

Folatos, vitamina B12 e vitamina B6

Índice

1 – Os folatos	2
1.1 – Química dos folatos naturais e do ácido fólico.....	2
1.2 - A absorção intestinal dos folatos.....	2
1.3 - A captação celular de N ⁵ -metil-H4-folato, a sua desmetilação pela síntase da metionina e a “armadilha dos folatos”.....	3
1.4 - Metabolismo dos folatos.....	4
1.4.a - A ação da hidroximetiltransferase da serina e das enzimas que interconvertem as diferentes formas de folatos que contêm unidades monocarbonadas.....	4
1.4.b - Reações de formação de folatos que contêm unidades monocarbonadas.....	5
1.4.c - Reações em que os folatos funcionam como dadores de unidades monocarbonadas.....	6
1.4.d - Degradação dos folatos.....	7
1.5 - O défice de folatos.....	7
2 - Vitamina B12 (cobalamina)	8
2.1 - A química da vitamina B12.....	8
2.2 - A absorção intestinal de vitamina B12.....	8
2.3 – Causas de défice de vitamina B12.....	9
2.4 - O papel da vitamina B12 no metabolismo e as consequências do seu défice.....	9
3 - A vitamina B6	10
3.1 - A química da vitamina B6.....	10
3.2 - A absorção intestinal de vitamina B6 e o seu metabolismo.....	10
3.3 - O papel do fosfato de piridoxal no metabolismo.....	11
3.3.a - A fosforilase do glicogénio contém fosfato de piridoxal.....	11
3.3.b - As transaminases contêm fosfato de piridoxal.....	11
3.3.c - As descarboxilases de aminoácidos e outras enzimas que contêm fosfato de piridoxal.....	12
3.4 - Défice de vitamina B6.....	12
3.4.a - Défice dietético de vitamina B6.....	12
3.4.b - Outras causas de défice de vitamina B6.....	12
4 - Bibliografia utilizada	13

O texto que se segue foi escrito com a intenção de servir de apoio ao estudo de três vitaminas hidrossolúveis que têm particular importância no metabolismo aminoacídico: os folatos, a vitamina B12 e a vitamina B6.

1– Os folatos

1.1– Química dos folatos naturais e do ácido fólico

Folatos é a designação atribuída a um conjunto de **vitâmeros** (substâncias diferentes mas com a mesma atividade vitamínica) que incluem na sua estrutura o **ácido pteróico** (ou o **ácido tetrahydropteroico**) ligado a um resíduo de glutamato ou a uma cadeia (<10) de resíduos de glutamato ligados entre si por ligações amida envolvendo o carboxilo em C5 (**folil-poliglutamatos**).

O vitâmero que é usado como suplemento dietético (enriquecendo farinhas como acontece, por exemplo, nos Estados Unidos) ou que está presente nas preparações farmacêuticas é quimicamente mais estável e é impropriamente designado por “**ácido fólico**”. Escrevemos “impropriamente” porque em Química e em Bioquímica as designações que indicam a forma salina e a forma ácida designam moléculas que apenas se distinguem num protão que está ausente na forma salina e presente na forma ácida. A nomenclatura usada na “química dos folatos” é uma exceção a esta regra.

O ácido fólico distingue-se dos folatos naturais porque o resíduo de ácido pteróico está oxidado; ou seja, é um resíduo de ácido pteróico no sentido mais apropriado. Nos folatos naturais em vez de um resíduo de ácido pteróico existe um resíduo de ácido tetrahydropteroico (forma reduzida que contém mais quatro átomos de hidrogénio que o ácido pteróico). Além disso, o ácido fólico apenas contém um resíduo de glutamato enquanto as moléculas dos folatos presentes nos alimentos naturais contêm uma cadeia de vários (geralmente 5 a 8) resíduos de glutamato.

Os folatos naturais estão contidos em alimentos vegetais como os espinafres, os brócolos, os cogumelos e o feijão. O fígado também é rico em folatos.

As formas que participam no metabolismo intracelular como **dadoras de unidades monocarbonadas** ou, como é o caso do **tetrahydrofolato** (H4-folato), como aceitador de unidades monocarbonadas contêm um resíduo de ácido tetrahydropteroico e por isso as expressões que as designam contêm o termo “tetrahydrofolato”. Assim, por exemplo, existem no meio interno o N⁵-metil-tetrahydrofolato (**N⁵-metil-H4-folato**), o N⁵,N¹⁰-metileno-tetrahydrofolato (**N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato**), etc. O resíduo de ácido tetrahydropteroico contém dois átomos de azoto (N⁵ e N¹⁰) que podem estar, isoladamente ou conjuntamente, ligados a uma unidade monocarbonada.

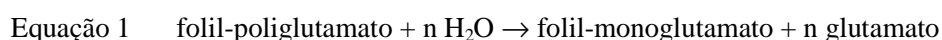
A adição de resíduos de glutamato às formas que apenas contêm um resíduo de glutamato aumenta muito a sua afinidade para a maioria das enzimas envolvidas no metabolismo dos folatos e diminui marcadamente a possibilidade de atravessarem a membrana citoplasmática. Usa-se a expressão genérica de “folil-poliglutamatos” para designar as formas que contêm uma cadeia de resíduos de glutamato ligados entre si por ligações amida que envolvem o carbono 5.

No meio interno dos mamíferos, também existem formas que, tal como o ácido fólico, apenas contêm um resíduo de glutamato e, de facto, os folatos existentes no plasma sanguíneo e que atravessam as membranas celulares são “**folil-monoglutamatos**”.

