

Predmet:
Bioneorganska hemija

Studijski program: Master akademske studije, Hemija 2014

Modul: Istraživanje i razvoj; Profesor hemije

Status predmeta: Izborni

Šifra predmeta: (H-222-B)

Semestar: I

Predmetni Profesori:

Prof. dr Ružica S. Nikolić

Doc. dr Nenad S. Krstić

Predmetni Asistent:

Doc. dr Nenad S. Krstić

BIOLOŠKI ZNAČAJ KALCIJUMA

RASPROSTANJENOST

- u Zemljinoj kori ga ima oko 2,6% (odmah posle aluminijuma i gvožđa).
- u obliku karbonata – krečnjak i kreda (CaCO_3),
- sulfata (CaSO_4),
- fosfata ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$)
- silikatnih minerala.

➤ Velike količine ovog elementa nalaze se u vodi u obliku rastvornih soli bikarbonata i sulfata.

➤ U biljnom svetu Ca ima u ćelijskim zidovima, posebno je uskladišten u stabljici i lišću.

- **Prirodni izvori Ca su:** mleko, mlečni proizvodi, badem, semenke, soja, kakao, lisnato zeleno povrće.
- **Ostali izvori su:** seme susama, morska riba, zeleno lisnato povrće, proizvodi od soje.
- **Najveći izvor Ca su** odgovarajući suplementi (kalcijumove soli).
- Ljudski organizam sadrži oko 1200 g na 70 kg prosečne mase odraslog čoveka.
- Potrebe za Ca zavise od uzrasta i posebnih fizioloških stanja.
- **Preporučene doze:** deca u period rasta oko 1-1,5 g dnevno, odrasli 1,0 g dnevno, trudnice i dojilje 1,3 g dnevno.

➤ Zastupljenost Ca u organizmu

- Oko 99% u čvrstim mineralnim tkivima (kostima, zubima),
- kao amorfni kalcijum-fosfat
- delom kao karbonat,
- beznačajne količine se nalaze u obliku drugih mineralnih soli deponovanih na organskom matriksu koji se sastoji od proteina, glikoproteina i proteoglikana.
- око 1% присутног Са налази се превасходно у крвној плазми и осталим меким ткивима.



Osobine Ca

➤ Prema fizičko-hemijskim osobinama i elektronskoj konfiguraciji:



Ca gradi pretežno jonska jedinjenja, od kojih su karbonati, fosfati, oksalati slabo rastvorne soli.

➤ Jon Ca^{2+} ima posebno **izražen afinitet prema kiseoniku** i preko ovog atoma ostvaruje interakcije u jonskim jedinjenjima.

➤ Kao „**tvrda**“ Lewiss-ova kiselina preko, O-donor atoma nekih biomolekula, gradi rastvorna kompleksna jedinjenja koja su prisutna u različitim biološkim tečnostima i tkivima.

