

I SEMINÁRIO

Tema: DESIDROGENASE DA GLICOSE-6-FOSTATO

Subtemas:

- Acção enzimática e regulação
- Deficiência da desidrogenase e anemias hemolíticas

Intervenientes

- Docentes do Instituto de Bioquímica/FML:
 - Dra. Yolanda Pinto (Assistente Estagiária)
 - Dra. Manuela Nunes (Assistente Estagiária)
 - Dr. Luís Cardoso (Assistente Estagiário)
 - Dr. Carlos Moreira (Assistente Convidado)
 - Investigadores voluntários do Instituto de Bioquímica/FML:
 - Dra. Filomena Alves (Interna do Internato Geral/HSM)
 - Dra. Leonor Queiroz (Interna do Internato Geral/HSM)
 - Alunos do 2.º Ano, Monitores voluntários do Instituto de Bioquímica/FML:
 - Teresa Nunes
 - Maria João Gomes
 - Maria Gabriela Magalhães Pereira
 - Fernando Abreu
 - Cristina Cristovão
 - Hui Cheng Vai
-

ACÇÃO ENZIMÁTICA E REGULAÇÃO DA DESIDROGENASE DA GLICOSE

6-FOSFATO

Teresa Nunes

Maria João Gomes

Introdução

A glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) é a enzima limitante da via das fosfopentoses. Catalisa a desidrogenação da glicose-6-fosfato em C-1, formando 6-fosfogliconolactona e NADPH. A via das fosfopentoses serve vários propósitos incluindo a síntese e degradação de açúcares, em particular as pentoses necessárias aos nucleótidos e ácidos nucleicos. No entanto, a maior importância desta via reside na capacidade de sintetizar NADPH, a utilizar em reacções biossintéticas. A direcção que a via toma é determinada principalmente pela necessidade em açúcares e NADPH. A sua distribuição nos vários tecidos irá depender das funções específicas destes. Por exemplo nos eritrócitos, a via das fosfopentoses tem em vista a produção de NADPH que, por sua vez, é usado para gerar glutatião reduzido, essencial à manutenção da estrutura do eritrócito. A via é também bastante activa em tecidos como o fígado, glândula mamária, testículo e córtex adrenal, onde decorre preferencialmente a síntese de esteróides e ácidos gordos, que requerem o poder redutor do NADPH.

Factores Hormonais e Nutricionais

Estudos *in vivo* em animais demonstraram a regulação da glicose-6-fosfato desidrogenase por parte de factores hormonais e nutricionais.

Nutrição

A actividade da G6PD decresce com a fome ou durante a re-alimentação rica em gorduras, aumentando significativamente com dietas ricas em hidratos de carbono.

Hormonas

A insulina, glicocorticóides e as hormonas tiroideias aumentam a actividade da enzima, enquanto a glicagina diminui a actividade da G6PD. Sabe-se que os glicocorticóides não aumentam, por si só, a actividade das enzimas, mas amplificam a estimulação causada pela insulina.

Influência da Glicose

A influência que a glicose exerce sobre a G6PD ainda não está totalmente esclarecida. Pensa-se que a acção da glicose sobre a G6PD seja apenas indirecta, por estimulação da insulina.

Etanol

O etanol potencia fortemente a actividade da G6PD. Isto explica, em parte, as alterações do metabolismo lipídico e lipoproteico que decorrem da ingestão excessiva de etanol. Note-se que a G6PD afecta a redução de NADP⁺ em NADPH que, por sua vez, regula a actividade da sintetase dos ácidos gordos. O aumento de NADPH favorece a síntese de ácidos gordos, na origem do fígado gordo alcoólico.

Influência da Putrescina

O crescimento e a proliferação celulares que envolvem a síntese de ácidos nucleicos (e, por isso requerem uma via da fosfopentose activa) estão associados à estimulação da ornitina-descarboxilase, uma enzima que depende de piridoxal fosfato. Verificou-se que a putrescina, um produto da actividade da ornitina-descarboxilase, estimula o aumento de actividade da glicose-6-fosfato desidrogenase. Os mecanismos de activação estão ainda por esclarecer.

