

# A Evolução do Uso de Elementos Químicos por Sistemas Biológicos\*

J. J. R. FRAÚSTO DA SILVA\*

## 1. INTRODUÇÃO

A análise de diferentes tipos de organismos e, em especial, das diferenças encontradas entre organismos anaeróbicos (mais primitivos) e as espécies aeróbicas actuais, mostra que houve mudanças substanciais na sua composição e na forma como os elementos se distribuem nas células e são nelas utilizados.

Para compreender essas mudanças haverá que ter em consideração as alterações registadas na composição da superfície da Terra e na da atmosfera desde há cerca de 4 bilhões de anos. Inicialmente redutora, contendo provavelmente gases como  $H_2$ ,  $CH_4$ ,  $NH_3$ ,  $H_2S$  e  $H_2Se$ , bem como outros mais oxidados –  $CO$ ,  $CO_2$  e  $N_2$  –, além de  $H_2O$ , a atmosfera atingiu a sua composição actual há menos de 1/2 bilhão de anos. Ao mesmo tempo, a superfície terrestre passou a ser constituída essencialmente por óxidos quando antes tinha certamente uma percentagem substancial de sulfuretos. O mar, por seu lado, terá evoluído progressivamente de um potencial redox baixo em torno dos -0,5 a 0,0 volts, até aos 0,8 volts actuais. Inicialmente bastante ácido, devido ao teor elevado de ácido clorídrico, o seu pH foi subindo lentamente devido à dissolução de óxidos e carbonatos, atingindo um valor já na zona alcalina, cerca de 8, por tamponização com hidrogenocarbonato.

Nestas condições, algumas espécies químicas inicialmente não disponíveis por estarem na forma de sulfuretos muito pouco solúveis, por exemplo os iões  $Hg^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  e  $Cu^+$ ,  $Cd^{2+}$ , e em menor grau o ião  $Zn^{2+}$ , tornaram-se progressivamente mais disponíveis devido à oxidação do sulfureto a sulfato, enquanto que outras, inicialmente disponíveis, se tornaram quase indisponíveis, por exemplo o ferro que passou de  $Fe^{2+}$  a  $Fe^{3+}$ , cujo hidróxido tem um produto de solubilidade bastante baixo. Com a subida do pH também o  $Ni^{2+}$  e o  $Co^{2+}$ , já de si pouco abundantes, passaram por uma fase de menor disponibilidade, enquanto o vanádio

e o molibdénio, os elementos de transição mais abundantes na água do mar, se mantiveram sempre disponíveis na forma catiónica,  $Mo^{3+}$  e  $V^{3+}$ , ou na forma aniónica, quer como  $MoS_4^{2-}$  e  $VS_4^{3-}$ , quer como  $MoO_4^{2-}$  e  $VO_3^-$ . Também o ião  $Mn^{2+}$  foi pouco afectado, pois o produto de solubilidade do seu sulfureto não é suficientemente baixo.

Naturalmente, os iões alcalinos e alcalino-terrosos não sofreram alteração, embora a concentração do cálcio seja regulada (tamponizada) pelo carbonato. De notar ainda que o ferro poderia formar e deverá ter formado inicialmente, com alguma facilidade, agregados ferro-enxofre,  $Fe^{2+}/Fe^{3+}/S^{2-}$ , nos quais parte do ferro pode ser substituído por  $Ni^{2+}$  e parte do sulfureto pode ser substituído por selenieto,  $Se^{2-}$ . Os agregados  $MoS_4^{2-}$  e  $VS_4^{3-}$  podem, igualmente, ligar-se aos agregados ferro-enxofre, originando as nitrogenases.

Os restantes elementos metálicos são pouco abundantes ou pouco disponíveis (por formarem sulfuretos muito pouco solúveis), e entre os elementos não metálicos o fosfato não sofreu alteração, bem como os halogéneos, presentes naturalmente como halogenetos no estado  $X^-$  (só mais tarde, por acção de peroxidases, puderam ser oxidados, por exemplo a hipoclorito,  $ClO^-$ , ou combinados covalentemente em moléculas orgânicas). Os sulfuretos e selenietos foram progressivamente oxidados a sulfatos e seleniatos, como já referido.

O silício forma um óxido insolúvel, a sílica,  $SiO_2$ , e uma grande variedade de silicatos, mas alguns destes são parcialmente solúveis em meio ácido, pelo que este elemento esteve sempre disponível como ácido silícico,  $Si(OH)_4$ .

(Este relato sucinto e simplificado põe em evidência as analogias que existem entre a evolução descrita e a chamada "marcha geral" de análise química de soluções, baseada principalmente no uso dos iões sulfureto, hidróxido e carbonato. Conforme se verá, as analogias são profundas também com a química e funções dos diferentes elementos em

sistemas biológicos, cuja compreensão exige os conhecimentos adquiridos nas disciplinas de química-analítica teórica. Não deixa de ser irónico verificar que estas disciplinas tendem a ter um tratamento de deslavor, ou mesmo a serem suprimidas dos cursos universitários de biologia, geologia e até de química ...).

A vida na Terra, qualquer que tenha sido a sua origem – tema de que não nos ocuparemos – terá de ter utilizado as "matérias-primas" disponíveis em cada época e optimizado o seu uso. Cada espécie de organismo, representada por um determinado código genético, é uma experiência bem sucedida de adequação ao ambiente, que é necessariamente posta em causa quando esse ambiente é alterado de forma não transitória ou quando o código genético sofre qualquer agressão que o modifica. Isto é, especiação biológica, código genético (ADN) e ambiente estão necessariamente ligados.

Assim teremos que ver em que medida as alterações ambientais descritas tiveram ou não repercussões concretas e directas na evolução das espécies. Isto é, teremos que responder a perguntas tais como: Qual a consequência da progressiva oxigenação do ambiente? Qual o efeito da oxidação do sulfureto? Qual o efeito da queda de disponibilidade do ferro? Qual o efeito do aumento de disponibilidade do zinco? Qual o efeito do aumento de disponibilidade do cobre? Qual o efeito do aumento de, por exemplo,  $Cd^{2+}$ , ou  $Pb^{2+}$ , ou  $Hg^{2+}$ , ou  $Al^{3+}$ , etc. Isto é, de elementos não utilizados habitualmente, ver Figura 1, no ambiente de uma espécie biológica determinada? E podemos, também, perguntar como é que os organismos vivos obtêm os elementos que necessitam nas quantidades adequadas, como eliminam os que lhes são prejudiciais, e que princípios presidem à coordenação dos diferentes papéis dos elementos utilizados e ao aumento de complexidade dos seres vivos ao longo dos bilhões de anos de evolução, das bactérias mais ancestrais até à espécie humana.



1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
(H)																	He
Li	Be											[B]	(C)	(N)	(O)	(F)	Ne
(Na)	(Mg)											Al	[Si]	(P)	(S)	(Cl)	Ar
(K)	(Ca)	Sc	Ti	[V]	[Cr]	(Mn)	[Fe]	[Co]	[Ni]	[Cu]	[Zn]	Ga	Ge	[As]	[Se]	[Br]	Kr
Rb	[Sr]	Y	Zr	Nb	[Mo]	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	[Cd]	In	[Sn]	Sb	Te	[I]	Xe
Cs	[Ba]	Ln	Hf	Ta	[W]	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	Ac	Th	Pa	U												




 Elementos biológicos principais (macro-elementos), essenciais para todos os organismos  
 Oligo-elementos essenciais para, pelo menos, algumas espécies de organismos  
 Oligo-elementos possivelmente essenciais para alguns organismos

Fig. 1 - Quadro periódico evidenciando os elementos requeridos por organismos.

As respostas a estas e outras perguntas são essenciais para a compreensão do fenómeno que chamamos *vida* e para a reconsideração de algumas verdades adquiridas que, em nosso entender, não estão a ser correctamente equacionadas, por exemplo a presumida indispensabilidade e supremacia do código genético, isto é, da molécula ADN, na existência e evolução das espécies biológicas.

Apresentar algumas respostas, apontar implicações e questionar teorias são os objectivos que nos propomos nesta conferência, necessariamente superficial e escassa em pormenores dada a extensão do tema.