1.2- A absorção intestinal dos folatos

A absorção intestinal dos folatos naturais (folil-poliglutamatos) implica a hidrólise prévia da cadeia de poliglutamato de modo a originar folil-monoglutamatos, as formas que podem atravessar membranas. Essa hidrólise ocorre no lúmen do intestino delgado por ação de

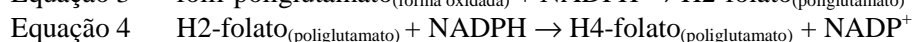
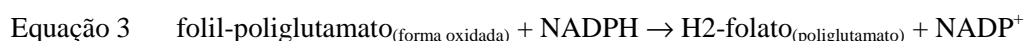
ectohidrólases da bordadura em escova (ver Equação 1). Obviamente que esta hidrólise não ocorre no caso do ácido fólico porque este composto já é um folil-monoglutamato.



Os folil-monoglutamatos formados são absorvidos para o interior dos enterócitos, maioritariamente por transporte ativo dependente do protão. No interior dos enterócitos, a primeira reação sofrida pelos folil-monoglutamatos é a adição de resíduos de glutamato por ação catalítica da **sintetase de folil-poliglutamato** (ver Equação 2). Este processo reativo confere às moléculas maior afinidade para as outras enzimas com que interagem dentro da célula e impede-as de voltar a sair para o lúmen.



No interior do enterócito, as formas oxidadas (as que derivam do ácido fólico) são reduzidas pela ação da **redutase do dihidrofolato**. O processo ocorre em duas etapas que consomem NADPH (ver Equação 3 e Equação 4) formando-se primeiro o dihidrofolato (**H2-folato**) e depois o tetrahidrofolato (**H4-folato**). Ou seja, o resíduo de ácido pteróico é reduzido a tetrahidropteróico.



De seguida, o H4-folato (já na forma de folil-poliglutamato) aceita unidades monocarbonadas acabando por formar-se, maioritariamente, N⁵-metil-H4-folato. A passagem através da membrana basal dos enterócitos para o plasma sanguíneo é um processo mediado por transportadores e exige que, previamente, ocorra a remoção hidrolítica de resíduos de glutamato. Esta hidrólise vai ocorrer agora no citoplasma do enterócito; a equação que a descreve é a Equação 1 mas, neste caso, o folil-monoglutamato formado é, maioritariamente, o N⁵-metil-H4-folato.

1.3- A captação celular de N⁵-metil-H4-folato, a sua desmetilação pela síntase da metionina e a “armadilha dos folatos”

No plasma sanguíneo a forma mais abundante é o N⁵-metil-H4-folato com apenas um resíduo de glutamato. As moléculas deste composto são captadas pelas células por transporte mediado. Seria de esperar que, no citoplasma das células, a primeira reação sofrida por estas moléculas fosse a adição de glutamatos (ver Equação 2), mas não é isso que acontece porque a metilação em N⁵ diminui a afinidade para a sintetase de folil-poliglutamatos. Assim, como primeiro passo do metabolismo no interior das células, vai ocorrer a transferência do grupo metilo para a **homocisteína** formando-se H4-folato e **metionina** (ver Equação 5). A enzima que catalisa esta reação designa-se de **síntase da metionina** e, ao contrário das outras enzimas envolvidas no metabolismo dos folatos, não exige a presença da cadeia de glutamatos no seu substrato; a síntase da metionina usa como dador de metilo o N⁵-metil-H4-folato quer este composto contenha um ou vários resíduos de glutamato. Ou seja, em geral, quer o N⁵-metil-H4-folato quer o H4-folato explicitados na Equação 5 podem estar na forma de folil-monoglutamatos ou de folil-poliglutamatos.



A síntase da metionina é a única enzima do organismo que é capaz de usar como dador de metilo o N⁵-metil-H4-folato e converter este composto na forma que não tem unidades monocarbonadas na sua estrutura (o H4-folato; a forma que vai funcionar como aceitador de

unidades monocarbonadas). A denominação de síntase da metionina pode gerar confusão porque, como veremos adiante neste texto (ver Capítulo 1.4.b), existe mais uma enzima que é capaz de converter a homocisteína em metionina, mas que não envolve como dador de metilo o N⁵-metil-H4-folato (ver à frente a Equação 16).

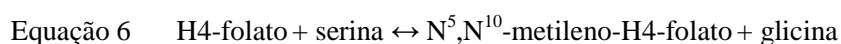
A síntase da metionina tem como grupo prostético a **cobalamina** (vitamina B12). Por isso quando a **vitamina B12** está em défice no organismo a formação de H4-folato fica prejudicada ficando também prejudicada a formação de folatos que contêm outros tipos de unidades monocarbonadas nos azotos N⁵ e/ou N¹⁰. Assim, o défice de vitamina B12 gera uma situação em que há défice funcional de folatos porque, com exceção da forma monoglutamada do N⁵-metil-H4-folato, as outras formas de folatos baixam de concentração nas células do organismo. Esta condição patológica costuma ser designada por “**armadilha dos folatos**”: o défice de vitamina B12 impede a formação de formas de folatos importantes para o metabolismo porque a forma monoglutamada do N⁵-metil-H4-folato que entrou nas células não pode ser convertido em H4-folato, acabando por sair outra vez para o plasma e perder-se na urina. É esta perda urinária que explica que nem sempre seja possível observar a acumulação de N⁵-metil-H4-folato no plasma sanguíneo dos doentes que têm défice de vitamina B12.

A etapa que se segue à formação do H4-folato (na forma de folil-monoglutamato) que foi catalisada pela síntase da metionina é a adição de resíduos de glutamato por ação da sintétase de folil-poliglutamato (ver Equação 2). Esta última enzima converte o H4-folato num excelente aceitador de unidades monocarbonadas na ação catalítica de variadas enzimas.

1.4- Metabolismo dos folatos

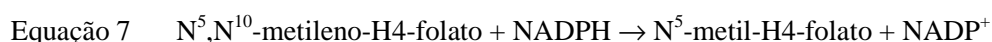
1.4.a- A ação da hidroximetiltransferase da serina e das enzimas que interconvertem as diferentes formas de folatos que contêm unidades monocarbonadas.