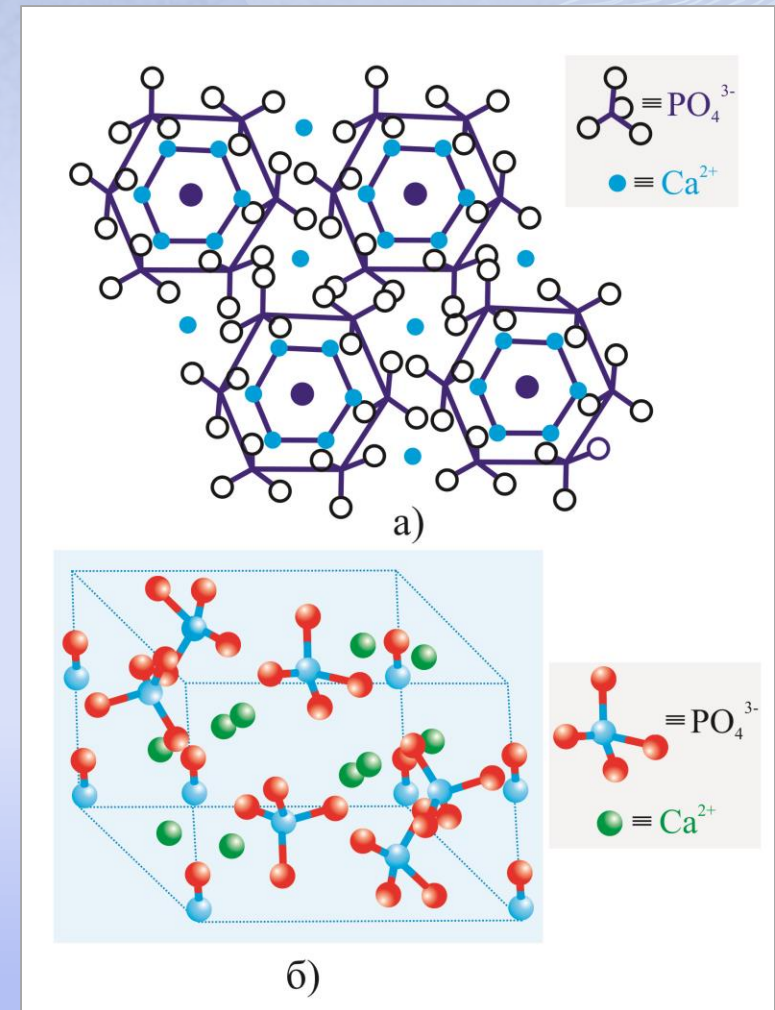
KALCIJUM U ORGANIZMU

- U ljudskom organizmu kalcijuma ima u svim tkivima i telesnim tečnostima.
- U kostima i zubima prisutan je kao skeletni materijal u obliku nerastvornih Ca-fosfata i Ca-karbonata.
- U krvnoj plazmi ima oko 2,2–2,7 mmol Ca po 1 dm³.
- Nedifuzabilni kalcijum vezan je pretežno za albumine, i u manjoj meri za gamaglobuline (45%).
- Difuzabilni kalcijum je u plazmi prisutan kao slobodan, jonizovan (47%) i oko 7% vezan sa citratima, fosfatima, laktatom i bikarbonatom.

➤ Neorganske komponente mineralnog tkiva čine sitni kristali biološkog apatita (kalcijum-hidroksiapatita) i amornog kalcijum-fosfata.

➤ Sastav apatita se izražava formulom $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{X}_2$ ali i $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{CO}_3$, u kojoj je $\text{X} \equiv \text{OH}^-$, ali može biti i F^- -jon.

➤ Apatit inače pripada sistemu heksagonalnih kristala u kojima su joni Ca^{2+} raspoređeni na dva načina: stubno i aksijalno (Slika 1).



Slika 1. Hidroksiapatit

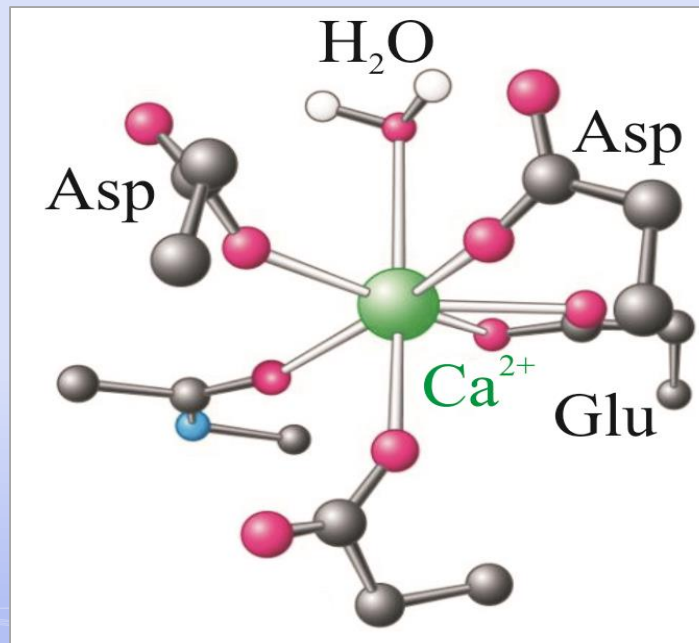
➤ *Uloga Ca u organizmu*, bez obzira što je u telesnim tečnostima prisutan manje od 10 g, je ogromna, učestvuje u regulisanju velikog broja ćelijskih aktivnosti, kao što su:

- **kontrakcija skeletnih mišića**, zatim srčanog mišića, krvnih sudova i svih nerava;
- **koagulacija krvi** (uz učešće jonskog Ca^{2+} plazme);
- **oslobađanje i sinteza hormona** idr.

➤ *Kalcijum kao koenzim učestvuje u:*

- **metaboličkim procesima**;
- **regulaciji transporta** kroz ćelijske membrane;
- **sintezi enzima** neophodnih za proces varenja.

- S obzirom da učestvuje u kontroli tako velikog broja procesa nazvan je „*drugi glasnik*“ (second messenger), koji posreduje reakcije ćelija na mnoge stimulanse.
- Koncentracija Ca u ćelijama je $1-2 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ i oko 100 puta je niža nego vanćelijska koncentracija. Delovanje kalcijuma u ćeliji vezano je za Ca-vezujući protein *kalmodulin*;



Slika 2. Ca^{2+} vezujuće mesto kalmodulina

RESORPCIJA KALCIJUMA

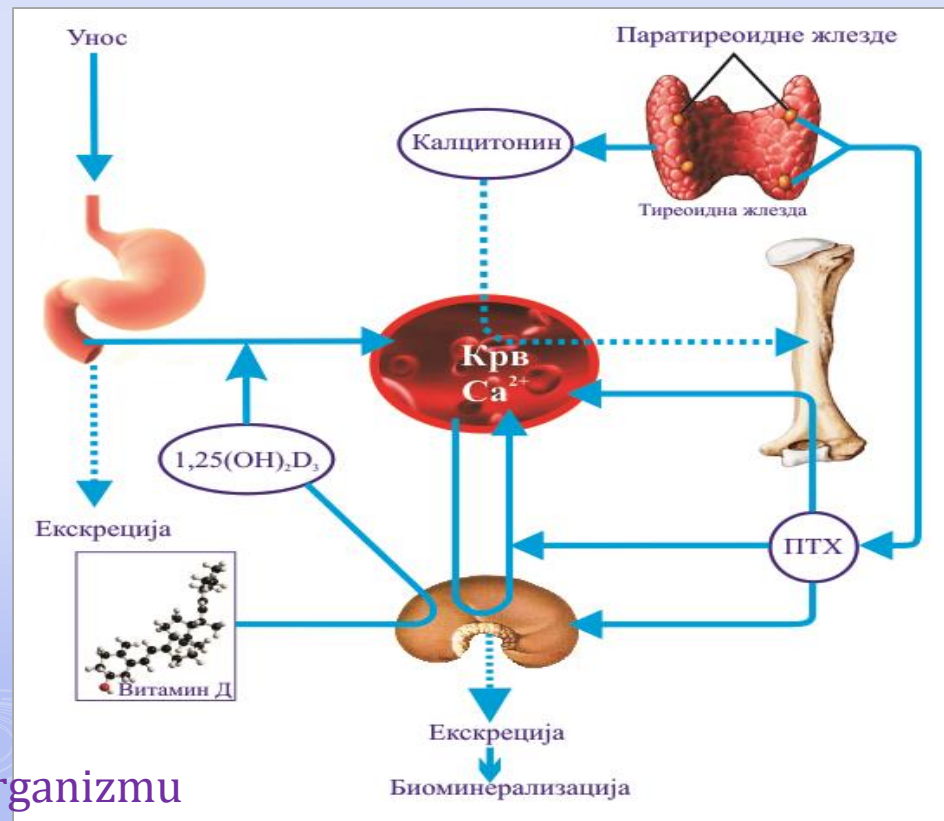
➤ Kalcijum se resorbuje u početnom delu tankog creva digestivnog trakta. Na obim njegove resorpcije utiče nekoliko činilaca:

- 1) pH želudačnog i crevnog soka.
- 2) Odnos kalcijum/fosfor u ishrani.
- 3) Fitinska kiselina, fitati, oksalati.
- 4) Masne kiseline.
- 5) Proteini hrane.
- 6) Ugljeni hidrati.