## 2. O QUE PERMANECEU E O QUE MUDOU

A selecção e incorporação no citoplasma das células primitivas de um conjunto básico de elementos requeridos pelos organismos anaeróbicos manteve-se essencialmente inalterada em todos os subsequentes estádios de evolução, mesmo quando a disponibilidade de alguns desses elementos mudou dramaticamente. Na Tabela 1 apresentam-se diversos tipos de reacções que se mantiveram

Tabela 1

Processos e percursos metabólicos mantidos ao longo da evolução biológica

Processo ou percurso metabólico	Exemplo (elementos químicos envolvidos)
Síntese do DNA, RNA	Percurso dos ácidos nucleicos (Mg, Zn, Fe/S, Co [B12] ou Fe <sub>2</sub> O)
Ciclo das ácidos tricarboxílicos	Incorporação de CO <sub>2</sub> (posteriormente utilizada para o armazenamento da energia - ciclo de Krebs (Fe, Mg))
Síntese de amino-ácidos	Produtos de glicólise e do ciclo de Krebs +NH <sub>3</sub> (Fe)
Síntese de proteínas	Formação inicial (Fe) e iniciação da síntese pela metionina (Fe, Co)
Síntese e degradação de polissacáridos	Glicólise (Mg)
Síntese de ácidos gordos	Oxidação/redução de carbonos -β (ilavina, Fe)
Incorporação de azoto	Formação de NH <sub>3</sub> (Mg, Fe, V, Mo) em bactérias simbióticas
Reacções do hidrogénio	H <sub>2</sub> como redutor (Fe, Ni) em arqueobactérias (anaeróbicas)



# A EVOLUÇÃO DA VIDA DE ELEMENTOS QUÍMICOS POR SISTEMAS BIOLÓGICOS

ao longo de 3,8 bilhões de anos de evolução. É fácil compreender que assim teria de ser para assegurar uma série de polímeros essenciais – ácidos nucleicos (ADN, ARN), proteínas, lípidos, polissacáridos – que permanecem necessários nas formas de vida actuais. Como estas reacções ocorrem na ausência de oxigénio, o metabolismo intracelular manteve-se redutor até hoje e os requisitos de elementos em quantidades controladas permanecem idênticos. A consequência óbvia é que a evolução dependeu largamente de *adições*, usando as alterações ambientais, em vez de implicar substituições nos principais percursos metabólicos existentes no citoplasma celular dos organismos anaeróbicos, os quais são essencialmente conservados ainda que com algumas adaptações. A analogia aqui é com o desenvolvimento das cidades modernas, que se expandem adicionando novos bairros mas conservando o “centro” sem grandes alterações ...

Todavia, a progressiva disponibilidade de outros elementos antes não utilizados, como o cobre, ou pouco utilizados, como o zinco, não podia deixar de ter implicações, até porque estas espécies têm maior afinidade para os centros aos quais se ligam outros elementos já antes utilizados, por exemplo o ferro, (convém ter presente aqui a ordem de estabilidade termodinâmica de Irving-Williams para os complexos de iões bivalentes:  $Mn < Fe < Co < Ni < Cu > Zn$ ). Em resumo, tornou-se necessário proteger o citoplasma incorporando os novos elementos através de percursos cinéticos (em que o metal não se dissocia facilmente) e armazenando-os em organelas ou vesículas separadas daquele compartimento, nas quais as condições predominantes são diferentes e mais semelhantes ao ambiente extracelular. Assim, os novos percursos reaccionais (muito do metabolismo secundário) decorre fora do citoplasma. Quanto aos elementos que se tornaram escassos, como o ferro, e que continuaram a ser essenciais, houve naturalmente que

desenvolver esquemas de captura mais sofisticados, como por exemplo a síntese de sequestrantes potenciais a enviar ao exterior das células (sideróforos, no caso do ferro), bem como dispositivos de armazenamento (por exemplo a ferritina), e que desenvolver também métodos de reciclagem para poupar energia.

Logicamente, a célula é um todo, pelo que as organelas e vesículas têm de comunicar com o citoplasma, do qual estão separadas por membranas, de forma a terem uma acção concertada. O mesmo acontece com a célula como um todo em relação ao meio exterior. Essa comunicação exige, obviamente, novos mensageiros químicos, antes não necessários já que tudo se passava num único compartimento interno.

(Em à parte recordemos que, desde início, alguns iões, designadamente o  $Na^+$ , e o  $Cl^-$ , tiveram que ser expelidos (bombeados) para fora das células (o que exige energia...) de forma a evitar problemas de pressão osmótica dada a elevada concentração destes iões na água do mar, em que a vida se desenvolveu. Também o  $Ca^{2+}$  teve que ser bombeado para o exterior em larga medida pois internamente iria combinar-se e bloquear centros aniónicos, por exemplo carboxilatos, para os quais tem uma afinidade moderada.

Em contrapartida, para assegurar neutralidade interna (notar que os polímeros orgânicos em causa têm carga negativa),  $K^+$  e  $Mg^{2+}$  foram acumulados no interior das células. Formaram-se, assim, gradientes de concentração, com consequências importantes para a transmissão de mensagens e para a mineralização (e mais tarde para a produção de energia).

A questão principal que estas alterações suscitam é a da coexistência ao longo do processo evolutivo de um metabolismo primário conservado no citoplasma enquanto, simultaneamente, se desenvolveu uma química diferente nas organelas e vesículas, e posteriormente nos fluidos internos extra-celulares dos organismos mais desenvolvidos. Mas como

alteraram as células os seus requisitos para responder às alterações de disponibilidade de vários elementos?

Uma explicação possível é que as alterações ambientais induzem necessariamente tensões e eventualmente danos nas células dos organismos existentes, perfeitamente adaptados a outras condições, sobretudo em certas proteínas mais vulneráveis. A resposta do código genético será, naturalmente, substituir as proteínas afectadas, o que requer que o DNA intensifique a transcrição dos genes correspondentes, para o que passará mais vezes pela situação de hélice simples, situação essa por seu lado também mais vulnerável a ataques de agentes agressivos tais como  $O_2$ ,  $NO$ ,  $Zn^{2+}$  e  $Cu^{2+}$ , levando à ocorrência de eventuais mutações localizadas. O resultado será o desenvolvimento de novos genes e novas proteínas adaptadas às novas situações, pois se assim não suceder os organismos em causa deixam de ser viáveis e extinguem-se rapidamente com o decorrer do tempo. Deste modo o código genético aumentou e alterou-se, e os novos organismos tornaram-se mais complexos. Ainda que simplista, esta explicação é coerente com o que é observado. A teoria que a evolução se dá simplesmente através de mutações aleatórias até que o seu somatório leve, por acaso, a um organismo mais viável, suscita as maiores dúvidas pela sua flagrante improbabilidade.

### 3. AS RESPOSTAS DO CÓDIGO GENÉTICO

Convém fazer aqui uma breve digressão sobre o código genético e a forma como este responde às necessidades das células no que se refere à rejeição, captura, distribuição e controle dos diferentes elementos disponíveis no meio em que os organismos se encontram. É um tema muito pouco conhecido, mas que se torna indispensável abordar aqui, ainda que de forma muito superficial, pois é verdadeiramente fulcral para o entendimento da estreita ligação entre



a vida e o ambiente. Não entraremos em questões básicas já perfeitamente esclarecidas, como sejam a natureza do código (ADN) e a forma como ele se expressa (por cópia-transcrição e tradução ao nível dos ribossomas) levando à síntese de proteínas (e de alguns tipos de ARNs). Assim mesmo não deixaremos de salientar a imprecisão com que alguns destes factos passam para os manuais de ensino criando ideias falsas e obscurecendo a compreensão. Como primeiro exemplo a própria molécula do ADN que só por si nada faz – sem a complexa maquinaria celular é tão inerte como qualquer polímero vulgar. Por outro lado, só aparece na ultra-publicada forma de hélice dupla nas bactérias; nos restantes organismos com células nucleadas o ADN enrola-se em torno de um conjunto de proteínas, entre as quais as chamadas *histonas*, de forma a ficar confinado a um pequeno volume compatível com as dimensões do núcleo. Além disso não é lido de forma linear e contínua. Os genes (grupos de nucleótidos que especificam uma proteína ou um determinado ARN) têm, nas células nucleadas, espaços entre eles (introns) que não codificam nada e são eliminados quando se forma a molécula do ARN mensageiro a ser traduzido).

(A analogia aqui é com o teclado de um piano em que os genes são as teclas mas que necessitam de um pianista e uma pauta para originar uma determinada harmonia).

Em resumo, para encurtar uma longa história, a leitura do ADN requer uma instrução de comando dada por um ou mais “factores de transcrição” (proteínas que se ligam a uma determinada zona do ADN com uma sequência particular de nucleótidos – a chamada “TATA box” – à qual se liga também a máquina de leitura (a enzima ARN polimerase II)). É a chamada zona “promotora”. Pode também existir uma série de proteínas reguladoras (potenciadoras ou inibidoras) que se ligam também em diferentes partes do ADN, antes ou depois da zona promotora – ver Figura 2.

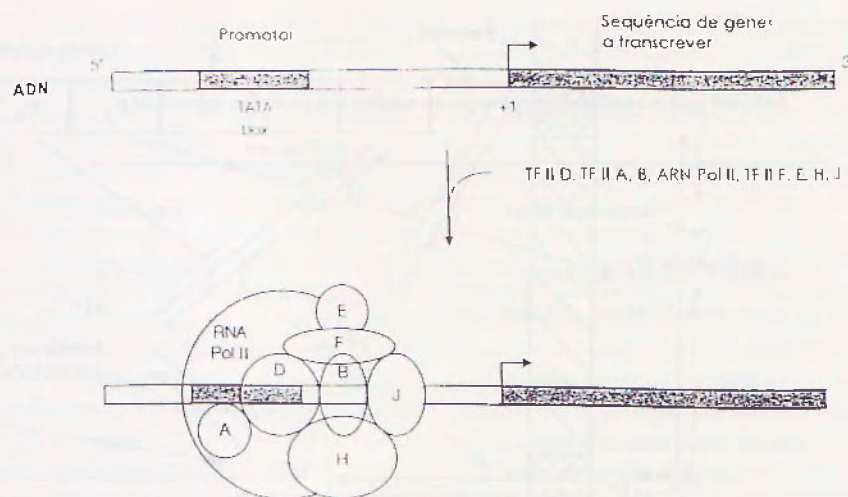


Fig. 2 - Ligação da ARN polimerase II e vários factores de transcrição a zonas promotoras de genes em eucariotas.

