos, eles formam complexos carregados negativamente com Fe^{3+} . A enterobactina está entre os quelantes mais fortes do ferro.



Sideróforos: absorção de ferro por microorganismos

Embora uma análise da estrutura cristalina do complexo Fe^{3+} da enterobactina ainda não tenha sido realizada, a espectroscopia de absorção (CD) de um complexo Cr^{3+} isoestrutural e a análise estrutural do análogo V^{4+} apontam para uma configuração delta.



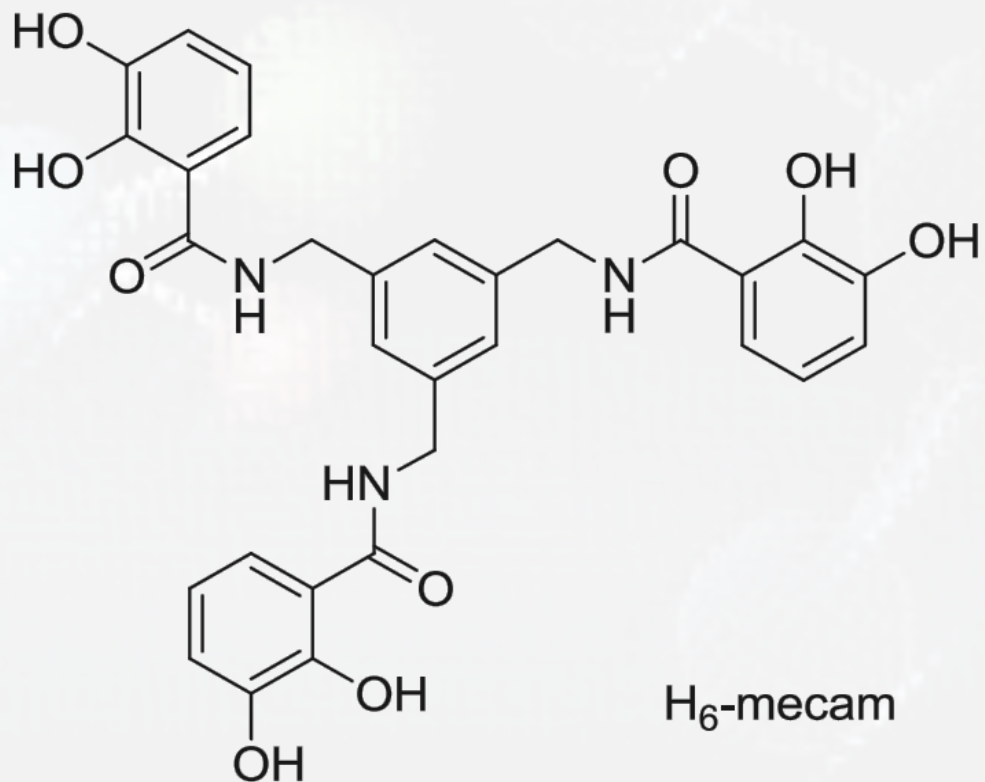
Sideróforos: absorção de ferro por microorganismos

Os complexos sideróforos são muito grandes para passar pelas porinas (proteínas que atravessam as membranas celulares e permitem a difusão passiva das moléculas), então as bactérias Gram-negativas empregam receptores específicos da membrana externa. O transporte para a membrana citosólica é possibilitado por proteínas de ligação periplasmática, e proteínas de cassete de ligação de ATP entregam o complexo ao citosol.

Em bactérias Gram-positivas, uma proteína de ligação ancorada na membrana serve no transporte para o citosol, onde ocorre a dissociação do complexo. De acordo com os princípios discutidos aqui, um mecanismo de liberação facilitada por redox foi sugerido. Os potenciais redox relevantes, no entanto, não podem ser obtidos in vivo, a menos que ocorra uma diminuição no pH e quantidades substanciais de um potente quelante Fe^{2+} estejam presentes.