Por ação de diferentes enzimas de que, neste momento, destacamos a **hidroximetiltransferase da serina**, o H4-folato funciona como aceitador de unidades monocarbonadas. No caso da hidroximetiltransferase da serina, o H4-folato converte-se em N⁵-N¹⁰-metileno-H4-folato (ver Equação 6).



No entanto, as formas mais abundantes de folatos dentro das células (sendo sempre folil-poliglutamatos) não incluem o N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato. As formas mais abundantes são o N⁵-metil-H4-folato, o **N¹⁰-formil-H4-folato** e a forma não ligada a unidade monocarbonadas (o H4-folato). As formas minoritárias são, para além do N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato, o **N⁵,N¹⁰-metenilo-H4-folato** e o **N⁵-formimino-H4-folato**.

O carbono da unidade monocarbonada (metileno; -CH₂-) presente no N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato tem número de oxidação zero. Quando se reduz (ver Equação 7) via ação catalítica da **redútase do N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato** forma-se o N⁵-metil-H4-folato; o número de oxidação do carbono do grupo metilo (-CH₃) é -2. Esta reação é fisiologicamente irreversível; ou seja, o N⁵-metil-H4-folato não se pode converter em N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato por ação da redútase do N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato.

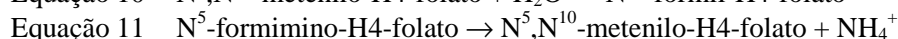
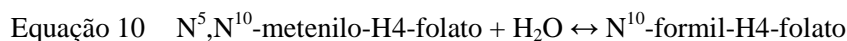


Ao contrário do que acontece na reação catalisada pela redútase do N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato, o N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato, o N⁵,N¹⁰-metenilo-H4-folato e o N¹⁰-formil-H4-folato são interconvertíveis através de reações fisiologicamente reversíveis. Concretamente, via ação catalítica

da **desidrogenase do N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato** o grupo metileno passa a metenilo. O número de oxidação do carbono do grupo metenilo (=CH-) não é zero mas sim +2 e a conversão N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato → N⁵,N¹⁰-metenilo-H4-folato é uma oxidação dependente do NAD⁺ (ver Equação 8). Por sua vez, a redução do N⁵,N¹⁰-metenilo-H4-folato a N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato é catalisada por uma isoenzima também designada por desidrogenase do N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato que usa como agente redutor o NADPH (ver Equação 9).



O número de oxidação dos carbonos dos grupos formilo (-CHO) e formimino (-HC=NH) é igual ao do grupo metenilo (+2). A interconversão fisiologicamente reversível entre o N⁵,N¹⁰-metenilo-H4-folato e o N¹⁰-formil-H4-folato ocorre por ação catalítica de uma enzima habitualmente designada por **ciclohídrólase** (ver Equação 10). O N⁵-formimino-H4-folato forma-se no metabolismo da **histidina** e, por ação de uma **desaminase**, pode converter-se no N⁵,N¹⁰-metenilo-H4-folato (ver Equação 11).

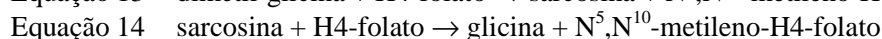
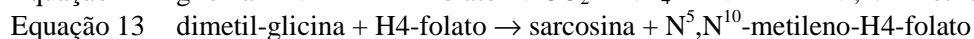


Por ação sequenciada de enzimas já referidas, o N⁵,N¹⁰-metenilo-H4-folato pode originar todas as outras formas de tetrahidrofolato. Pode, por exemplo, originar H4-folato via N⁵,N¹⁰-metenilo-H4-folato → N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato → N⁵-metil-H4-folato → H4-folato (ações sequenciadas da desidrogenase do N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato, da redútase do N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato e da síntase da metionina; ver Equação 9, Equação 7 e Equação 5).

1.4.b- Reações de formação de folatos que contêm unidades monocarbonadas

Já foi referido que o H4-folato é aceitador de uma unidade monocarbonada na ação catalítica da hidroximetiltransférase da serina (ver Equação 6). Na ação catalítica desta enzima, quando a reação ocorre no sentido serina → glicina, o H4-folato converte-se em N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato. (Dada a natureza reversível do processo a mesma enzima também é capaz de catalisar a reação inversa, ou seja, a formação de serina a partir de glicina.) Pensa-se que a ação da hidroximetiltransférase da serina é a atividade quantitativamente mais relevantes nos processos que levam à adição de unidades monocarbonadas ao H4-folato, mas não é a única.

Outros processos reativos que também levam à conversão do H4-folato em N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato incluem a ação catalítica da **enzima de clivagem da glicina** (ver Equação 12) e de duas transférases envolvidas na via metabólica de conversão da colina em glicina (ver Equação 13 e Equação 14).



A enzima de clivagem da glicina catalisa uma reação fisiologicamente irreversível que pode ser classificada como uma desaminação oxidativa, mas que também envolve a conversão do H4-folato em N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato. Na reação catalisada por esta enzima a glicina é oxidada a CO₂ concomitantemente com a redução do NAD⁺ a NADH sem a intervenção das enzimas do ciclo de Krebs (ver Equação 12).