Um mecanismo desta natureza pode ser activado ou desactivado actuando sobre a ligação dos factores de transcrição, e aqui existem duas possibilidades: a leitura de genes que codificam a síntese de proteínas requeridas normalmente pelos organismos, ou de genes que codificam a síntese de proteínas só ocasionalmente requeridas (por exemplo na presença de uma substância estranha, a eliminar). No primeiro caso referimos os genes por “constitutivos” e no segundo por “induzidos”. Em qualquer dos casos, uma vez atingido o nível de concentração intra-celular desejado das proteínas em causa, os próprios produtos finais actuam sobre os factores de transcrição determinando a cessação da leitura e a interrupção da síntese. É o que se chama um processo de regulação por retroacção (feed-back negativo) ou repressão pelo produto final (ou por outro produto resultante de um passo mais avançado do metabolismo em que intervêm as próprias proteínas). Existe, porém, uma diferença: no caso das proteínas constitutivas a cessação requer ligações fracas aos factores de transcrição (constantes de associação baixas), pois as respostas devem ser graduais, mas tanto o estímulo para a síntese das proteínas induzidas como a sua repressão exigem ligações for-

tes (constantes de associações altas) para que as respostas sejam dadas logo que a causa (substância estranha) seja detectada ou tenha deixado de constituir problema. Tem-se, assim, no primeiro caso um controlo gradual amortecido e no segundo um controlo “tudo ou nada”.

Começa a tornar-se claro, porém, que quando um agente estranho se torna permanente e passa a ser utilizado pelos organismos os genes induzidos tornam-se constitutivos. As mudanças são consideráveis, representadas por um ADN diferente, o que corresponde a uma nova espécie biológica, adaptada às novas condições externas.

Tudo isto é conhecido em pormenor ao nível da bioquímica e da genética tradicionais, mas não existe ainda qualquer livro de texto que considere os elementos químicos, nas formas em que apresentam aos organismos, em termos semelhantes, para além de uma ou outra referência ocasional, de passagem, aos elementos tóxicos como o mercúrio ou o chumbo. A literatura sobre o assunto está dispersa nos artigos de investigação originais e os esforços de síntese são quase inexistentes, não obstante a óbvia importância do tema.

Aliás, nos textos de bioquímica tradicionais, o papel dos elementos químicos também é tratado superfi-



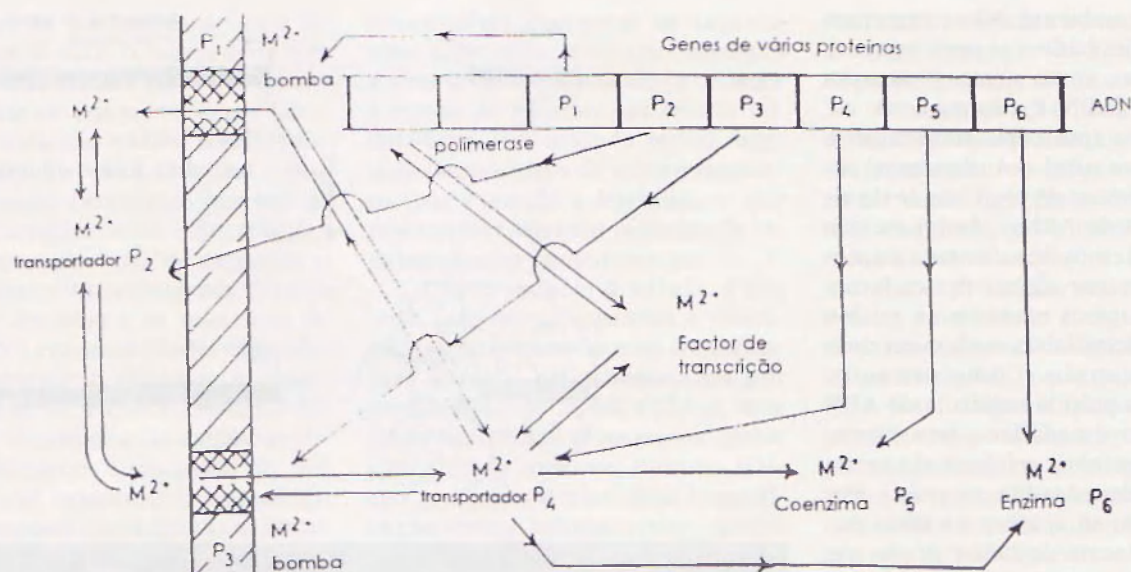


Fig. 3 - Diagrama esquemático da transcrição de genes e da produção (não representada), transporte e utilização de várias proteínas, P<sub>i</sub>, em diferentes funções (bombas, transportadores, factores de transcrição, coenzimas e enzimas).

cialmente e sem questionar a razão de ser das funções de cada um.

O aprofundamento da compreensão da regulação genética, através da qual as relações com o ambiente externo se tornam mais claras e racionalizáveis, ainda não se traduziu num tratamento integrado da captura e utilização de alguns elementos químicos e rejeição de outros. E, todavia, são as proteínas sintetizadas por instruções genéticas que intervm nesses diferentes aspectos. São elas que constituem as metaloproteínas e metaloenzimas, as bombas e canais através dos quais passam os elementos, os filamentos que localizam os compartimentos internos para onde alguns elementos se dirigem, etc. E são sintetizadas com esses fins específicos, ver Figura 3.

Como pode o tema ser tratado deixando de lado uma parte considerável de um todo que tem de funcionar de forma conjunta e integrada?

Acresce que, como já referimos e é intuitivamente óbvio, toda a complexa maquinaria de transcrição e depois de tradução ao nível dos ribossomas para obter proteínas não funciona de forma independente para cada elemento, isto é, não trata

primeiro do ferro, por exemplo, depois do potássio, depois do cálcio, etc.

Cada elemento é requerido em simultâneo com todos os outros e em quantidades bem determinadas. Os seus papéis cruzam-se permanentemente e tudo tem de ser regulado até ao mais ínfimo pormenor. E não só os elementos; também a energia a utilizar tem de ser captada ou produzida em consonância com os requisitos de uma rede metabólica complexa, para além da despendida na captação das matérias-primas.

Na verdade, é fácil compreender que para garantir uma actividade celular totalmente coordenada e interactiva, todas as velocidades reaccionais nos diferentes passos metabólicos têm de ser compatíveis entre si já que os produtos de umas reacções são matérias primas para outros. Síntese e degradação ou captura e rejeição não podem ser processos isolados e independentes. Não pode haver excessos nem acumulação de produtos, como não pode haver falta deles, pois imediatamente o mecanismo celular ficaria descontrolado e a célula deixaria de ser viável e morreria. Tudo isto é evidente, mas a

questão é como assegurar e gerir essa coordenação em termos físicos e químicos. Não basta ter uma molécula codificadora, um determinado ADN; ele apenas codifica a síntese de proteínas e dos ARNs necessários para o eleito. Na realidade o genoma *representa* o conjunto das proteínas de um organismo, a que podemos chamar o *proteoma*, mas por si só não confere vida. É a máquina que é necessária, bem como o respectivo combustível, e ainda os transportadores/distribuidores de matérias-primas e energia pelos diversos circuitos reaccionais que são comuns a vários deles. Um organismo vivo é um sistema dinâmico que flui permanentemente.

Por exemplo, são as chamadas coenzimas que distribuem H.C.N.O em substratos convencionais para os diferentes circuitos metabólicos, e a moeda quase universal da energia é a molécula ATP, comum à quase totalidade das reacções metabólicas e também a outros processos, por exemplo o funcionamento das bombas de sódio, cálcio e potássio (e que desde logo exige magnésio para poder funcionar). Note-se que neste breve apontamento surge imediata-



mente uma correlação entre diversos elementos: C,H,N,O (elementos orgânicos essenciais, a que se junta o enxofre), o fósforo (do ATP), o magnésio (necessário para que o ATP funcione), o sódio e o cálcio que o ATP expõe e o potássio que o ATP ajuda a capturar).

Naturalmente, porque o fosfato é um ácido fraco, a acidez celular fica também decidida e ligada aos restantes requisitos. Mas as correlações não ficam por aqui; pouco a pouco começam a definir-se os requisitos mínimos em elementos para um organismo funcionar e a compreender-se como eles estão necessariamente relacionados entre si, qualitativa e quantitativamente.

#### 4. OS ELEMENTOS ESSENCIAIS NOS ORGANISMOS MAIS PRIMITIVOS

Uma célula contém cerca de vinte elementos químicos diferentes, ver Tabela 2, e o seu funcionamento depende criticamente da forma como esses elementos estão nela distribuídos. A distribuição refere-se não só às espécies químicas e combinações dos elementos mas também ao posicionamento destes nas diferentes partes do espaço da célula e ao seu movimento. Uma vez que estas distribuições são características dos organismos o mecanismo de distribuição terá de ser altamente organizado.