Sideróforos: absorção de ferro por microorganismos

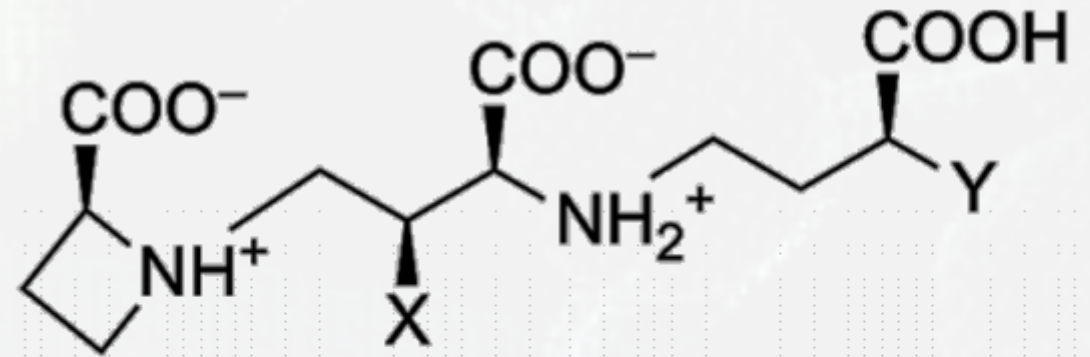
Como a coordenação química do In^{3+} e do Ga^{3+} é muito semelhante à do Fe^{3+} , há esforços em andamento para disponibilizar agentes quelantes de sideróforos para radiodiagnóstico. Variando a lipofilicidade dos ligantes, uma distribuição relativamente específica de órgão dos radioisótopos ^{111}In e ^{67}Ga pode ser alcançada.



Sideróforos: absorção de ferro por microorganismos

As plantas superiores requerem ferro para muitos componentes do aparato fotossintético e para a biossíntese da clorofila. Considerando o suprimento amplamente variável de ferro no solo e as diferentes tolerâncias das plantas em relação ao ferro (por exemplo, o arroz é muito sensível à deficiência de ferro), esse componente "mineral" deve ser extraído do material oxidado por meio das raízes.

Na estratégia baseada em redução de Fe^{3+} , esse processo ocorre via um quelato férrico redutase (FRO2), que usa elétrons do NADH. O grupo de ligantes de fitosideróforos reais para a quelação de Fe^{3+} inclui compostos de baixo peso molecular, como os aminoácidos ácido muginéico e nicotianamina.



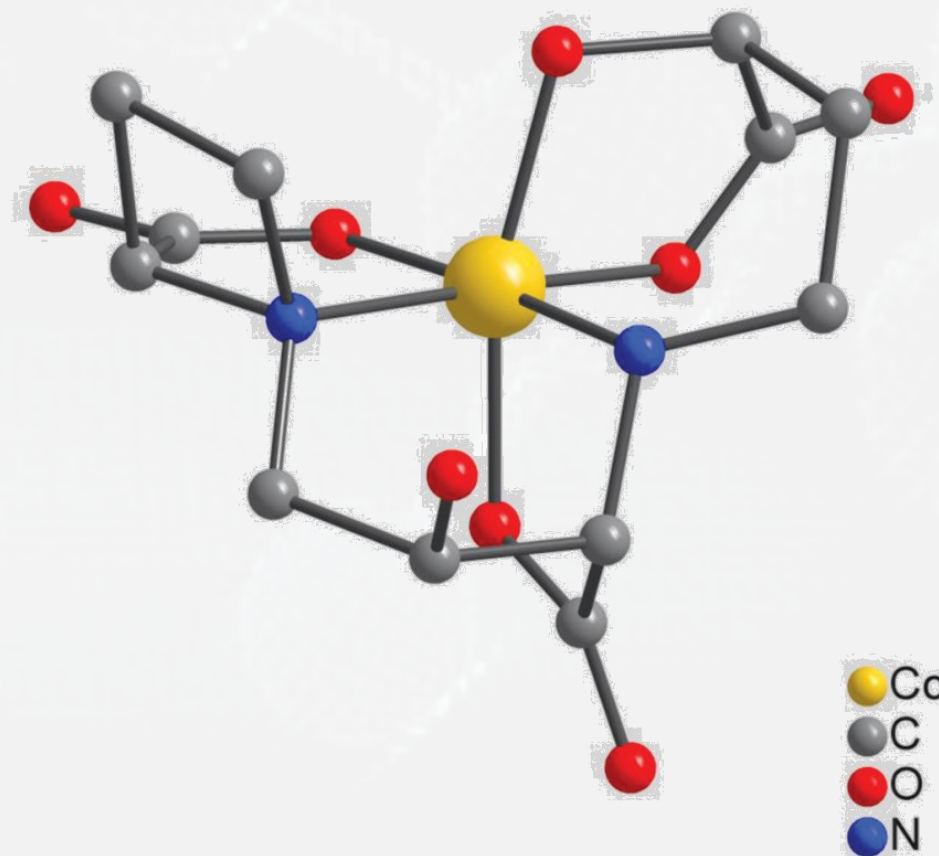
a) mugineic acid ($\text{X} = \text{OH}$, $\text{Y} = \text{OH}$)

b) nicotianamine ($\text{X} = \text{H}$, $\text{Y} = \text{NH}_2$)

Sideróforos: absorção de ferro por microorganismos

As plantas superiores requerem ferro para muitos componentes do aparato fotossintético e para a biossíntese da clorofila. Considerando o suprimento amplamente variável de ferro no solo e as diferentes tolerâncias das plantas em relação ao ferro (por exemplo, o arroz é muito sensível à deficiência de ferro), esse componente "mineral" deve ser extraído do material oxidado por meio das raízes.