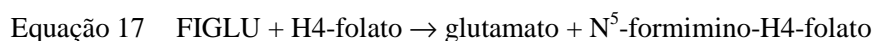
A molécula de **colina** tem dois carbonos contendo um grupo hidroxilo no carbono 1 e, no carbono 2, um grupo amina trimetilado. A primeira etapa do processo de conversão da colina em

glicina consiste na oxidação do hidroxilo do carbono 1 (a carboxilo) com formação da **betaína** (ver Equação 15). Seguidamente a betaína é dadora de um grupo metilo à homocisteína formando-se metionina e **dimetilglicina (metil-transférase da betaína-homocisteína;** ver Equação 16). O processo de conversão da dimetilglicina em glicina já foi referido: ver Equação 13 e Equação 14. Assim, no processo de conversão da colina em glicina um dos três grupos metilo da colina é cedido à homocisteína e leva à formação de metionina enquanto os outros dois contribuem para a formação de N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato.

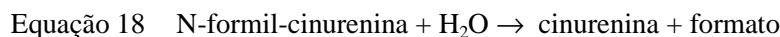


O H4-folato também é aceitador de unidades monocarbonadas no decurso do metabolismo da histidina e também participa na conversão do **formato** formado na síntese de colesterol e no catabolismo do triptofano e do metanol.

Na via catabólica que converte a histidina em glutamato, o último passo é a conversão do **formimino-glutamato (FIGLU)** em glutamato. Nesta reação, que é catalisada pela **formiminotransférase do glutamato**, o H4-folato aceita o **grupo formimino** do FIGLU convertendo-se em N⁵-formimino-H4-folato (ver Equação 17).



Numa das etapas do processo de conversão **de lanosterol em colesterol** e numa das etapas do catabolismo do triptofano (a **hidrólise da N-formil-cinurenina;** ver Equação 18) forma-se formato. Além disso, no metabolismo do metanol (um composto tóxico) o produto final do processo oxidativo também é o formato.



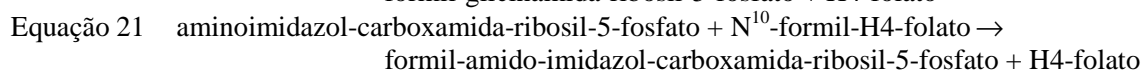
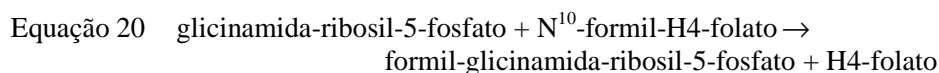
Por ação catalítica da **shintétase do N¹⁰-formil-H4-folato** o formato reage com o H4-folato levando à formação de N¹⁰-formil-H4-folato.



1.4.c- Reações em que os folatos funcionam como dadores de unidades monocarbonadas

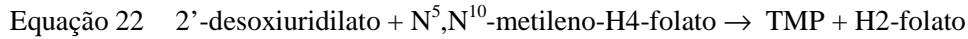
Para além de participarem na “salvação” de metionina (ver Equação 5) e na síntese de serina a partir da glicina (ver Equação 6) os folatos que contêm unidades monocarbonadas também participam como substratos na síntese de nucleotídeos.

O N¹⁰-formil-H4-folato é o dador de unidades monocarbonadas a intermediários da via metabólica de **síntese de novo das purinas**. Na via de síntese do IMP a partir de PRPP há dois passos em que se consome N¹⁰-formil-H4-folato e em que um dos produtos é o H4-folato. A incorporação do carbono 8 do anel purínico ocorre na reação descrita pela Equação 20 e a incorporação do carbono 2 na que é descrita pela Equação 21.



Além disso, o N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato é o dador de uma unidade monocarbonada ao 2'-desoxiuridilato (2'-dUMP) na ação catalítica da **shintétase do timidilato** (ver Equação 22). A síntese

de TMP (timidilato) ocorre durante a fase S do ciclo celular e o TMP é o precursor do TTP (timidina-trifosfato), um dos substratos das **poliméras de DNA**. A síntese do timidilato tem a particularidade de formar não H4-folato mas sim dihidrofolato (H2-folato) que não é aceitador de unidades monocarbonadas. Tal como no processo de “ativação” do ácido fólico ingerido que ocorre nos enterócitos também aqui intervém a redúta-se do dihidrofolato que, usando como agente redutor o NADPH, reduz o H2-folato a H4-folato (ver Equação 4).



Obviamente que o H4-folato formado nesta reação pode ser substrato aceitador de unidades monocarbonadas em múltiplas reações, mas é costume enfatizar as que permitem regenerar o $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -metileno-H4-folato com destaque para a hidroximetil-transférase da serina (ver Equação 6). Desta forma é possível falar do **ciclo do dihidrofolato**. No primeiro passo deste ciclo o $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -metileno-H4-folato converte-se em H2-folato (ver Equação 22), no segundo o H2-folato é reduzido a H4-folato (ver Equação 4) e o último permite a regeneração do $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -metileno-H4-folato (ver Equação 6).

1.4.d- Degradação dos folatos

Os folatos são degradados por clivagem oxidativa do resíduo de ácido tetrahidropterico do folil-poliglutamato, seguido da libertação (hidrólise) de glutamatos e da acetilação do produto deste processo hidrolítico. O produto final é o **N-acetil-aminobenzoilglutamato** que é excretado na urina.

1.5 - O défice de folatos

Uma das possíveis consequências do défice de folatos é a **anemia megaloblástica** que se caracteriza pela presença, no sangue e na medula óssea, de eritrócitos imaturos e de grande tamanho (megaloblastos). O aparecimento de megaloblastos pode ser explicado pelo papel do $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -metileno-H4-folato na síntese de TMP (ver Equação 22); o TMP é precursor do TTP e está, por isso, envolvido na síntese e reparação do DNA. No défice de folatos, a síntese e a reparação do DNA está prejudicada enquanto que a síntese de RNA e proteínas é menos comprometida: as células precursoras dos eritrócitos crescem de tamanho mas a divisão celular fica prejudicada.

Para além da anemia megaloblástica os folatos também estão relacionados com outras doenças.