Como vimos antes, a organização é gerida centralmente (regulada) pelo genoma, que está em contacto directo ou indirecto com os diferentes produtos e matérias primas e com as suas distribuições. Adicionalmente, a organização é controlada através das interacções das concentrações dos elementos com as bombas, canais, transportadores, permutadores e enzimas que movem esses elementos nas células e através das membranas celulares. Todos os vinte elementos são geridos individualmente de forma específica e a sua localização física e comportamento químico não sofrem contaminação nem a

Tabela 2

Elementos químicos em células de organismos primitivos e suas funções

Elementos	Funções principais
H, C, N, O, P, S	Formação de polímeros a partir de $H_2O$ , $CO_2$ , $NH_3$ , $HPO_4^{2-}$ e $HS^-$
$Na^+$ , $K^+$ , $Cl^-$	Equilíbrio osmótico e electrolítico
$Mg^{2+}$	Catálise ácido-base suave. Funções estruturais no DNA, RNA, etc.
$Mn^{2+}$ ( $Zn^{2+}$ )	Catálise ácido-base mais forte. Funções estruturais no DNA, RNA
V, $Fe^{2+}$ , $Co^{2+}$ , $Ni^{2+}$ , Se, Mo, (W)	Catálise redox (normalmente redução)
$Ca^{2+}$ , Si	Reforço de estruturas externas

competição de outros elementos. O resultado final é um sistema estacionário, homeostático, que corresponde a um dado ADN, a uma dada maquinaria, a uma dada quantidade de energia e a uma dada composição de matérias primas, que está relacionada com a disponibilidade dos elementos no ambiente em que a célula (ou o organismo) se encontram.

Se for possível compreender a forma como os elementos químicos ou as suas combinações naturais simples se distribuem nas células em condições ambientais distintas poderemos racionalizar a forma como essa distribuição variou ao longo de 4 biliões de anos de evolução e de que forma está relacionada com as diferentes espécies biológicas que se originaram ao longo desse tempo. Para esse objectivo teremos também que conhecer as variações da especiação dos elementos químicos ao longo do tempo pois esse é um factor crítico para possibilitar o seu acesso e captura pelos organismos.

Há aqui, como vimos, duas questões a considerar: (a) a captura e

incorporação dos elementos, disponíveis em diferentes formas; (b) a disposição destas formas em diferentes partes ou compartimentos das células e dos organismos.

Vejamos a primeira questão.

Os elementos principais – C,H,O e N – constituem todas as estruturas celulares e incluem polímeros como as proteínas, lípidos, polinucleótidos e polissacáridos. São moléculas termodinamicamente instáveis mas cineticamente estáveis, requeridas em quantidades determinadas e obviamente relacionadas entre si, para não haver excessos ou faltas, devendo também existir uma forma de as distribuir adequadamente onde são necessárias (em termos funcionais). Como a composição de cada uma em termos dos elementos C,H,O,N é diferente também as formas como estes elementos são utilizados têm de ser adequadamente distribuídas nos diferentes percursos metabólicos.

A distribuição faz-se inicialmente através de percursos metabólicos catalisados e devidamente controlados, por exemplo na glucogénese e



na síntese de amino ácidos ou de nucleótidos, sendo os elementos transportados por coenzimas móveis na forma de unidades transferíveis, por exemplo  $H^-$ ,  $-CH_3CO$ ,  $-CH_3$ , etc.

Assim, nos organismos unicelulares primitivos os elementos incorporados na forma de moléculas simples como  $H_2O$ ,  $CO_2$  e  $N_2$ , que passam facilmente através das membranas biológicas, terão de ser convertidos nessas unidades transferíveis e ligadas às coenzimas respectivas. (Em organismos superiores, a incorporação de elementos dá-se através de moléculas maiores, por exemplo glucose). A subsequente construção de moléculas cada vez maiores é também controlada em percursos metabólicos com catalisadores (enzimas) que reconhecem as moléculas pequenas e os fragmentos intermediários. A produção destas enzimas é, obviamente, *constitutiva* (e pode ser ampliada), donde terá de haver regulação ao nível do ADN. É também evidente que as enzimas só operam se houver um fornecimento adequado das moléculas pequenas iniciais e que todo este processo requer energia. Deste modo a distribuição dos elementos não é feita em condições de equilíbrio termodinâmico e o processo é completamente irreversível. A energia é assim um requisito essencial e é distribuída na forma de NTPs, nucleótido-trifosfatos, em especial o ATP; logicamente terá também de estar sob controle (por retroacção para não haver desperdícios). Por estas razões não se poderá concluir que existe uma relação directa e proporcional entre as disponibilidades externas dos elementos e a forma (e localização) em que estes se encontram nas células. Aliás, as condições variam de organismo para organismo e de célula para célula; os requisitos funcionais variam em cada caso e estes são naturalmente determinantes;

Para além dos elementos C,H,N,O outros elementos são também utilizados nos compostos "orgânicos" principais, designadamente o enxofre e o fósforo, tão essenciais como os primeiros.

Examinemos primeiro estes dois casos e depois os elementos de transição requeridos pelos organismos primitivos.

#### 4.1 Enxofre

O enxofre faz parte dos processos metabólicos de todos os organismos; recordemos que a atmosfera primitiva tinha um teor elevado de  $H_2S$  e a Terra uma presença assinalável de sulfuretos. O teor do sulfureto no mar era também apreciável. Assim não surpreendem as seguintes observações:

a) As sínteses de proteínas são na sua maioria iniciadas por um aminoácido tioéter – a metionina (em eucariotas, ou formil metionina em procariotas) – que depois é frequentemente removida;

b) A transferência de grupos acilo e metilo é baseada em tiois (cisteína) ou tio-éteres (metionina);

c) O controle do balanço entre material orgânico oxidado e reduzido é assegurado através da cisteína ou da glutatona;

d) Grupos tiolato,  $-S^-$ , estão presentes no centro activo de muitas enzimas;

e) Muito do "cross-linking" de proteínas é assegurado por pontes dissulfureto  $-S-S-$ ;

f) Muitos percursos de transporte electrónico possuem centros Fe/S;

g) A captura de  $H_2$  é baseada em agregados Ni/Fe/S ou Fe/S e a captura de  $N_2$  é baseada em agregados Mo/Fe/S, V/Fe/S ou Fe/Fe/S;

h) Actualmente o enxofre é capturado via sulfato e incorporado como tal em polissacáridos e proteínas, mas a redução de sulfato a sulfureto é também corrente, tem lugar no espaço periplasmático e utiliza enzimas de Fe e Mo que incluem enxofre. A figura 4 mostra os metais envolvidos na captura do sulfato (Mo,Fe,Co), desde logo pondo em evidência a essencialidade destes metais e a sua correlação.

A regulação do enxofre é feita ao nível dos genes por retroacção baseada em factores de transcrição contendo este elemento, como a metio-

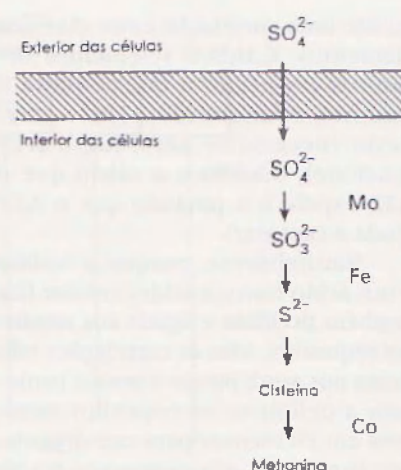


Fig. 4 – Elementos químicos envolvidos na captura de sulfato por células.

nina, a cisteína ou a S-adenilmetionina. O processo é complexo e tem algumas semelhanças com o processo de fixação do azoto por acção da nitrogenase.

É todavia curioso notar que enquanto a incorporação dos elementos C,H,N,O a partir das pequenas moléculas simples após difusão através das membranas é inteiramente baseada na ligação covalente de fragmentos transportados por coenzimas, a incorporação de sulfato – na forma de ião  $SO_4^{2-}$  – necessita transportadores deste ião nos fluidos extracelulares (nos organismos superiores), que possam passá-lo através das membranas utilizando bombas. Ora o teor de sulfato disponível não é tão garantido como o de  $H_2O$ ,  $CO_2$  e  $N_2$  na água e na atmosfera, pelo que há que assegurá-lo, mas o processo não pode envolver ligações covalentes fora das células uma vez que o ião terá de ser facilmente libertado à entrada da célula e transportado como tal para o seu interior. Neste caso, como no da maioria dos restantes elementos, o processo tem de envolver ligações iónicas com proteínas num equilíbrio termodinâmico *que não pode ser controlado*. Assim, são as próprias proteínas das bombas que estão sob controle, relacionado com a concentração interna de sulfato, antes de qualquer trans-



formação e inserção posterior em moléculas covalentes. Obviamente, todos os processos – captura, transporte, transformação e incorporação em moléculas covalentes – têm de estar em total harmonia e são regulados ao nível dos genes, tal como antes foi referido. Uma vez mais é necessário despendar energia, e como é evidente todos estes processos estão relacionados com a incorporação de H, C, N, O e, como se verá adiante, com a incorporação de uma série de elementos “inorgânicos”, desde logo os utilizados nas bombas e na redução do sulfato.