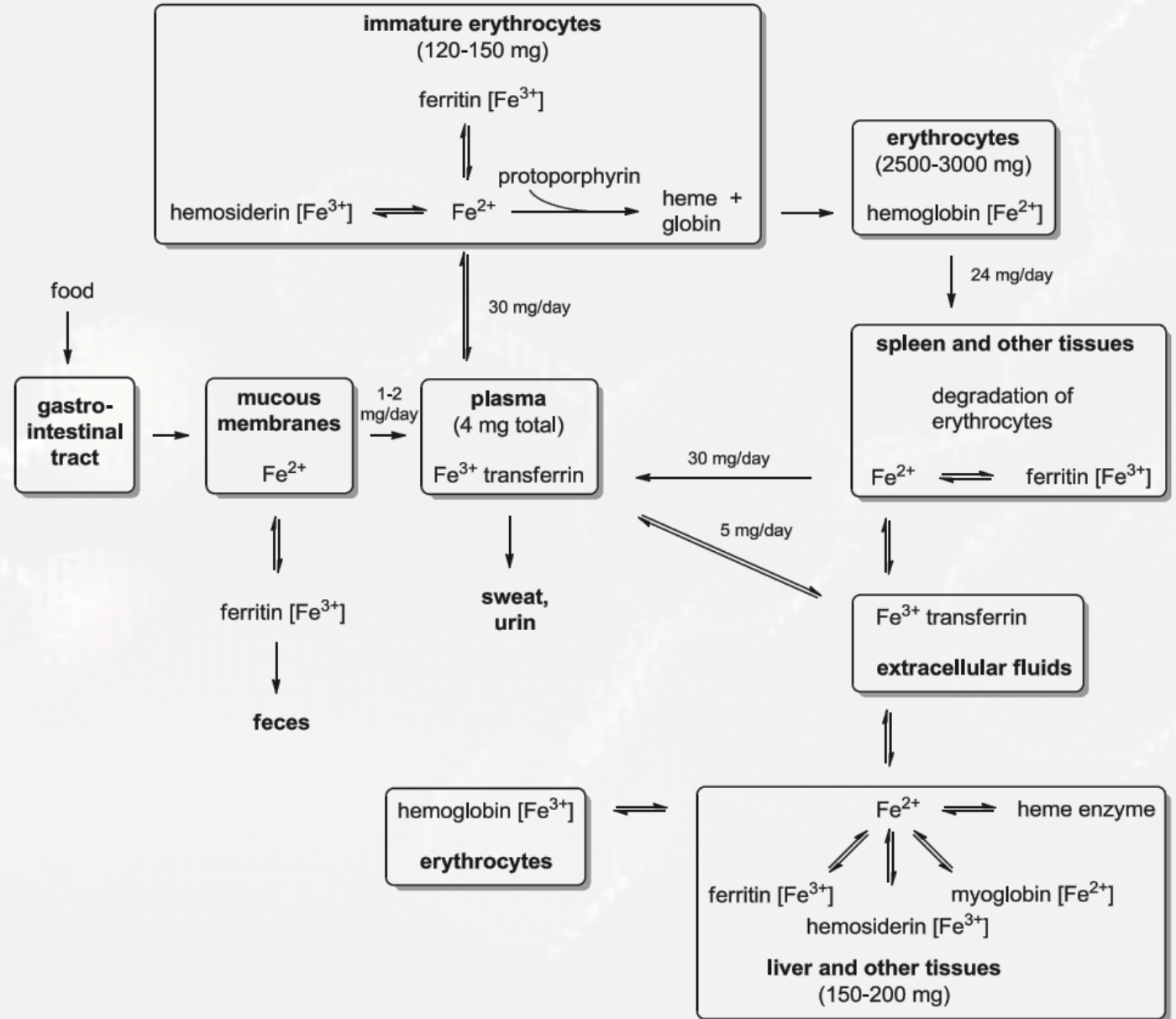
Na estratégia baseada em redução de Fe^{3+} , esse processo ocorre via um quelato férrico redutase (FRO2), que usa elétrons do NADH. O grupo de ligantes de fitosideróforos reais para a quelação de Fe^{3+} inclui compostos de baixo peso molecular, como os aminoácidos ácido muginéico e nicotianamina.



