

A PROPORÇÃO ESTEQUIOMÉTRICA DA Na⁺, K⁺- ATPase: UMA BREVE REVISÃO DA LITERATURA

LUIZ HENRIQUE GARCIA DE FARIAS¹; DENISE DOS SANTOS COLARES DE OLIVEIRA²

¹Universidade Federal de Pelotas – henriquegfarias9@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – decolares@yahoo.com

1. INTRODUÇÃO

As ATPases correspondem a uma ampla classe de proteínas transportadoras de membrana, conhecidas como “bombas” e que utilizam a energia livre obtida da hidrólise do ATP em ADP + Pi para transportar ativamente íons através das membranas celulares (PALMGREN, 2023). Elas podem ser agrupadas em diferentes classes, sendo elas as ATPases do tipo V, encontradas nos vacúolos celulares e cuja principal função é o controle do pH do meio citosólico; as ATPases do tipo F, encontradas nas mitocôndrias de animais e vegetais e a classe das ATPases do tipo P, responsáveis por uma ampla gama de funções nos organismos vivos, indo desde a manutenção do potencial de membrana à contração muscular (AIRES, 2012). Cabe ressaltar que todas estas classes possuem em comum o fato de serem encontradas em membranas biológicas, serem capazes de hidrolisar ATP e, também, transportar pelo menos uma substância pela membrana à custa da energia fornecida pela hidrólise do ATP.

A Na⁺/K⁺ATPase (bomba de sódio e potássio) é uma ATPase do tipo P encontrada em células animais e é responsável por desempenhar diversas funções, como a manutenção da homeostase renal, mobilidade dos espermatozoides, produção dos potenciais de ação neurais, dentre outros (PIRAHANCHI et al., 2023). Para desempenhar estas e outras funções, esta ATPase cria um gradiente eletroquímico ao realizar o transporte de íons Na⁺ e K⁺, sendo exportados 3 Na⁺ e importados 2 K⁺ na célula, para cada molécula de ATP consumida; com isso, é mantido um gradiente mais alto de sódio extracelularmente e mais alto de potássio no meio intracelular, fornecendo uma energia potencial para a realização dos diversos processos fisiológicos envolvidos na atividade celular (RATHEAL et al., 2010).

A cinética dessa ATPase pode ser explicada com base em um mecanismo de ligação associado a uma mudança conformacional em que ela passa de um estado denominado E1, em que ocorre uma alta afinidade por Na⁺ citoplasmático, para um estado E2, em que há uma baixa afinidade por Na⁺. Esse processo ocorre graças a uma etapa de fosforilação, no qual energia é cedida a partir de moléculas de ATP para o transporte dos íons carreados contra o seu gradiente eletroquímico (MORTH et al., 2010).

Por mais que se conheça o vasto papel desempenhado pelas ATPases, existem poucos trabalhos que abordem as razões pelas quais estas atuam respeitando a proporção estequiométrica de 3:2 de íons Na⁺ e K⁺, respectivamente. Com isso, deve existir alguma razão que explique por que a bomba não funciona transportando estequias alternativas, como 2 Na⁺ e 1 K⁺, visto que funcionalmente, esta proporção desencadearia efeitos semelhantes na formação de um gradiente eletroquímico (PALMGREN, 2023).

Diante disso, o presente trabalho tem como objetivo realizar uma breve revisão da literatura que aborde o mecanismo por trás da proporção

estequiométrica de 3:2 da Na^+/K^+ ATPase. Esta revisão compreende parte das atividades de monitoria da disciplina de Bioquímica, ofertadas para os cursos da Agronomia e Ciências Biológicas (licenciatura e bacharelado).

2. ATIVIDADES REALIZADAS

A revisão foi realizada com base nos dados obtidos por meio das plataformas de pesquisa de artigos Google Acadêmico, Scielo, PubMede ScienceDirect. Foram selecionados trabalhos publicados entre os anos 2007 e 2023. Foram selecionados cinco títulos que melhor abordassem o questionamento inicial, onde então foi feita a leitura e análise das hipóteses propostas em cada artigo. Os títulos foram organizados em uma tabela (Tabela 1), que evidencia os autores e o tema do trabalho.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tabela 1: Artigos selecionados e enumerados após revisão bibliográfica

Nº	Trabalho Selecionado
1	KANAI et al. 2013 Crystal structure of a Na^+ -bound Na^+/K^+ ATPase preceding the E1P state
2	PALMGREN, 2023 P-type ATPases: Many more enigmas left to solve
3	COLINA et al. 2007 Structural basis of Na^+/K^+ -ATPase adaptation to marine environments
4	LI et al. 2015 Unraveling the mechanism of selective ion transport in hydrophobic subnanometer channels
5	RATHEAL et al. 2010 Selectivity of externally facing ion-binding sites in the Na/K pump to alkali metals and organic cations

No trabalho selecionado de PALMGREN et al. (2023), é abordado o processo evolutivo pelo qual as ATPases passaram no decorrer da história da vida. Animais possuem ATPases diferentes das encontradas em plantas e fungos, sendo que nos primeiros há a ocorrência de bombas de Na^+/K^+ ATPases e em vegetais e fungos, ocorrem as $\text{H}^+/\text{ATPases}$. É proposta a hipótese de que a presença da

Na^+/K^+ ATPase representa um caráter basal, presente nas arqueias metanogênicas. Assim, o ancestral comum dos eucariotos possuiria os dois tipos de ATPases encontradas em animais e vegetais e ao longo do processo evolutivo, a Na^+/K^+ ATPase foi perdida em plantas e fungos, enquanto que nos animais houve a perda da H^+/ATPase . Isso mostra que as ATPases podem ter evoluído de forma distinta em diferentes ambientes, sob diferentes restrições físicas e frente a uma variação na biodisponibilidade de íons.