#### 4.2 Fósforo (fosfato)

O fósforo é, curiosamente, um elemento central nos organismos vivos. Para confirmar esta ideia basta notar que está presente (como fosfato) nos ácidos nucleicos, ADN e ARNs, nos transportadores de energia, NTPs e especialmente o ATP, em várias coenzimas, NAD, FAD, FMN, em lípidos de membranas, em moléculas sinalizadoras como o AMP cíclico e o  $IP_3$ , sendo ainda utilizado em processos de fosforilação (catalisada por quinases) e desfosforilação (catalisada por fosfatases), essenciais em regulação. A análise das razões da selecção do grupo fosfato para todas estas funções justificaria por si só uma outra conferência e não pode ser feita aqui. Note-se, porém, que este grupo está presente já nos organismos mais primitivos e o conjunto de funções que desempenha não poderia ser atribuído a mais nenhum outro elemento por razões essencialmente químicas.

O fosfato é processado de forma muito semelhante ao sulfato (e ao molibdato) no que se refere à sua entrada nas células, mas já antes do advento do oxigénio. A entrada dá-se passivamente através de canais de fosfato, mas imediatamente após a entrada é incorporado covalentemente numa grande variedade de ésteres e anidridos orgânicos sem alterar o estado da oxidação do fósforo. A distribuição do fosfato é largamente feita em compostos covalentes, que funcionam como ou comunicam

com factores de transcrição e com o transporte através das membranas (via ATP, energia). Só os passos iniciais de captura e transporte envolvem ligações iónicas em equilíbrio termodinâmico. Bastaria notar a presença de fosfato no ATP (e nos NTPs em geral) para concluir que o fósforo está ligado ao metabolismo de todos os elementos biológicos, em especial àqueles que exigem energia para o respectivo transporte através das membranas biológicas ou estão associados ao funcionamento do próprio ATP, como é o caso do  $Mg^{2+}$  e, indirectamente, do  $H^+$ , que condiciona a ligação  $Mg^{2+}.ATP^{4-}$ . Não surpreende, assim, que os teores de ATP e fosfato sejam fixos para cada estado metabólico e cada tipo de célula, pois só assim se assegura a coordenação de todo o metabolismo. É o que designamos por homeostase dinâmica.

Naturalmente, também o  $Ca^{2+}$ , o  $Na^+$  e o  $Cl^-$  que são bombeados para o exterior das células estão directamente relacionados com o teor de ATP e, indirectamente, o mesmo acontece ao  $K^+$ , estreitamente ligado ao  $Na^+$  e à manutenção de neutralidade celular.

Incluindo os elementos constitutivos já referidos – C, H, N, O, S – e adicionando P,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ , temos já um conjunto de 11 elementos essenciais à vida e todos correlacionados entre si.

#### 4.3 Elementos de transição

Sabemos, por análise, que os organismos primitivos possuem, além destes, alguns elementos de transição, designadamente Mn, Fe, Co, Ni, Mo, W (Zn), e Se. À medida que o ambiente se tornou progressivamente mais oxidado, o que requer uma enzima com Mn para a produção de oxigénio,  $O_2$ , vieram adicionar-se a estes outros elementos que os organismos se viram forçados a utilizar, em especial o Zn (mais disponível) e o Cu.

Deixando de lado, por enquanto, os elementos que se tornaram disponíveis devido à progressiva oxigenação da atmosfera e consequente oxidação dos sulfuretos, caberá per-

guntar porque razão os outros elementos de transição acima referidos são necessários à vida.

Desde logo deverá notar-se que o ATP (ou outros nucleótido-trifosfatos) são transportadores de energia na forma de ligações instáveis, mas não são a fonte de energia. Esta terá de vir ou da radiação solar ou de outros compostos químicos, eventualmente resultando na formação de gradientes de pH que originam posteriormente o ATP (ou outros compostos transportadores de energia como os tioésteres).

Ora estes processos geradores de energia envolvem, em algumas fases, reacções de redução (por exemplo do  $CO_2$ ) e transporte de electrões, o que requer catalizadores adequados.

Deverá também existir uma ligação às reacções de redução que ocorrem no citoplasma, dominadas por compostos sulfurados, por exemplo glutatona e tioredoxina. Também a captura de  $N_2$  exige a sua posterior redução a compostos aminados, o que faz intervir dois dos elementos referidos, o molibdénio (ou o vanádio e o ferro) e indirectamente o selénio (a tioredoxina reductase, necessária para reduzir ribose a deoxiribose na síntese do ADN, é uma enzima de selénio).

Resta-nos justificar a presença nos organismos mais primitivos de  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  e  $Ni^{2+}$ , bem como de W em algumas arqueobactérias.

O  $Ni^{2+}$  e o  $Co^{2+}$  são, de facto, elementos “primitivos” que tendem a desaparecer dos seres vivos mais evoluídos. O  $Ni^{2+}$  é essencial nas hidrogenases, enzimas que catalisam a redução de  $H_2$ ; nos organismos aeróbicos está restrito a uma enzima – a urease – que os animais superiores não possuem.

Quanto ao  $Co^{2+}$ , transportador de grupos  $CH_3$  quando incorporado num anel fechado, a corrina, como na vitamina B12, está directamente envolvido na remoção do primeiro aminoácido das proteínas – a metionina – conforme antes referido. (A remoção do grupo formil nos procarriotas exige uma enzima de ferro). Finalmente o  $Zn^{2+}$  é um excelente



catalizador de reacções ácido-base (notar que o  $H^+$  está presente em concentração muito baixa,  $10^{-7}M$ ) e embora pouco abundante inicialmente deve ter sido mais tarde capturado para esse efeito, em alternativa mais eficaz ao  $Mg^{2+}$ , presente em concentrações da ordem dos  $10^{-3}M$ , e utilizado sobretudo fora do citoplasma.

Sem avançar mais nesta enumeração de necessidades e funções desempenhadas, o que requeria demasiado tempo, desde já é possível ver as interrelações de todos os elementos referidos, que levam a uma homeostase (dinâmica) das suas concentrações – Tabela 3.

### 5. DESENVOLVIMENTOS NA UTILIZAÇÃO DE ALGUNS ELEMENTOS: CÁLCIO, MANGANÊS, ZINCO E COBRE

Um primeiro desenvolvimento, provavelmente anterior à evolução do oxigénio ou acompanhando os seus primeiros estádios, terá sido a mudança no papel do ião  $Ca^{2+}$ . Como dissemos antes, este ião é rejeitado do interior das células por se poder combinar facilmente com centros de carga negativa bloqueando a sua acção. Entre esses centros estão,

designadamente, os ácidos nucleicos – ADN e ARN – e as proteínas. No exterior, os iões  $Ca^{2+}$  reforçaram as membranas, uma vez mais por combinações com grupos carregados, ou formaram precipitados com o ião carbonato, como se pode ver ainda nos rochedos de coral e nos estromatolitos. O desenvolvimento seguinte, já com eucariotas unicelulares, foi a formação de conchas e outras estruturas cristalinas como nos foraminíferos (precipitação de  $CaCO_3$  directamente da água do mar) e nos cocolitos, em que as correspondentes unidades se formam já em vesículas internas posteriormente enviadas (por exocitose) para o exterior.

Nos protozoários unicelulares surgiram também outras funções associadas ao cálcio, por exemplo o movimento dos cílios das paramécias e a contracção das vorticelas (que não pode deixar de recordar a contracção muscular nos animais superiores). Os fermentos, que são fungos, mostram já sistemas de controlo de cálcio bastante desenvolvidos, designadamente utilizando gradientes de concentração para diversas funções. O mesmo acontece nas plantas, que surgem entre os primeiros organismos pluricelulares.

Neste caso os gradientes de concentração envolvem o citoplasma e o

meio exterior (necessariamente controlado) mas também vesículas internas – o retículo endoplasmático e os vacuolos, que têm teores de cálcio elevados em contraste com o citoplasma.

Surgem assim novas funções para o  $Ca^{2+}$ , ligadas às concentrações deste ião – sinalização e desencadeamento rápido (“triggering”) de certas reacções, ver Figura 5.

Outro elemento que, ao tornar-se mais disponível, adquiriu novas funções foi o zinco – não só no centro activo de centenas de enzimas responsáveis por catálise ácido-base (processos digestivos) mas também, mais tarde, como sinalizador, por exemplo em factores de transcrição.

A apropriação de nutrientes por muitos organismos primitivos poderia ser facilitada recorrendo, tal como hoje, a restos orgânicos de outros organismos – proteínas, polissacáridos, polinucleótidos, etc. – mas com os problemas de digestão, isto é, de redução a fragmentos pequenos, que a utilização desses resíduos acarreta.

Nessas circunstâncias, o recurso a hidrólise ácido-base catalisada por  $Mg^{2+}$  e, melhor, por  $Zn^{2+}$ , ainda que pouco disponível, seria um factor de sobrevivência acrescida. A utilidade funcional deste metal ficaria assim relacionada com o metabolismo interno e com a disponibilidade externa de alimentos. O zinco controlaria, deste modo, reacções ácido-base e o ferro teria a seu cargo as reacções de oxidação-redução. Muitas destas reacções, de ambos os tipos, poderão ter tido lugar fora do citoplasma, requerendo a “exportação” das enzimas apropriadas dos dois metais.