A suplementação da dieta com folato nas mulheres na altura da conceção faz diminuir a incidência de **defeitos do encerramento do tubo neural** nos embriões que estas conceberam sendo o defeito mais conhecido a “**espinha bífida**”. A causa deste efeito protetor da administração de folatos à grávida que está nas primeiras semanas de gravidez é desconhecida, mas poderá estar relacionada com a necessidade aumentada de folato nas células em rápida multiplicação (como é o caso das células do tubo neural do embrião). A dificuldade em identificar as mulheres que estão em processo de conceção levou os serviços de saúde pública de muitos países espalhados pelo mundo a suplementar com folatos alimentos de uso corrente na dieta desses países. Como veremos adiante neste texto (ver Capítulo 2.4), esta política de saúde pública não é isenta de riscos e por isso a sua pertinência é discutível.

Os défices de vitamina B12 ou de folatos podem provocar **hiper-homocisteinemia**, um sinal analítico estatisticamente associado ao desenvolvimento precoce de aterosclerose. Nos casos em que há défice de folatos ou de vitamina B12, a razão do aumento da homocisteína no plasma sanguíneo está relacionado com a diminuição da atividade de conversão da conversão homocisteína → metionina pela síntese da metionina (ver Equação 5). Embora exista mais uma enzima (a metil-transférase da betaína-homocisteína; ver Equação 16) envolvida no processo de conversão

homocisteína → metionina, quando a atividade da síntese da metionina está prejudicada acumula-se homocisteína.

2 - Vitamina B12 (cobalamina)

2.1 - A química da vitamina B12

A vitamina B12 também é designada por cobalamina de que existem vários vitâmeros. A sua estrutura química é muito complexa contendo um átomo de **cobalto hexavalente** que está no centro de um **anel tetrapirrólico de corrina**. Quatro das seis valências do cobalto estão ligadas aos 4 átomos de azoto dos anéis pirrólicos da corrina. A quinta valência do átomo de cobalto está ligada a um azoto de um outro resíduo da cobalamina que consiste num anel dimetil-benzimidazol.

A sexta valência do átomo de cobalto pode ligar diferentes grupos químicos que estão na origem dos diferentes vitâmeros da vitamina B12. São exemplos a **metil-cobalamina** (que contém um grupo metilo), a **5'-desoxiadenosil-cobalamina** (grupo 5'-desoxiadenosina), a **hidroxil-cobalamina** (grupo hidroxilo) e a **ciano-cobalamina** (grupo cianeto). A metil-cobalamina é o vitâmero que existe no plasma (viajando ligado a uma proteína designada por **transcobalamina**) e a 5-desoxiadenosil-cobalamina é o vitâmero de reserva que existe nas células, nomeadamente nos hepatócitos. A ciano-cobalamina não existe na natureza, mas está presente nas preparações farmacêuticas porque se forma durante os processos de extração de vitamina B12 a partir das fontes naturais.

A vitamina B12 está ausente nos vegetais. É produzida por microorganismos e existe na carne, peixe, ovos e mariscos.

2.2 - A absorção intestinal de vitamina B12

A absorção da vitamina B12 é um processo complexo. Para que a vitamina B12 seja absorvida é necessário que ocorram uma série complexa de processos que decorrem no lúmen do tubo digestivo.

A vitamina B12 dos alimentos está complexada com proteínas e é no estômago que, por ação do pH ácido e da pepsina, a cobalamina se desliga dessas proteínas. No entanto, a vitamina B12 não se mantém na forma livre porque logo de seguida se liga a proteínas (designadas por **proteínas R**) que se segregam quer no estômago quer na saliva.

Já no duodeno as proteínas R são digeridas libertando-se a vitamina B12. É nesta fase que a vitamina B12 se vai ligar a uma proteína que é segregada nas células parietais do estômago e que se designa por **fator intrínseco**.

O **complexo vitamina B12-factor intrínseco** é ligado de uma proteína da membrana apical dos enterócitos do **íleo** designada de **cubilina**. A ligação entre a cubilina e o complexo vitamina B12-factor intrínseco permite a formação de uma **vesícula endocítica** que, via fusão com lisossomas, evolui para **endossoma**. A cubilina acaba por regressar à membrana apical das células endoteliais enquanto, no interior do endossoma, o fator intrínseco é hidrolisado libertando a vitamina B12. Por um mecanismo de transporte ativo (transportador tipo ABC; *ATP binding cassette*) a vitamina B12 passa, no polo basal dos enterócitos, para o **espaço subepitelial**. Simultaneamente, uma proteína (designada por transcobalamina) que é sintetizada nos mesmos enterócitos também passa para o espaço subepitelial. No espaço subepitelial a vitamina B12 liga-se à transcobalamina e é nesta forma (complexo transcobalamina-B12) que vai viajar no plasma.

2.3 – Causas de défice de vitamina B12

Embora os vegetarianos estritos possam ter défice de vitamina B12 de causa dietética, na maior parte dos casos, a causa dos défices de vitamina B12 está relacionada com alterações nos processos que permitem a sua absorção a partir de alimentos naturais.

As causas mais frequentes de défice de vitamina B12 estão relacionadas com alterações da digestão gástrica que impede o desligar da vitamina B12 das proteínas a que estão ligadas nos alimentos naturais ou a défice de secreção de fator intrínseco. Assim, são causas possíveis de défice de vitamina B12, a **aclorídria inflamatória**, o uso crónico de **inibidores da bomba de prótons**, a **reção cirúrgica do estômago** e uma doença autoimune que se designa por **anemia perniciosa**. Na anemia perniciosa ocorre a destruição das células parietais do estômago e existem anticorpos contra o fator intrínseco.

As reservas de vitamina B12 estão maioritariamente no fígado e, porque a sua eliminação (urinária e biliar) é muito lenta, o organismo pode manter-se saudável durante anos após a interrupção da absorção de vitamina B12.