Efeito do Glutatião Oxidado

A modulação da actividade da glicose-6-fosfato desidrogenase por parte do glutatião oxi-

dado (GS-SG) é um assunto ainda em discussão. Acrescente-se apenas que a redução completa do GS-SG leva a uma maior produção de NADPH a partir de NADP⁺. Simultaneamente à redução do glutatião, ocorre a reoxidação do NADPH, ou seja, o aumento do NADP⁺.

A DEFICIÊNCIA DA DESIDROGENASE DA GLICOSE-6-FOSFATO COMO CAUSA DE ALTERAÇÕES DA MEMBRANA ERITROCITÁRIA QUE CONDUZEM A ANEMIAS HEMOLÍTICAS

Maria Gabriela Magalhães Pereira

O Glóbulo Vermelho

O glóbulo vermelho circulante maduro não tem capacidade de se dividir, de sintetizar proteínas e de ter fosforilação oxidativa, sendo por isso uma “célula” com metabolismo relativamente limitado.

A glicose, como única fonte de energia química, entra no eritrócito por difusão facilitada, sendo convertida em glicose-6-fosfato, com transformação potencial através de duas vias: cerca de 80 a 90% segue a via glicolítica, enquanto apenas cerca de 10% da glicose é catabolisada pela via das fosfopentoses (Fig. 1).

A energia obtida pelo glóbulo vermelho sob a forma de ATP é utilizada principalmente no funcionamento da bomba Na⁺-K⁺, que assegura a manutenção do meio iônico intracelular e evita a lise osmótica. É também necessária energia para manter e reparar a membrana e, em menor quantidade, para que os átomos de ferro da hemoglobina se mantenham na forma reduzida.

Em condições normais, os glóbulos permanecem em circulação durante 120 dias, antes de serem retidos e destruídos pelo fígado e baço. No entanto, esta sobrevivência está condicionada à sua capacidade de manter a deformabilidade da membrana.

Os factores responsáveis pelo envelhecimento normal do glóbulo vermelho são ainda pouco conhecidos, envolvendo entre outros: a deposição de substâncias estranhas na membrana e a perda gra-

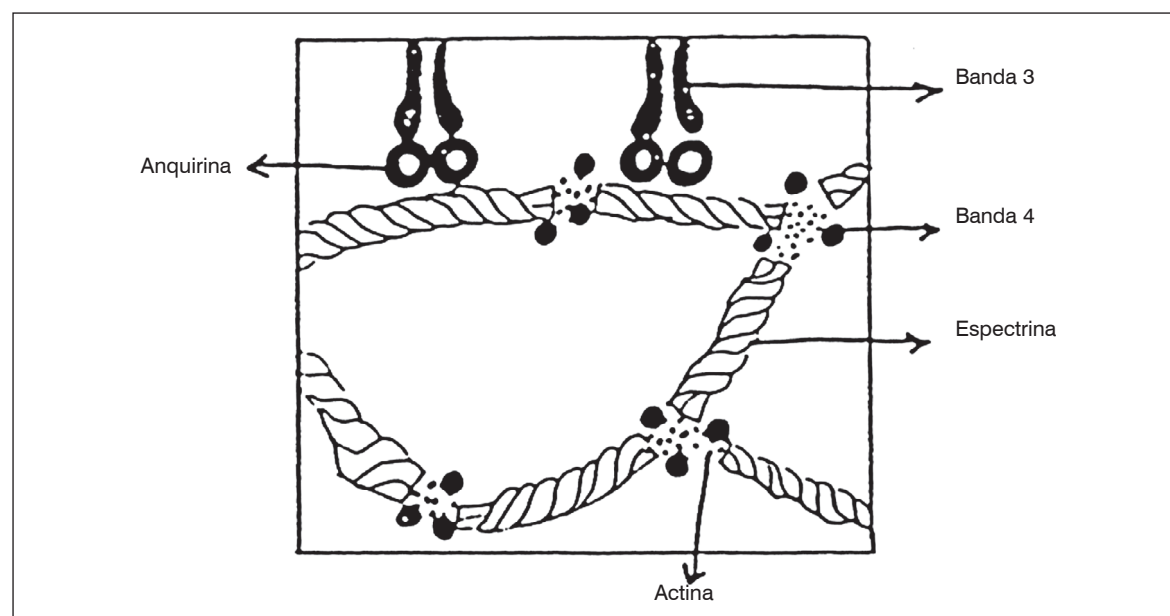


Fig. 1 – Esquema da rede da espectrina e proteínas membranares associadas.

dual da actividade catalítica das enzimas de glóbulos envelhecidos que produzem menos ATP, levando à desorganização da rede de actina e espectrina, e subsequente perda da flexibilidade globular.