Transporte e armazenamento de ferro

Em organismos complexos como os seres humanos, o problema do transporte seletivo de ferro para diferentes tipos de células é de grande importância.

A absorção de ferro dos alimentos deve ser eficaz; por exemplo, o quelante redutor ascorbato aumenta a rápida reabsorção de ferro, enquanto os fosfatos não redutores, mas com forte ligação ao Fe^{3+} , podem neutralizar tal reabsorção dos alimentos. Proteínas de ferro não heme altamente especializadas, particularmente ferritina e a hemossiderina, servem para armazenar este ferro não utilizado.



Sideróforos: absorção de ferro por microorganismos

O ferro entra no corpo por absorção, principalmente no duodeno por meio da ação dos enterócitos, onde a DMT1, uma proteína transportadora específica para Fe^{2+} , o transporta para a célula após a redução do Fe^{3+} por uma ferriredutase.

O Fe^{2+} deve atravessar o enterócito e sair pela ferriportina, uma proteína transportadora de ferro transmembrana. O Fe^{3+} é liberado do sistema de transporte da transferrina nas células formadoras de sangue da medula óssea e é então captado pela ferritina, presumivelmente após a redução intermediária para um Fe^{2+} mais lábil.

A absorção pelo sistema de armazenamento de ferritina eventualmente envolve a reoxidação a Fe^{3+} . Enquanto a incorporação de ferro no macrociclo de porfirina durante a biossíntese de heme ocorre através de uma enzima ferro-quelatase, os eritrócitos ricos em hemoglobina têm apenas uma expectativa de vida finita e são degradados, por exemplo, no baço, onde o ferro liberado é novamente armazenado como parte de complexos de ferritina.

A forma de transporte transferrina também fornece Fe para as células hepáticas ou musculares, onde pode ser utilizado na biossíntese de enzimas ou mioglobina. Se necessário, o Fe^{2+} pode ser reabsorvido através das membranas mucosas dos intestinos, onde a saturação de ferro da ferritina dentro da membrana regula a absorção.