2.4 - O papel da vitamina B12 no metabolismo e as consequências do seu défice

O défice de vitamina B12 acarreta duas consequências: **anemia megaloblástica** e a chamada “**degenerescência subaguda combinada**”.

As causas da anemia megaloblástica já foram explicadas quando se discutiu o papel dos folatos na síntese do TMP (ver Capítulo 1.5). Quando a anemia megaloblástica é causada por défice de vitamina B12 há um défice secundário de folatos porque o N⁵-metil-H4-folato captado do plasma para as células (e que está na forma de folil-monoglutamato) não pode ser desmetilado acabando por sair das células e ser eliminado na urina. No défice de vitamina B12 ocorre a “armadilha do folato” porque a desmetilação do N⁵-metil-H4-folato depende inteiramente da atividade de uma enzima que tem como grupo prostético a vitamina B12, a síntase da metionina (ver Equação 5 e Capítulo 1.3). De facto, o mecanismo enzimático da síntase da metionina envolve a interconversão de duas formas de vitamina B12: a metil-cobalamina e a cobalamina sem nenhum grupo químico na sexta valência do átomo de cobalto da vitamina B12. No decurso do processo catalítico a metil-cobalamina ligada à **apoenzima** cede o grupo metilo à homocisteína para originar a metionina e cobalamina; o ciclo catalítico fica completo quando o N⁵-metil-H4-folato cede um novo grupo metilo à cobalamina para regenerar a metil-cobalamina ligada à apoenzima.

A degenerescência subaguda combinada é uma doença do foro neurológico. Evolui com **desmielinização** dos axónios dos neurónios que causa uma **neuropatia irreversível** que pode evoluir para **demência**. A razão por que o défice de vitamina B12 causa esta patologia é desconhecida.

Porque a administração de ácido fólico trata e previne eficazmente a anemia megaloblástica pode mascarar um défice de vitamina B12. Nestas circunstâncias o défice de vitamina B12 não causa anemia megaloblástica, mas a degenerescência subaguda combinada continua a agravar-se podendo só ser detetada quando já há desmielinização axonal irreversível.

Para além da síntase da metionina só existe uma outra enzima que tem como grupo prostético a vitamina B12, a **mútase da L-metil-malonil-CoA**. Neste caso o vitâmero em questão é a 5'-desoxiadenosil-cobalamina. A 5'-desoxiadenosil-cobalamina forma-se por ação catalítica da **transférase de 5'-desoxiadenosina**. Na reação catalisada por esta enzima o dador do resíduo de 5'-desoxiadenosina à cobalamina é o ATP (ver Equação 23) e, no decurso do processo reativo, ocorre a redução do carbono 5 do resíduo de ribose.



A formação da holoenzima da mütase do L-metil-malonil-CoA (ou seja, a formação da enzima funcional) envolve a ligação da 5'-desoxiadenosil-cobalamina à apoenzima.

A mütase do L-metil-malonil-CoA catalisa a isomerização L-metil-malonil-CoA → succinil-CoA, a reação que é o último passo de uma via metabólica que converte o **propionil-CoA em succinil-CoA** (ver Equações 24-26).

Equação 24 $\text{propionil-CoA} + \text{CO}_2 + \text{ATP} \rightarrow \text{D-metil-malonil-CoA} + \text{ADP} + \text{Pi}$

Equação 25 $\text{D-metil-malonil-CoA} \rightarrow \text{L-metil-malonil-CoA}$

Equação 26 $\text{L-metil-malonil-CoA} \rightarrow \text{succinil-CoA}$

O propionil-CoA é uma substância que se forma no catabolismo do propionato, da metionina, da valina, da isoleucina, da treonina e dos ácidos gordos de cadeia ímpar.

Quando há défice de vitamina B12 há aumento do **L-metil-malonil-CoA** nas células e aumento do **ácido metil-malónico** no sangue e na urina. O ácido metil-malónico resulta da hidrólise do L-metil-malonil-CoA acumulado nas células (ver Equação 27) e denuncia que há diminuição da atividade da mütase de L-metil-malonil-CoA. O mesmo acontece quando há défice congénito da mütase de L-metil-malonil-CoA (defeitos na apoenzima), mas só no caso do défice de vitamina B12 é que há degenerescência subaguda combinada. Aparentemente, nem a degenerescência subaguda combinada nem a anemia megaloblástica têm qualquer relação com diminuição da atividade da mütase de L-metil-malonil-CoA que ocorre quando há défice de vitamina B12.

Equação 27 $\text{L-metil-malonil-CoA} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{L-metil-malonato} + \text{CoA}$

3 - A vitamina B6

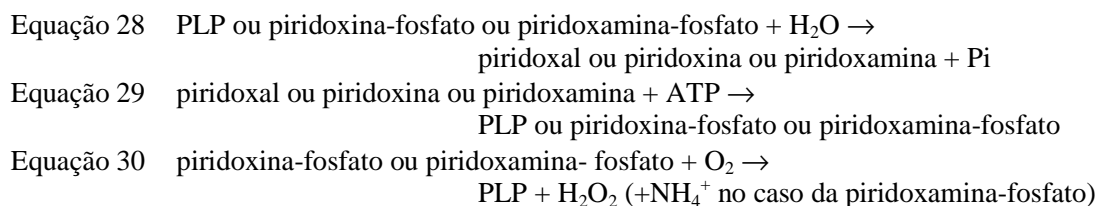
3.1 - A química da vitamina B6

Existem 6 vitâmeros da vitamina B6: o **piridoxal**, a **piridoxina**, a **piridoxamina** e os seus derivados fosforilados, o **piridoxal-fosfato (PLP)**, a **piridoxina-fosfato** e a **piridoxamina-fosfato**. Têm estruturas químicas parecidas (partilhando um anel piridina) e, porque se podem converter endogenamente na forma ativa (o PLP), têm a mesma ação vitamínica. A piridoxina difere do piridoxal por conter um grupo hidroxilo num carbono onde o piridoxal contém um grupo aldeído; na piridoxamina o grupo correspondente é um grupo amina.