Constituição da Membrana Eritrocitária

As principais causas de modificação da membrana do glóbulo vermelho são devidas a alterações do citoesqueleto, que é o principal determinante da forma e deformabilidade deste constituinte do sangue.

O citoesqueleto é constituído por diversas proteínas (Fig. 2), com destaque para a espectrina, actina, proteína 4.1, anquirina e proteína 3. No total, as proteínas da membrana eritrocitária perfazem cerca de

49% da constituição membranar, sendo a fracção restante representada por lípidos (43%) e glícidos (8%).

Glicose-6-Fosfato Desidrogenase

A glicose-6-fosfato desidrogenase é uma enzima que catalisa a primeira reacção da via das fosfopentoses, do que resulta a oxidação da glicose-6-fosfato em 6-fosfogliconolactona, acompanhada por redução do NADP^+ em NADPH e H^+ .

A deficiência em G6PD é transmitida através de um gene mutante do cromossoma X que torna as células susceptíveis a alterações da membrana quando na presença de agentes oxidantes, alterações estas que originam a ruptura da membrana.

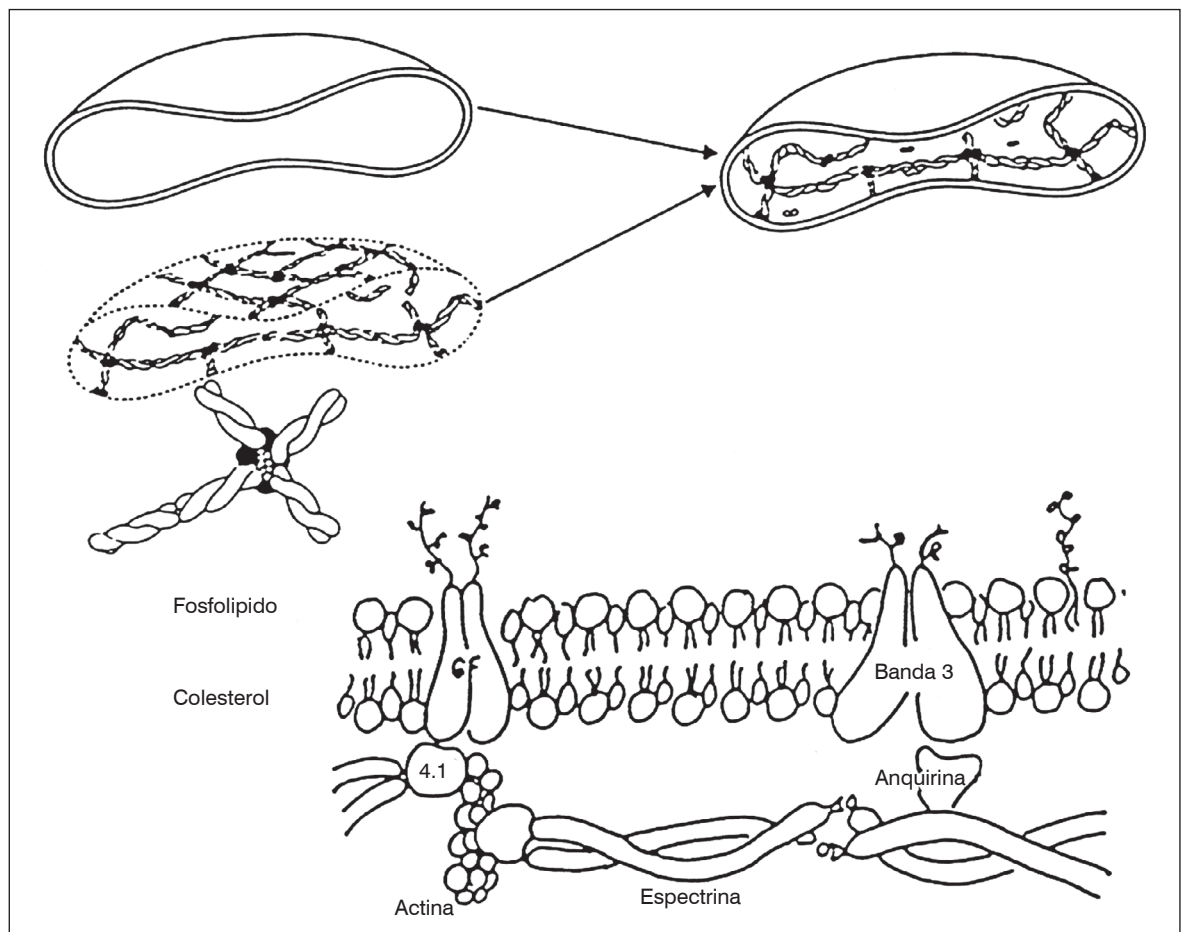
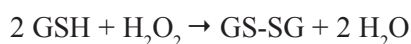