Transferrina

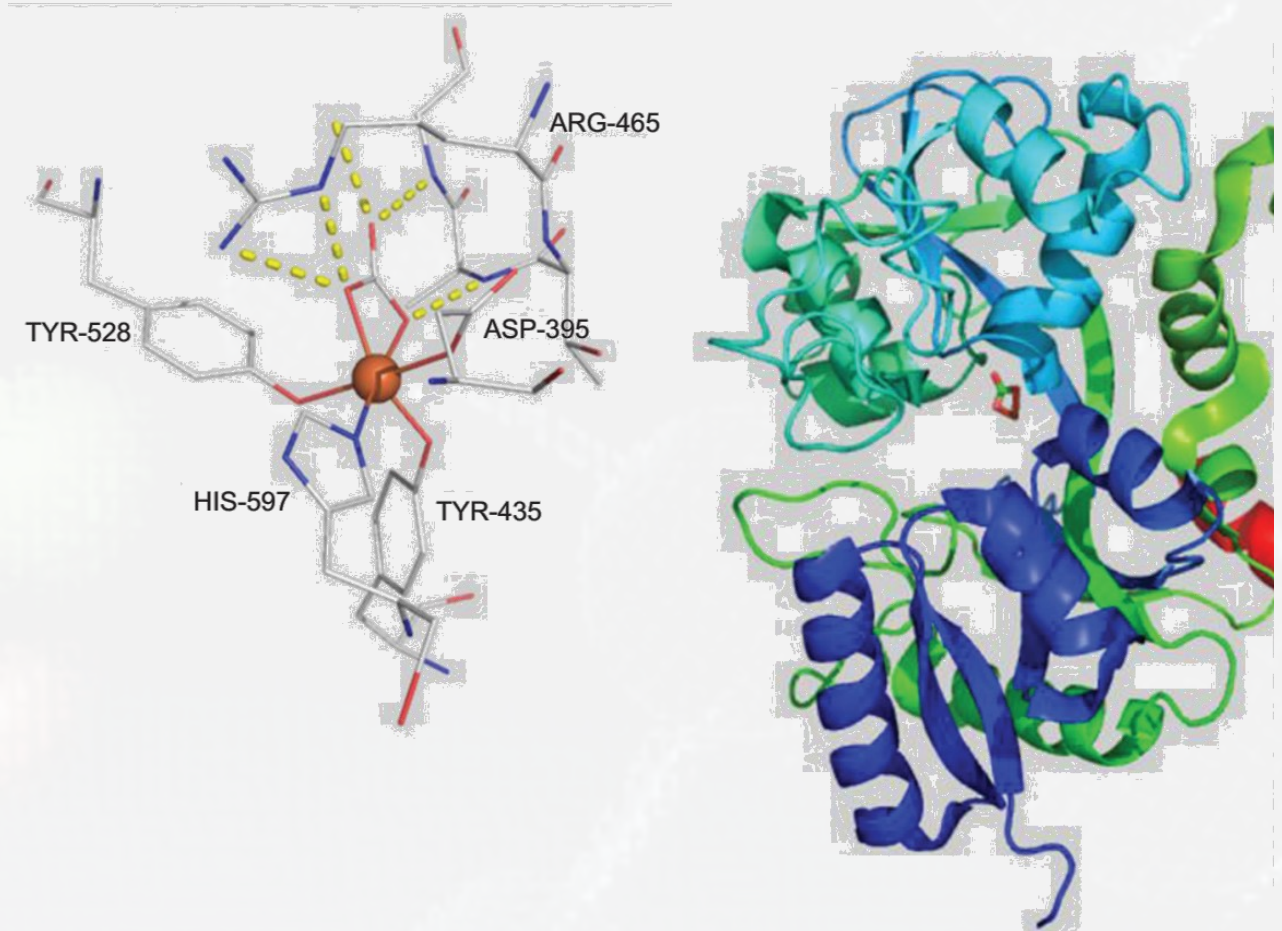
A proteína transportadora de ferro ovotransferrina foi isolada pela primeira vez da clara do ovo em 1900 com o nome de conalbumina; em 1946, a transferrina sérica foi obtida de sangue humano. Todas as transferrinas, incluindo a lactoferrina de secreções exócrinas, apresentam propriedades antibacterianas que são fortemente reduzidas na presença de ferro em excesso. Há muito se sabe que uma molécula de transferrina pode ligar fortemente dois íons Fe^{3+} junto com quantidades estequiométricas de carbonato, o "ânion sinérgico".

Quantitativamente, a principal função das transferrinas no corpo humano é transportar ferro dos locais de reabsorção, armazenamento ou degradação dos eritrócitos para as células formadoras de sangue na medula óssea

Uma segunda função, (indireta), mas ainda assim muito essencial da transferrina é fornecer proteção contra doenças infecciosas. As propriedades antibacterianas e antiinflamatórias da lactoferrina e da ovotransferrina servem, portanto, para proteger os fluidos corporais muito sensíveis, como membranas mucosas e o embrião em desenvolvimento. A ligação particularmente forte do Fe^{3+} à lactoferrina provavelmente desempenha um papel importante no desenvolvimento das células que estão diretamente envolvidas nas reações imunológicas do corpo; portanto, esforços estão sendo feitos para obter lactoferrina humana a partir de organismos "transgene" apropriadamente modificados.

Transferrina

As transferrinas são glicoproteínas com massas moleculares de cerca de 80 kDa. Sua única cadeia polipeptídica é dobrada para formar dois lóbulos, cada um dos quais contendo um local de ligação para o ferro. As sequências de aminoácidos para os terminais C e N da transferrina do soro humano mostram 42% de homologia. O tamanho da porção de carboidrato das transferrinas varia entre as diferentes espécies e pode até variar entre as diferentes regiões do mesmo organismo. As cadeias de polissacarídeos não contribuem para o transporte de ferro; sua função é envolver-se em interações específicas com receptores.



Transferrina

Todas as transferrinas podem ligar dois íons Fe^{3+} spin alto por molécula, bem como outros íons metálicos, como Cr^{3+} , Al^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Co^{3+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , VO^{2+} , Ga^{3+} , Ni^{2+} e íons lantanídeos trivalentes. O transporte de Al^{3+} por transferrinas no sistema nervoso central é um aspecto importante da toxicidade do alumínio (não pode ser reduzido). Enquanto a apoenzima livre de ferro é incolor, uma cor marrom avermelhada indica a coordenação de Fe^{3+} . A ligação do íon metálico a qualquer um dos dois locais de coordenação na região C e N-terminal envolve a ligação "sinérgica" simultânea de um íon carbonato e a liberação de três prótons (efeito de carga).