O défice dietético de vitamina B6 é raríssimo porque esta vitamina existe em quase todos os alimentos. Os vegetais contêm piridoxina e os alimentos de origem animal, piridoxal e piridoxamina.

3.2 - A absorção intestinal de vitamina B6 e o seu metabolismo

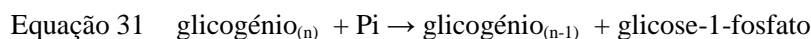
As formas fosforiladas são desfosforiladas no polo apical dos enterócitos por ação de uma ectofosfatase, a **fosfatase alcalina** (ver Equação 28). Os vitâmeros desfosforilados são absorvidos para o meio interno. O PLP que existe no plasma sanguíneo só entra para o interior das células após desfosforilação; esta desfosforilação está dependente da ação da fosfatase alcalina que está presente na face externa da membrana citoplasmática (ver Equação 28). Nas células, uma **cínase** promove a sua fosforilação (ver Equação 29) e uma oxidase (a **oxidase da piridox(am)ina-fosfato**) converte a piridoxamina-fosfato e a piridoxina-fosfato na forma vitamínica ativa, o PLP (ver Equação 30). O piridoxal que se forma por desfosforilação do PLP pode, no fígado, converter-se (oxidação) em **ácido piridóxico** que é excretado no rim.



3.3 - O papel do fosfato de piridoxal no metabolismo

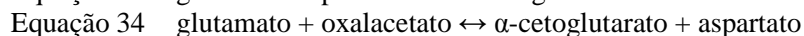
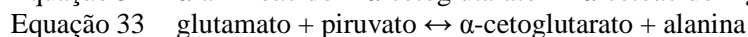
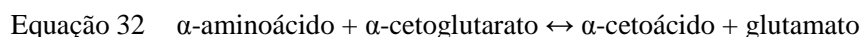
3.3.a- A fosforilase do glicogénio contém fosfato de piridoxal

O PLP é o grupo prostético de cerca de 100 enzimas, a maioria envolvida no metabolismo dos aminoácidos. Contudo, curiosamente, a maior parte do PLP do organismo encontra-se ligado a uma enzima do metabolismo glicídico: a fosforilase do glicogénio (quer a hepática, quer a muscular; ver Equação 31).

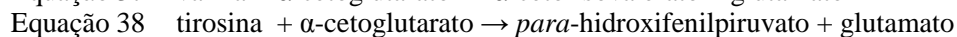
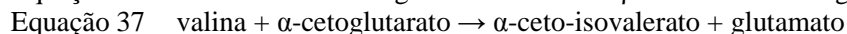
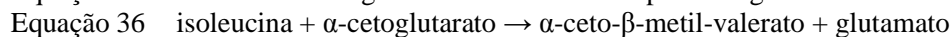
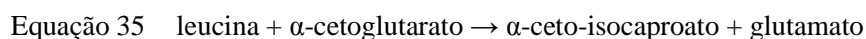


3.3.b- As transaminases contém fosfato de piridoxal

Entre as enzimas do metabolismo dos aminoácidos que têm como grupo prostético o PLP destacaríamos as **transaminases** (também designadas por **aminotransferases**; ver Equação 32). As diversas transaminases catalisam, em geral, reações em que o glutamato é dador do grupo α -amina a diversos α -cetoácidos (como o piruvato e o oxalacetato) formando-se como produtos o α -cetoglutarato e um α -aminoácido (como a alanina e o aspartato). Porque, na maior parte dos casos, as reações deste tipo são fisiologicamente reversíveis as transaminases participam, quer nos processos de síntese de aminoácidos nutricionalmente dispensáveis, quer nos processos catabólicos destes aminoácidos. Exemplos deste tipo são as reações catalisadas pelas **transaminases da alanina e do aspartato** (ver Equação 33 e Equação 34).



No caso dos aminoácidos nutricionalmente indispensáveis, as reações de transaminação em que participam estes aminoácidos ou os intermediários das suas vias catabólicas são, na prática, fisiologicamente irreversíveis no sentido em que o α -cetoglutarato é aceitador dos grupos amina desses aminoácidos ou desses intermediários (ver Equações 35-38). Nas reações de transaminação, o PLP está, no início do ciclo catalítico, ligado de forma covalente ao grupo amina de um resíduo de lisina da transaminase; durante o ciclo forma-se piridoxamina desligada da enzima e no final do ciclo regenera-se a forma original.



3.3.c- As descarboxilases de aminoácidos e outras enzimas que contém fosfato de piridoxal

Outros exemplos de enzimas que têm como grupo prostético o PLP são: (i) as **descarboxilases de aminoácidos** (envolvidas na formação de **neurotransmissores** que são derivados descarboxilados de aminoácidos; ver Equações 39-42), (ii) a hidroximetil-transferase da serina (envolvida na interconversão serina/glicina e na formação do N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato; ver Equação 6), (iii) a enzima de clivagem da glicina (que catalisa a oxidação descarboxilativa da glicina e também a formação de N⁵,N¹⁰-metileno-H4-folato; ver Equação 12), (iv) a **síntase da cistationina** (ver Equação 43) e a **cistationinase** (ver Equação 44) que participam na formação de cisteína a partir da metionina e serina e (v) a **síntase do ácido δ-aminolevulínico** (ver Equação 45) que é a primeira enzima na via metabólica que leva à formação do heme (o grupo prostético da hemoglobina).