Fig. 2 – Representação esquemática do citoesqueleto da membrana eritrocitária.

A hemólise ocorre através de mecanismos ainda não perfeitamente conhecidos, sendo detectada geralmente após administração de uma droga, ingestão de favas, infecções, ou cetoacidose diabética.

Isto é, a exposição a agentes que provoquem “stress” oxidativo resulta na produção de peróxido de hidrogénio e outros radicais livres de oxigénio. A neutralização deste composto é feita sobretudo à custa de glutatião reduzido, numa reacção catalisada pela peroxidase do glutatião:



Em que:

GSH – glutatião reduzido

GS-SG – glutatião oxidado

H_2O_2 – peróxido de hidrogénio

Como as células com deficiência em glicose-6-fosfato desidrogenase não reduzem NADP^+ suficiente para manter o glutatião no estado reduzido, o H_2O_2 não é eliminado e provoca graves danos nos eritrocitos, nomeadamente a peroxidação dos lípidos e proteínas da membrana e, ainda mais importante, a formação de complexos com a hemoglobina (peroxi-hemoglobina).

Por outro lado, o glutatião oxidado forma também complexos com a hemoglobina (HbS-SG). A hemoglobina acumula-se formando os chamados corpos de Heinz que se associam à membrana, conferindo-lhe rigidez e dificultando a deformação dos eritrocitos, favorecendo, portanto, a sua destruição ao nível do fígado e do baço. Como a destruição dos eritrocitos é superior à sua produção, resultam situações de anemia.

As Anemias Hemolíticas

As anemias são situações patológicas em que existe diminuição da massa total dos glóbulos vermelhos e/ou do seu conteúdo em hemoglobina.

No caso das anemias hemolíticas os glóbulos são destruídos precocemente, por causa hereditária ou adquirida. Embora a medula óssea tenha capacidade para aumentar cerca de oito vezes a sua produção, a destruição pode ultrapassar consideravelmente esta capacidade de compensação, causando anemia.

Os glóbulos vermelhos podem ser destruídos em circulação e libertar o seu conteúdo directamente no plasma (hemólise intravascular) ou, mais frequentemente, serem retidos e destruídos no fígado e baço (hemólise extravascular). A destruição globular ocorre em duas situações: existência de alterações de superfície reconhecidas como anómalas, ou a presença de características físicas que limitem a deformabilidade dos eritrocitos, impedindo-os de atravessar a barreira constituída pela microcirculação esplénica.

Exemplos de Anemias Hemolíticas (Quadro I)

Quadro I – Classificação das Anemias Hemolíticas (exemplos)

1. Devidas a factores extrínsecos

- a) *Esplenomegália*
- b) *Imuno-hemolíticas*
- c) *Mecânicas*
- d) *Toxicidade*

2. Devidas a defeitos da membrana

- a) *Anemia de células espiculadas*
- b) *Hemoglobina paroxística nocturna*
- c) *Esferocitose hereditária*
- d) *Eliptocitose hereditária*
- e) *Estomatocitose hereditária*

3. Devidas a factores intrínsecos

- a) *Enzimopatias da via glicolítica*
- b) *Enzimopatias da via das fosfopentoses*
- c) *Hemoglobinopatias*
- d) *Talassémias*

Resultantes de defeitos da membrana

Anemia de células espiculadas (Acantocitose)

Encontra-se em doenças hepáticas graves. Os eritrocitos têm contornos irregulares, espiculados,

apresentando aumento de colesterol na membrana, sem haver aumento proporcional dos fosfolípidos. Esta desproporção resulta em diminuição da fluidez de membrana e da deformabilidade globular.