Note-se que, com a emergência do dioxigénio que, como dissemos, requer uma enzima com manganês que faz parte do fotossistema II e se mantém única nesta função até hoje (em plantas), as fontes primárias de elementos,  $HCN$ ,  $NH_3$ ,  $H_2S$ , etc., foram convertidas em formas menos reactivas, como  $N_2$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$  e  $H_2O$  e, ao mesmo tempo, a disponibilida-

Tabela 3

Elementos químicos envolvidos em diversos processos metabólicos

Controle osmótico e de carga	$Na^+$ , $K^+$ , $Cl^-$ , $Ca^{2+}$
Catálise ácido-base	$Mg^{2+}$ ( $Zn^{2+}$ )
Balanço ácido-base	$H^+$ , $HPO_4^{2-}$ (ATP)
Balanço redox	H, Fe, S, Se, (W)
Síntese de proteínas	C, H, N, O, Fe, Co
Fixação de azoto	Mo, Fe, S
Movimentos de cílios e contracções, etc.	$Ca^{2+}$ , ATP, $Mg^{2+}$



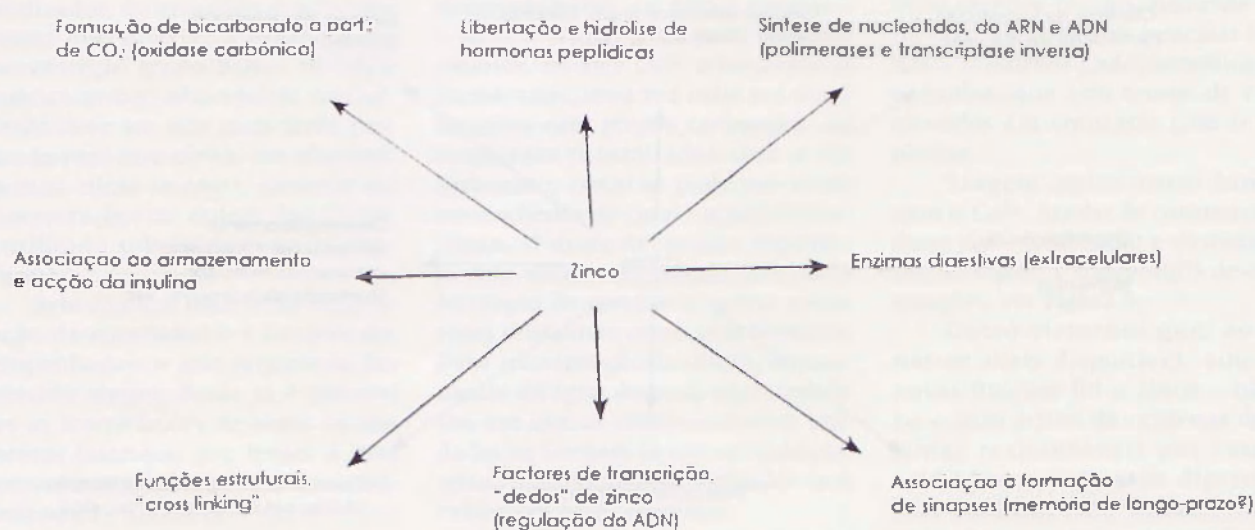


Fig. 7 - Exemplos de funções biológicas do zinco.

duzidas por oxidação catalisada por enzimas de ferro ou cobre, demonstrando uma vez mais a inter-relação das funções dos elementos químicos.

Para além destas funções, o zinco desempenha algumas outras de importância e número crescentes, ver Figura 7, sendo hoje considerado uma espécie de hormona inorgânica. Na base da sua utilização estão o facto do metal não sofrer oxidação ou redução e o de se ligar fortemente a centros de proteínas das quais não permuta facilmente, sobretudo se forem rígidas (o que não acontece com os dedos de zinco). Em alguns casos o zinco forma apenas ligações fracas em vesículas, por exemplo associando-se a moléculas como a insulina, mantendo-se disponível para funcionar como ião  $\text{Zn}^{2+}$ . No citoplasma celular, como se disse, é de assinalar a relação com a síntese e degradação do ADN/ARN usando enzimas (nucleases) em que o metal se liga fortemente a centros coordenantes N/S. Outras enzimas relevantes no citoplasma são a superóxido-dismutase de cobre e zinco (que substituiu as superóxido-dismutases de ferro e manganês dos procariotas) com 4 doadores azotados, e a anidrase carbónica, com 3 doadores azotados e um de oxigénio. Qualquer delas não permuta o zinco facilmente, o que obvia aos

riscos de competição deste metal com outros e a actividade degradativa naquele compartimento.

Outro elemento que se tornou disponível após a emergência do dióxigénio foi, como já referimos, o cobre.

A importância funcional do cobre deriva de duas particularidades deste elemento.

Por um lado, embora o ferro tenha conhecido uma importância acrescida na química a potencial redox elevado de moléculas como  $\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , NO, etc., fora da célula, o  $\text{O}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$  são mais facilmente manuseados com cupro-enzimas pois o ferro (mesmo hémico) é susceptível de ser oxidado. Por outro lado, o  $\text{Cu}^{2+}$  e especialmente o  $\text{Cu}^+$  formam ligações fortes com ligandos contendo doadores N e S, o que permite a exportação das enzimas em sistemas com potenciais redox mais próximos do sistema  $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ . Em particular, entre outras funções, ver Figura 8, as enzimas de cobre passaram a ser utilizadas fora das células para catalizar a oxidação de grupos tiólicos formando dissulfuretos e provocando o "cross-linking" de proteínas, estabilizando assim o tecido conjuntivo. Deste modo, células e órgãos puderam organizar-se em estruturas multicelulares.

Como os requisitos de crescimento exigem que as fibras do tecido conjuntivo tenham de ser quebradas antes de voltar a ser refeitas, o zinco em enzimas extracelulares encarrega-se da primeira tarefa. A vida multicelular exige assim a cooperação destes dois metais, Cu e Zn, a que se vem juntar o Ca, estabilizador das estruturas formadas, ver Figura 9.

## 6. EVOLUÇÃO DAS FUNÇÕES DO VANÁDIO, MOLIBDÊNIO, SELÊNIO E TUNGSTÊNIO

A ocorrência de vanádio com estados de oxidação crescente em apenas algumas espécies particulares de organismos de origem cada vez menos ancestral na escada evolutiva - + 2 numa nitrogenase alternativa de bactérias, + 3 em certos tunicados (protocordados) como a *Ciona intestinalis*, + 4 em certos fungos como a *Amanita muscaria* e + 5 em haloperoxidases de algas vermelhas e castanhas, sugere que se trata de um elemento cuja utilização dependeu apenas de características ambientais locais, não parecendo ser verdadeiramente essencial. Em organismos superiores (como os seres humanos) há alguns registos de deficiências associadas à sua carência em dietas es-



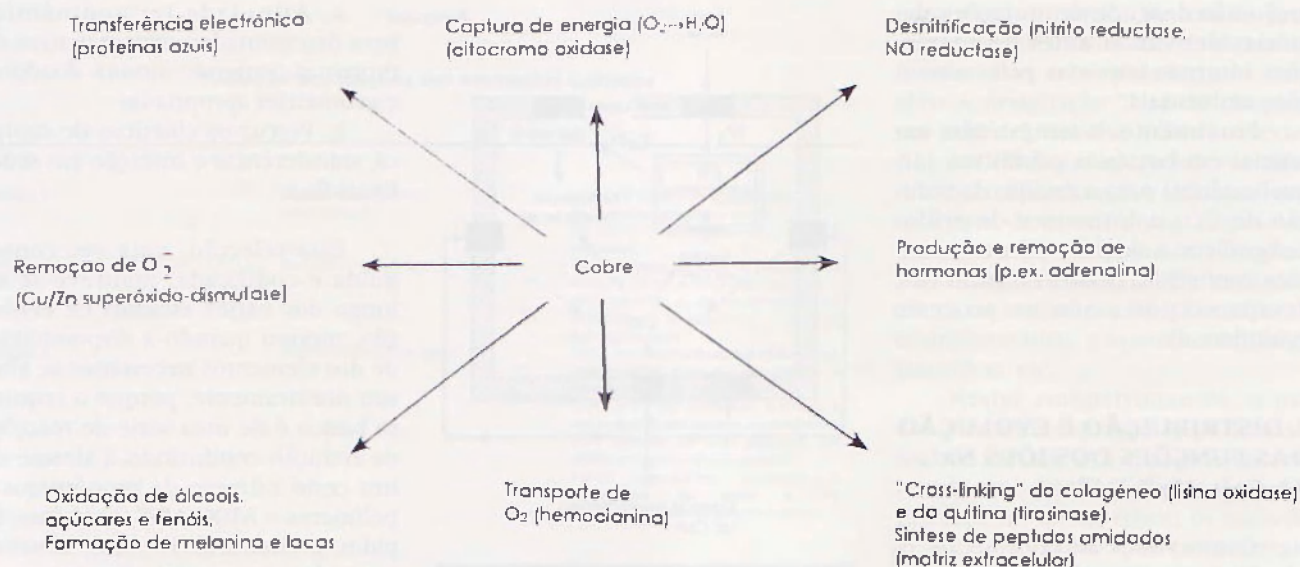


Fig. 8 - Exemplos de funções biológicas do cobre.

pecificamente preparadas e de efeitos metabólicos resultantes da sua administração terapêutica (por exemplo um efeito mimético da insulina), mas as razões da sua essencialidade não estão ainda perfeitamente esclarecidas.