Equação 39 L-dopa → CO₂ + dopamina

Equação 40 glutamato → CO₂ + ácido gama-amino-butírico (GABA)

Equação 41 5-hidroxitriptofano → CO₂ + serotonina

Equação 42 histidina → CO₂ + histamina

Equação 43 homocisteína + serina → cistationina

Equação 44 cistationina → cisteína + α-cetobutirato + NH₄⁺

Equação 45 glicina + succinil-CoA → ácido δ-aminolevulínico + CoA + CO₂

3.4 - Défice de vitamina B6

3.4.a- Défice dietético de vitamina B6

No ano de 1953 ocorreu, nos EUA, uma epidemia de convulsões em bebês alimentados com uma determinada marca de “leite maternizado” que, por erro na sua preparação, não continha vitamina B6 na sua composição. Os cerca de 100 bebês alimentados exclusivamente com esse “leite” tinham episódios convulsivos que desapareciam quando o “leite” era substituído por outra marca. Dada a presença ubíqua da vitamina B6 nos nutrientes naturais não será de espantar que o único caso de défice dietético documentado de vitamina B6 seja essa epidemia.

Tendo em conta o papel da vitamina B6 no metabolismo dos aminoácidos e a importância de alguns aminoácidos como neurotransmissores (o glutamato e a glicina, por exemplo) ou como precursores de neurotransmissores (a **dopamina**, o **GABA**, a **serotonina** e a **histamina** são neurotransmissores; ver Equações 39-42) talvez não seja de admirar que a deficiência nutricional se tenha manifestado como uma alteração do foro neurológico. Em animais de experiência, uma dieta carente em vitamina B6 provoca aumento da sensibilidade a agentes que podem provocar convulsões e alterações eletroencefalográficas. Estas alterações são acompanhadas por baixos níveis cerebrais de GABA, um neurotransmissor com ação inibidora e cuja síntese envolve uma descarboxilase dependente do PLP (ver Equação 40).

3.4.b- Outras causas de défice de vitamina B6

Outras causas possíveis de défice de vitamina B6 são, em casos raros, a existência de necessidades de vitamina B6 acima do que um indivíduo normal precisa; estes casos têm em comum serem tratados com doses farmacológicas de vitamina B6.

Três destas situações podem ser agrupadas considerando que em todas elas há alterações do metabolismo da vitamina B6.

(i) Quando um médico receita **isoniazida** também receita vitamina B6 porque a isoniazida reage (não enzimicamente) com o PLP levando à sua depleção. (A isoniazida é um fármaco usado na terapêutica da tuberculose.)

(ii) O déficit congénito de fosfatase alcalina manifesta-se como déficit celular de vitamina B6 porque, na ausência desta enzima, o PLP plasmático não é desfosforilado não entrando para as células (ver Equação 28).

(iii) O déficit congénito de oxídase da piridox(am)ina-fosfato também se manifesta como déficit celular de vitamina B6 porque, na ausência desta enzima, a piridoxina-fosfato e a piridoxamina-fosfato não geram a forma ativa (ver Equação 30).

Uma outra situação é (iv) uma rara mutação na síntese do ácido δ -aminolevulínico que cursa com uma **anemia** (causada pela alteração na síntese do heme; ver Equação 45), mas em que a enzima mutada funciona eficazmente na presença de concentrações elevadas de vitamina B6.

Em todos os casos em que há alterações do metabolismo da vitamina B6 (i-iii), na ausência de tratamento com vitamina B6 em doses farmacológicas, os doentes podem, para além de anemia (que é **microcítica** e **hipocrômica**; déficit de maturação do citoplasma e síntese de heme sem alterações na divisão celular), apresentar sintomas de **neuropatia periférica** (alterações de sensibilidade e de locomoção) ou **síndromes epileptiformes**.

Estes síndromes epileptiformes estarão relacionados com alterações do metabolismo de aminoácidos que são neurotransmissores e com a síntese de neurotransmissores que são derivados de aminoácidos. Por exemplo, o déficit de atividade da descarboxilase do glutamato (ver Equação 40) prejudica a conversão de um neurotransmissor excitatório (o glutamato) num outro (o GABA) que inibe a excitabilidade neuronal.

4- Bibliografia utilizada

Stipanuk, M. H. & Caudill, M. A. (2013) Biochemical, Physiological, Molecular Aspects of Human Nutrition, 3rd edn, Saunders, Elsevier., USA.

Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A. & Rodwell, V. W. (2012) Harper's Illustrated Biochemistry, 29th edn, Lange, New York.

Lamarre, S. G., Morrow, G., Macmillan, L., Brosnan, M. E. & Brosnan, J. T. (2013) Formate: an essential metabolite, a biomarker, or more?, Clin Chem Lab Med. 51, 571-8.

Nelson, E. M. (1956) Association of vitamin B6 deficiency with convulsions in infants, Public Health Rep. 71, 445-8.

Clayton, P. T. (2006) B6-responsive disorders: a model of vitamin dependency, J Inherit Metab Dis. 29, 317-26.

Mackey, A. D., Davis, S. R. & Gregory, J. F. (2006) Vitamin B6 in Modern Nutrition in Health and Disease (Shils, M. E., ed) pp. 452-461, Lippincott, Philadelphia.

Shane, B. (2006) Folic acid, vitamines B12 and vitamines B6 in Biochemical, Physiological, Molecular Aspects of Human Nutrition (Stipanuk, M. H., ed) pp. 693-732, Saunders, Elsevier, St. Louis.

Peterkofky, A. & Weissbach, H. (1963) Release of inorganic triphosphate from adenosine triphosphate during vitamin B12 coenzyme biosynthesis, J Biol Chem. 238, 1491-7.

Este texto acabou de ser escrito em janeiro de 2015, foi revisto em abril do mesmo ano e o autor (Rui Fontes) agradece todas as críticas que quiserem fazer-lhe.