Esferocitose hereditária

Quase todos os doentes têm deficiência de espectrina, que é proporcional à gravidade da anemia. Os seus eritrócitos têm contornos esferoidais e estruturas rígidas, apresentando aumento da fragilidade osmótica.

Eliptocitose hereditária

Encontram-se glóbulos vermelhos de forma oval ou elíptica nas aves, répteis, camelos e lamas. No homem essa característica é patológica, correspondendo a uma doença hereditária de transmissão autossómica dominante. Em doentes homocigóticos verificou-se ausência da banda 4.1.

Estomatocitose hereditária

Os glóbulos têm uma zona central pálida, em fenda. Apresentam permeabilidade aumentada parcialmente compensada por aumento do transporte activo. Têm também aumento dos lípidos de membrana principalmente, da fosfatidilcolina. Esta alteração poder-se-á traduzir quer por aumento da fragilidade osmótica, com glóbulos grandes, quer por diminuição da fragilidade osmótica, com glóbulos pequenos.

Resultantes de enzimopatias

A incapacidade do glóbulo vermelho em sintetizar proteínas torna-o particularmente susceptível à instabilidade ou aos defeitos nas suas enzimas (uma mutação que resulte numa enzima menos estável é expressa mais facilmente no eritrócito).

Enzimopatias da via glicolítica

Estas doenças traduzem-se na diminuição do conteúdo globular de ATP, relativamente à idade dos

eritrócitos, que têm assim grande dificuldade em manter o ião potássio no seu interior. Daí resultam alterações morfológicas que sugerem ser a membrana secundariamente afectada pelo defeito enzimático.

De todas as enzimas da via glicolítica as que mais frequentemente apresentam alterações hereditárias são a piruvato-cinase (95% dos casos) e a glicose-P-isomerase (4% dos casos).

Tanto os defeitos da hexocinase como da piruvato-cinase se observam unicamente no glóbulo vermelho (Fig. 3).

Défice da Glicose-6-Fosfato Desidrogenase

As anemias hemolíticas podem resultar de deficiências enzimáticas, nas vias glicolítica e das fosfopentoses. Neste caso, a deficiência da desidrogenase da glicose-6-fosfato é a mais comum. A enzima catalisa a oxidação da glicose-6-fosfato em 6-fosfogliconolactona, com produção de NADPH; esta coenzima é necessária na degradação do peróxido de hidrogénio e à manutenção dos grupos sulfidrílicos da membrana e da hemoglobina no estado reduzido, o que, no conjunto, é essencial à integridade do glóbulo vermelho circulante.

As células deficientes em desidrogenase da glicose-6-fosfato tornam-se mais susceptíveis a todos os tipos de “stress oxidativo” (p. ex: drogas oxidantes, infecções, ingestão de favas), de que resultam episódios hemolíticos agudos, auto-limitados.

Esta enzimopatia encontra-se ligada ao cromossoma X; assim sendo, os homens são homocigóticos enquanto as mulheres são geralmente portadoras.

Existem cerca de 250 variantes desta enzima, muitas destas não causando qualquer anomalia funcional significativa. O tipo B é a forma normal ou nativa; o tipo A+ encontra-se em 20% dos indivíduos de raça negra, sendo uma forma funcionalmente normal. As formas mais frequentes e com significado clínico são o *tipo A-*, existente em 15% dos indivíduos de raça negra dos E.U.A. (e que, curiosamente, confere uma certa protecção contra a malária), e o *tipo Mediterrânico*, cujas manifes-