Quanto ao molibdénio, antes utilizado essencialmente na nitrogenase para fixação do azoto (função que se mantém), passou também a ter um papel fundamental em reacções de oxidação-redução envolvendo dois electrões, por exemplo a redução de sulfato a sulfito ou a redução de nitrato a nitrito no espaço periplasmático, ou outras requerendo também a transferência de átomos de oxigénio de grupos MoO ligados a dois tiolatos no centro activo das molibdeno-enzimas.

No caso do selénio verificou-se uma evolução paralela à do molibdénio. Inicialmente este não-metal foi utilizado em reacções de transferência de hidreto, sendo mais eficaz para este fim que o enxofre. Com o advento do oxigénio ( $O_2$ ), o papel do selénio passou a ser o de catalizador para a remoção de peróxido e de iodo ligado (covalente) na hormona da tiróide, a tiroxina. Uma vez mais se verifica aqui que a evo-

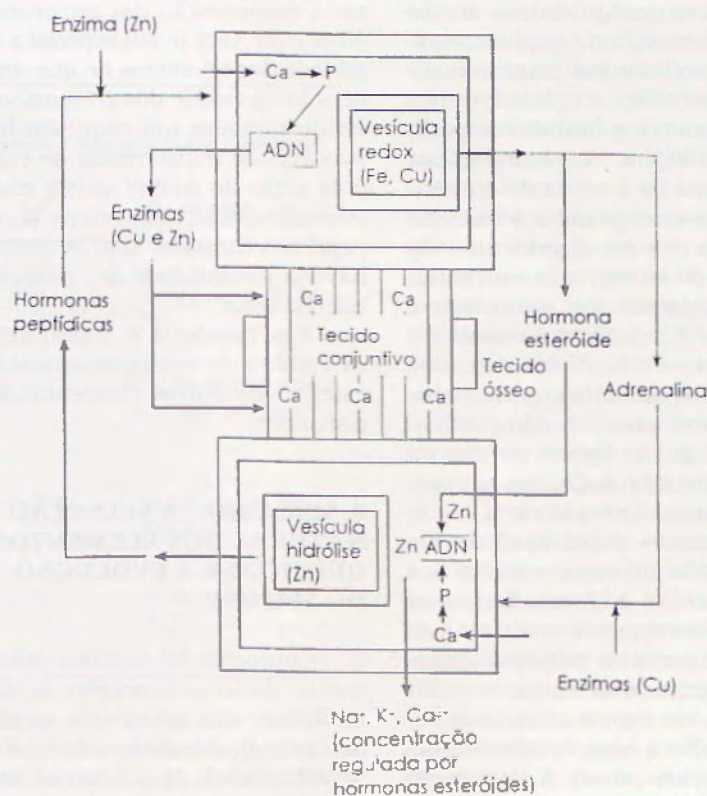


Fig. 9 - Esquema das conexões entre as células de organismos multicelulares ilustrando a cooperação de vários íons inorgânicos-Ca, Fe, Zn, Cu (e fósforo) - e o papel destes na síntese/degradação de filamentos (tecido conjuntivo) e hormonas.



lução não depende de mutações aleatórias derivando antes de adaptações internas impostas pelas alterações ambientais.

Finalmente, o tungsténio, essencial em bactérias primitivas (arqueobactérias) para a catálise da redução de  $\text{CO}_2$  a formato e de ácidos carboxílicos a aldeídos, não tem funções conhecidas noutros organismos, desaparecendo assim no processo evolutivo.

## 7. DISTRIBUIÇÃO E EVOLUÇÃO DAS FUNÇÕES DOS IÕES $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ , $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$ E $\text{Cl}^-$

Como vimos anteriormente, os organismos primitivos rejeitaram necessariamente os iões  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Cl}^-$ , enquanto que o  $\text{K}^+$  e o  $\text{Mg}^{2+}$  eram concentrados internamente. Este facto levou ao reforço das membranas celulares externas por ligação dos seus centros aniónicos ao ião  $\text{Ca}^{2+}$ , e à formação de esqueletos externos. As células puderam aumentar de dimensões, englobar outras células menores e formar compartimentos múltiplos. A nosso ver este processo está na base do desenvolvimento dos eucariotas a partir dos procariotas e, como é evidente, não dependeu do aumento da concentração de dioxigénio. Por outro lado, a rejeição de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  e a concentração interna de  $\text{K}^+$  fornecem uma fonte de energia, uma espécie de bateria electrolítica utilizando gradientes  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  que se tornou um dos requisitos para a evolução dos animais. O uso deste gradiente obrigou ao desenvolvimento simultâneo de um sistema de bombagem especial – a enzima  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATP-ase. Toda esta evolução foi cooperativa: o  $\text{Ca}^{2+}$  acabou por se tornar o principal segundo mensageiro intracelular, a seguir ao fosfato, ver Figura 10, e os gradientes  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  a base de transmissão dos impulsos nervosos. A conjugação dos dois efeitos permitiu a evolução do sistema nervoso dos animais e, subsequentemente, do cérebro. Por seu lado, o  $\text{Mg}^{2+}$  passou a activar internamente várias enzimas, a assegu-

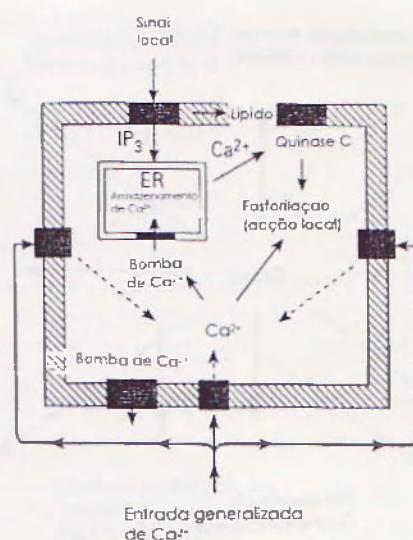


Fig. 10 – A entrada, armazenamento, libertação (por acção de mensageiros  $\text{IP}_3$ ) e algumas funções do cálcio nas células vivas.  $\text{IP}_3$  – fosfato de inositol; ER – retículo endoplasmático.

rar a manutenção das estruturas do ADN e do ARN (e em especial a integridade dos telómeros de que depende a longevidade dos cromossomas), sendo também um requisito indispensável da transferência de energia e da acção do ATP (e outros nucleótido-trifosfatos), sem referir já o seu papel nas clorofilas, sem as quais não haveria possibilidade de utilização da energia solar.

Nas Tabelas 4 e 5 resumem-se os estádios de evolução associados a estes e aos outros elementos antes discutidos.

## 8. SUMÁRIO – A SELECÇÃO NATURAL DOS ELEMENTOS QUÍMICOS E A EVOLUÇÃO DO SEU USO

Conforme foi descrito sumariamente, dadas as condições de disponibilidade dos elementos químicos nos primeiros estádios de evolução da vida (Tabela 2), a selecção, captura e incorporação dos elementos requeridos no citoplasma dos organismos vivos (procariotas unicelulares) foi conseguida através de dois processos:

a. Afinidade termodinâmica para determinados centros activos de proteínas contendo átomos doadores e geometrias apropriadas

b. Percursos cinéticos de captura, transferência e inserção em sedes finais fixas

Esta selecção, uma vez conseguida e codificada, manteve-se ao longo dos vários estádios de evolução, mesmo quando a disponibilidade dos elementos necessários se alterou drasticamente, porque o requisito básico é de uma série de reacções de redução conduzindo à síntese de um certo número de monómeros e polímeros – ADN, ARN, proteínas, lípidos, polissacáridos – que constituem as bases essenciais das estruturas e metabolismo dos seres vivos. Como referimos antes, a conclusão a extrair é que a evolução dependeu largamente de adições (derivadas das alterações ambientais) e não de substituições nos percursos metabólicos do citoplasma, o que se assemelha a uma espécie de re-engenharia organizacional. Naturalmente existem excepções, mas é evidente que os principais processos metabólicos se mantiveram – ver Tabela 1. Isto significa que existe a necessidade de assegurar que o citoplasma de todas as células tenha aproximadamente a mesma concentração de iões metálicos, não obstante as variações ambientais externas.