Li et al. (2015) simularam os mecanismos do transporte iônico em nanoporos sintéticos orgânicos visando entender a seletividade iônica de canais proteicos pelos seus respectivos íons e concluíram que o diâmetro do raio, bem como a interação do íon com a água ao formar camadas de hidratação, impactam diretamente na seletividade do canal pelo íon em questão. No entanto, foi observado que a substituição dos íons Na^+ e K^+ por outros íons como Li^+ e Cs^+ , acetamidínio $^+$ e foramidínio $^+$, foi capaz de sustentar a atividade da ATPase, sugerindo que ela apresenta certa plasticidade iônica e que a seletividade iônica dos sítios ativos pode ser modificada sob a presença de outros íons (RATHEAL et al., 2010). Isso reforça a ideia de que a afinidade iônica da ATPase pode ter evoluído em diferentes ambientes, frente à diversidade de íons biodisponíveis.

No caso dos ambientes marinhos, a concentração salina é muito maior que em ambientes de água doce, consequentemente, a concentração de Na^+ no meio externo é muito maior que em vertebrados terrestres. Isso representa um grande desafio para a ATPase desses animais, a qual precisa superar um gradiente eletroquímico de Na^+ muito maior, por meio do transporte ativo. Nesses animais, a atividade da ATPase é sustentada pelo efeito eletrostático que ocorre na proximidade da face externa da enzima, criando um anel estável no local em que os íons são translocados e fazendo com que ocorra o ajuste da bomba ao seu ambiente iônico (COLINA et al., 2007). Isso corrobora com a ideia de que o mecanismo de ação da ATPase pode variar em ambientes diferentes e que diferentes estratégias são selecionadas a fim de solucionar restrições físicas no âmbito biológico.

A exata razão estequiométrica de 3 $\text{Na}^+/\text{2 K}^+$ nas Na^+/K^+ ATPases, parece estar associada a um mecanismo de ligação sequencial cooperativa de íons Na^+ , na qual os três íons de Na^+ se ligam sequencialmente aos seus sítios de ligação graças ao poder de afinidade do íon monovalente. O terceiro sítio de ligação de Na^+ da enzima se encontra em uma conformação que remete a uma dobradiça e somente a ligação como o Na^+ , e não o K^+ , conseguem realizar a ativação conformacional que permite com que a ATPase alterne seu estado (KANAI et al., 2013).

PALMGREN et al. (2023) ainda aborda como o processo evolutivo levou a uma gama de diferentes ATPases, com diferentes sistemas de transporte e utilização de íons distintos conforme a biodisponibilidade destes no ambiente e a função desempenhada no organismo; podendo variar desde a criação de gradientes eletroquímicos, extrusão de íons metálicos tóxicos ou mesmo a manutenção da simetria da membrana.

Espera-se que com o avanço de pesquisas futuras na área da bioquímica novas informações sejam reveladas acerca dos mecanismos e estequiométria das diversas famílias de ATPase, incluindo a Na^+/K^+ ATPase e com isso, se consiga cada vez mais esclarecer axiomas antigos e preencher hiatos presente na literatura. Além disso, deve ser destacado a importância da utilização de métodos que abordem o processo evolutivo das biomoléculas, pois somente desta forma conseguiremos entender efetivamente o porquê destas apresentarem a estrutura e a função que hoje desempenham.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIRES, M. M. **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.
- KANAI, R. et al. Crystal structure of a Na^+ -bound Na^+,K^+ -ATPase preceding the E1P state. **Nature**, v. 502, n. 7470, p. 201-206, 2013.
- PALMGREN, M. P-type ATPases: Many more enigmas left to solve. **Journal of Biological Chemistry**, v. 299, n. 11, 2023.
- COLINA, C. et al. Structural basis of Na^+/K^+ -ATPase adaptation to marine environments. **Nature Structural & Molecular Biology**, v. 14, n. 5, p. 427-431, 2007.
- LI, H. et al. Unraveling the mechanism of selective ion transport in hydrophobic subnanometer channels. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 35, 2015.
- RATHEAL, I. M. et al. Selectivity of externally facing ion-binding sites in the Na/K pump to alkali metals and organic cations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 43, 2010.
- MORTH, J. P. et al. A structural overview of the plasma membrane $\text{Na}^+:\text{K}^+$ -ATPase and H^+ -ATPase ion pumps. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 12, n. 1, p. 60-70, 2010.
- PALMGREN, M. Evolution of the sodium pump. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1870, n. 7, 2023.
- PIRAHANCHI, et al. Physiology, Sodium Potassium Pump. **Nih.gov**, 2023.