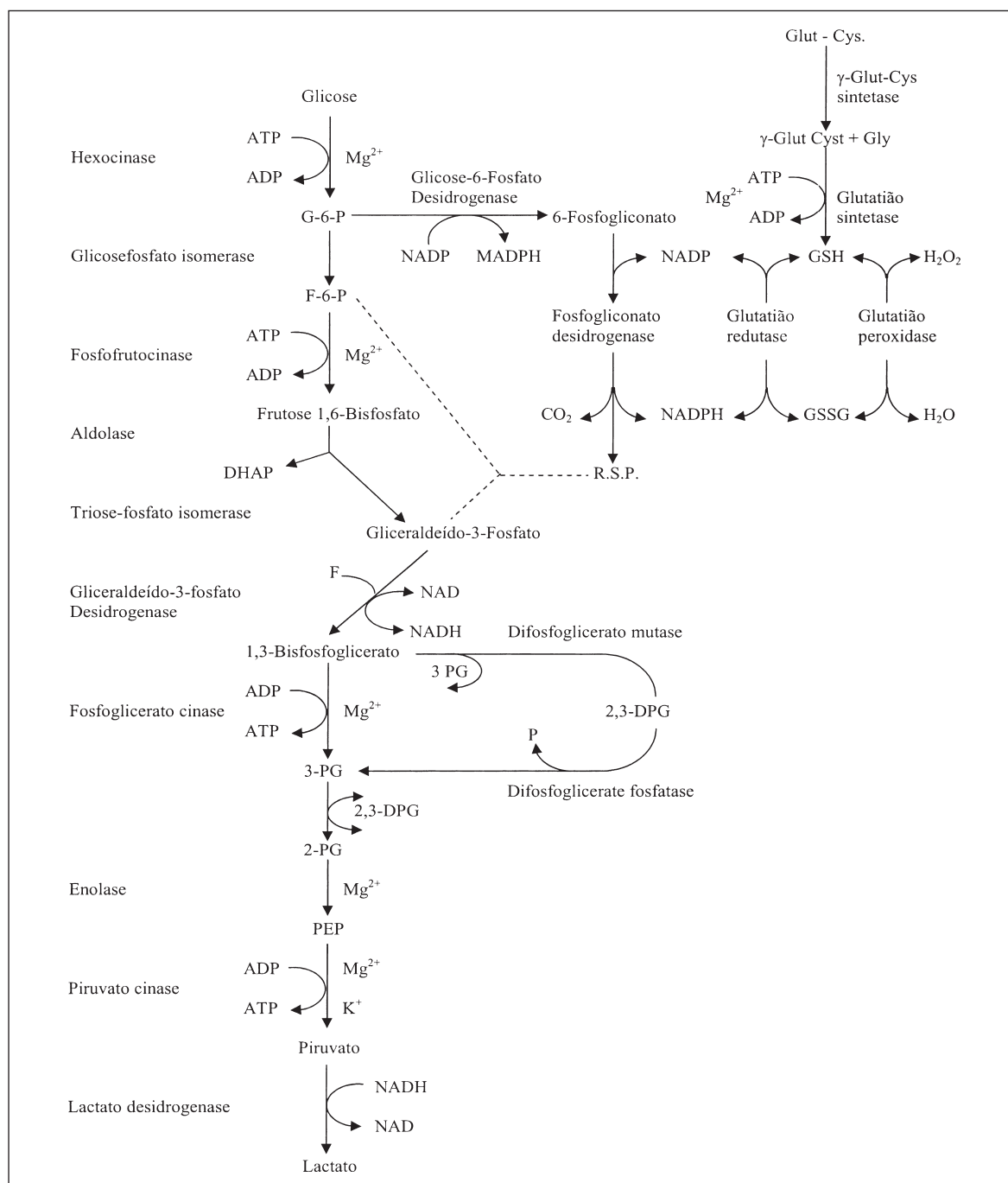


Fig. 3 –Via glicolítica eritrocitária e mecanismos associados da oxi-redução.

tações clínicas são muito mais graves que na variante A-, podendo estar associada a favismo.

A deficiência em G6PD é uma doença com alguma dimensão clínica, uma vez que afecta quatrocentos milhões de habitantes a nível mun-

dial. A prevenção tem um papel importante, que consiste, essencialmente, em evitar medicamentos oxidantes e fazer o rastreio em indivíduos potencialmente susceptíveis, antes de medicação oxidativa.