Deste modo, os novos processos de incorporação desses elementos ou de novos elementos não podem interterir com os existentes, pelo que deverão ser, essencialmente, processos cinéticos em que os elementos não permutam (b, acima). Se assim não for, e se se mantiverem processos baseados em afinidade termodinâmica (a, acima), então não poderão ser introduzidos novos centros com afinidades por elementos metálicos muito diferentes, o que alteraria (por competição) todos os processos anteriores. Este é o princípio essencial da homeostase celular: manutenção da concentração dos diferentes elementos dentro de certos limites mesmo num sistema aberto e sujeito



Tabela 4

## Evolução das funções dos elementos químicos

Estádio 1	Organismos primitivos (procariontes)	Mg <sup>2+</sup> /ATP controlam fosforilações Fe <sup>2+</sup> controla equilíbrios redox Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> /Cl <sup>-</sup> controlam a pressão osmótica
Estádio 2	Eucariotas unicelulares	Ca <sup>2+</sup> controla estados activados e a relação com o exterior das células Mn <sup>2+</sup> controla o desenvolvimento de organismos relacionados com as (futuras) plantas
Estádio 3	Organismos multicelulares	Zn <sup>2+</sup> controla respostas hormonais relacionadas com o crescimento e desenvolvimento dos organismos Cu <sup>+</sup> (Cu <sup>2+</sup> ) e Zn <sup>2+</sup> controlam a síntese e degradação dos tecidos conjuntivos Ca <sup>2+</sup> adquire um papel alargado em sinalização como 2 <sup>a</sup> mensageiro Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> (gradientes) presidem à transmissão de sinais e ao desenvolvimento do sistema nervoso

Tabela 5

## Principais alterações nos iões metálicos e moléculas pequenas ao longo da evolução biológica

Tempo x 10 <sup>9</sup> anos	Principais moléculas pequenas e elementos químicos utilizados no metabolismo	
	Moléculas pequenas	Iões metálicos
4,0 – 3,0	CO <sub>2</sub> , NH <sub>3</sub> , CH <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> S, N <sub>2</sub> (?), HCN, H <sub>2</sub> O, NO(?)	Fe, Mg, Mn, Ni, Co, W, Mo
3,0 – 2,5	CO <sub>2</sub> , N <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> S/SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , NO(?), H <sub>2</sub> O	Fe, Mg, Mn, (Ni), (Co), Ca, (Mo), (W), (Zn)
2,5 – 2,0	CO <sub>2</sub> , N <sub>2</sub> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ), H <sub>2</sub> O, (O <sub>2</sub> )	Fe, Mg, Mn, Ca, (Mo), (Zn), (Cu)
2,0 – actualidade	CO <sub>2</sub> , N <sub>2</sub> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , H <sub>2</sub> O, O <sub>2</sub>	Fe, Mg, Mn, Ca, Mo, Zn, Cu

a alterações externas mais ou menos profundas. Isto só é possível se houver mecanismos de regulação adequados para a captura e para a rejeição de elementos, essencialmente baseados na síntese de proteínas, codificadas por um dado DNA, ele pró-

prio sujeito a evolução, que entendemos ser adaptativa e não aleatória.

Entretanto, fora do citoplasma celular não existem as mesmas restrições, pelo que ao longo da evolução se desenvolveu um grande número de processos adicionais, obvia-

mente em comunicação com os processos citoplásmicos através de membranas mas não interferindo com eles. A designação “fora do citoplasma celular” envolve não só o exterior das células mas também os diferentes compartimentos celulares que se foram desenvolvendo: organelas, como os mitocôndrios e os cloroplastos, vesículas e sistemas de vesículas, como os retículos sarcoplasmático e endoplasmático, o aparelho de Golgi, lisosomas, etc.

Nestes compartimentos, o uso dos elementos químicos, particularmente metais, e a química correspondente, diferem do citoplasma. Em especial são de referir os casos do zinco e do cobre, que se tornaram elementos dominantes em vesículas e no exterior das células, ligados a processos degradativos (Zn<sup>2+</sup>) e à síntese e degradação do tecido conjuntivo (Cu(I), Cu<sup>2+</sup> e Zn<sup>2+</sup>).

A principal questão que se coloca é, assim, explicar como foi possível, ao longo do processo evolutivo, manter a homeostase e, consequentemente, a química do citoplasma celular, e desenvolver simultaneamente a dos compartimentos externos e do exterior das células. A ideia que avançamos é que a evolução foi essencialmente determinada pelas alterações ambientais e que estas podem causar danos e perturbações mas só a polímeros biológicos mais vulneráveis, certas proteínas, por exemplo. Se isto ocorrer, a resposta da célula, através do código, ADN, será substituir as proteínas afectadas, induzindo a síntese das mesmas. Todavia, neste processo o ADN passa da sua conformação de hélice dupla, mais resistente, a hélice simples, mais vulnerável, possibilitando assim mutações localizadas e outros efeitos visando contrariar as causas determinantes da situação, que podemos referir genericamente como de “stress”. Como referimos, os agentes (genéricos) mais agressivos são o O<sub>2</sub> (e seus produtos de redução), o NO, o Zn<sup>2+</sup> e o Cu<sup>2+</sup>, pelo que poderão ter sido estes, também, os agentes que tiveram uma



influência mais pronunciada na evolução das espécies biológicas à medida que o ambiente se tornou progressivamente mais oxigenado, na sequência da evolução anterior em organismos anaeróbicos que foi dominada por processos de simbiose, e sem esquecer o  $\text{Ca}^{2+}$ , o  $\text{Na}^{2+}$  e o  $\text{K}^{+}$ , com um papel igualmente determinante, por exemplo no desenvolvimento do sistema nervoso e do cérebro, mas não directamente dependente da maior oxigenação ambiental.

Como é evidente, se qualquer elemento actualmente não utilizado se vier a tornar disponível no ambiente, a primeira reacção dos organismos vivos será tratá-lo como um tóxico indesejável, rejeitando-o ou neutralizando-o (por exemplo, por hombagem para vacúolos), e a segunda será utilizá-lo como indicador da sua própria presença, permitindo à célula a expressão de proteínas induzidas para lidar com ele. Este foi e é o caso dos metais pesados como o  $\text{Cd}^{2+}$ , o  $\text{Pb}^{2+}$ , o  $\text{Hg}^{2+}$ , etc. Eventualmente, no caso da sua presença se tornar permanente, poderá ser utilizado como mensageiro e mesmo assumir funções necessárias, tornando-se um novo componente essencial, devidamente codificado, para um novo sistema químico, isto é, uma nova espécie de organismo representada por um ADN ligeiramente modificado, mas em que a química anterior é largamente mantida. Como dissemos, a evolução dá-se predominantemente por adições, não por substituições. Os casos do dioxigénio, do cálcio, do zinco e do cobre, que analisámos, são exemplos deste tipo de evolução, normalmente referida como "natural" por ser determinada pela selecção "natural" de elementos presentes no ambiente.

Estes argumentos podem, porém, ser estendidos a uma evolução derivada da progressiva maior disponibilidade de elementos por acção antropogénica, por exemplo alumínio, resultante da acção corrosiva das chuvas ácidas ou elementos radioactivos... Será também

uma evolução "natural" uma vez que a espécie que originou as alterações ambientais correspondentes é, em termos evolutivos, apenas isso mesmo – uma determinada espécie biológica. Não é diferente, para este efeito, das cianobactérias que deram origem ao aumento explosivo do dioxigénio, com as consequências que descrevemos. A conclusão a tirar é óbvia e segue as lições de História. Se tal acontecer muitas espécies existentes poderão deixar de ser viáveis e extinguir-se, outras poderão subsistir mas em nichos protegidos em que sejam preservadas as condições ambientais anteriores (como acontece com muitos microorganismos anaeróbicos actuais que continuam a existir, a reproduzir-se, a evoluir e a diversificar-se em condições rigorosamente anóxicas, como nos lodos lacustres, nos pântanos ou no rumen das vacas) e finalmente outras poderão "aprender" a usar os novos elementos e dar origem a espécies adaptadas às novas condições ambientais e consequentemente mais viáveis. A espécie humana poderá seguir um ou mais destes caminhos, mas a sua presença futura poderá estar em risco por sua própria culpa.

Chegámos ao fim da nossa exposição, sucinta e necessariamente superficial como tivemos ocasião de salientar. De alguma forma tratou-se de uma história da evolução das espécies no nosso planeta. Todavia, não se cingiu aos clássicos dados de observação morfológica, ainda que os mesmos estejam sempre presentes, não considerou o *genoma* como o motor da evolução e sim como a sua *representação* (sem deixar de reconhecer o seu papel fundamental na regulação do metabolismo e manutenção da homeostase celular), e não se centrou na análise das proteínas e enzimas da cada espécie, uma forma de reconhecimento dos genes efectivamente expressos, embora tenha dado relevo ao papel instrumental do *proteoma* na constituição da indispensável maquinaria celular e no controle das reacções

metabólicas. A nossa história incidiu, sim, sobre o papel central dos elementos químicos utilizados pelos organismos vivos, especialmente certos metais, presentes em concentrações mantidas dentro de faixas estreitas em cada espécie, e nas suas variações condicionadas pelas mudanças ambientais, originando espécies distintas, de complexidade crescente, ao longo dos biliões de anos de evolução.

É, assim, uma história que toma o *metaloma* (que nos seja permitido o neologismo) como base geral do estudo da evolução das espécies na Terra, acompanhando a evolução do ambiente, influenciada por este mas influenciando-o também de forma decisiva, pelo que se poderá dizer que a evolução da vida e do nosso planeta é conjunta e inseparável.

\* Conferência proferida na cerimónia de atribuição do prémio Ferreira da Silva – 2000, no XVII Encontro Nacional da SPQ

\* Centro de Química Estrutural – I.S.T.

## BIBLIOGRAFIA

As bases essenciais da nossa exposição encontram-se descritas em profundidade nos seguintes três volumes e artigo de revisão:

1. J.J.R. Fraústo da Silva and R.J.P. Williams (1991, 2ª reimpressão 1997). *The biological chemistry of the elements – the inorganic chemistry of life*. Oxford University Press, Oxford
2. R.J.P. Williams and J.J.R. Fraústo da Silva (1996, reimpresso 1997). *The biological selection of the chemical elements – the environment and life's chemistry*. Oxford University Press, Oxford
3. R.J.P. Williams and J.J.R. Fraústo da Silva (1999). *Bringing chemistry to life – from matter to man*. Oxford University Press, Oxford.
4. R.J.P. Williams and J.J.R. Fraústo da Silva (2000). The distribution of elements in cells. *Coordination Chemistry Review*, 200-202 (0), 247-348.