REGULACIJA METABOLIZMA KALCIJUMA

➤ U regulaciji koncentracije kalcijuma u ekstracelularnoj tečnosti, pre svega krvnoj plazmi, učestvuju tri hormona:

- 1) paratireoidni hormon (PTH)
- 2) kalcitriol (1,25- dihidroholekalciferol)
- 3) kalcitonin (CT).



Slika 3. Fluks kalcijuma u organizmu

BILANS KALCIJUMA

- u telu čoveka Ca sa oko 2% ukupne telesne težine.
- U organizmu čoveka se odvija vrlo intenzivan promet kalcijuma, tako da se sa pravom može govoriti o **njegovom bilansu**.
- Sudeći prema količini unetog i izlučenog kalcijuma preko digestivnog trakta i bubrega, bilans kalcijuma može biti **pozitivan, uravnotežen i negativan**.

- U slučaju pozitivnog bilansa određena količina kalcijuma se svakodnevno deponuje u kostima.
- Kod dece u rastu ova vrednost svakodnevno iznosi 0.1 g.
- Odrasle osobe imaju uravnotežen bilans
- Osobe starije od 50 godina imaju negativan bilans, jer više kalcijuma izlučuju nego što se deponuje.
- Zbog navedenog nastaje postupni gubitak koštanog tkiva, poznat pod nazivom **osteoporoza**.

ELIMINACIJA KALCIJUMA IZ ORGANIZMA

➤ Dva osnovna puta za eliminaciju kalcijuma iz organizma:

1) digestivni trakt (feces) i

2) urinarni trakt – bubrezi (urin).

Glavni put eliminacije su bubrezi, odnosno urin. Urin je praktično presićen jonima Ca^{2+} i fosfata, kao i kalcijum-fosfata. Ipak, do precipitacije ne dolazi, čak i kada ovaj sekret stoji duže vreme. Za ovo su odgovorne supstance koje sprečavaju precipitaciju pomenutih mineralnih sastojaka. To su **citrati, fosfati i sulfati** koji sa kalcijumom grade vrlo stabilne rastvorljive komplekse vezujući od 10-30% kalcijuma.

POREMEĆAJI METABOLIZMA KALCIJUMA

Hiperkalcijemija

Hiperkalcijemija je pojava većeg sadržaja kalcijuma u odnosu na normalnu vrednost u tkivima i organima u kojima se on nalazi.

Uzroci:

- Povećana apsorpcija Ca na nivou tankog creva zbog velikog unosa vitamina D
- Povećana koncentracija albumina krvne plazme usled stanja koja dovode do dehidratacije
- Povećana resorpcija Ca na nivou kostnog sistema zbog imobilizacije, ali i malignih tumora
- Povećana reapsorpcija Ca na nivou bubrega zbog bolesti, npr. Adisonova bolest.

Hipokalcijemija

Hipokalcijemija je pojava manjeg sadržaja kalcijuma u odnosu na normalnu vrednost u tkivima i organima u kojima se on nalazi.

Uzroci:

- smanjen unos Ca zbog neadekvatne ishrane i deficita vitamina D
- smanjeno oslobađanje Ca^{2+} -jona iz kostnog tkiva zbog nedostatka PTH
- vanskeletno odlaganje Ca usled akutnog pankreatitisa i hiperfosfatemije
- EDTA i citrati vezuju kalcijum
- Biomineralizacija, biomineralizacijom kostiju nastaje karbonatizovani apatit $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)(\text{CO}_3)_3]$

BIOLOŠKI ZNAČAJ MAGNEZIJUMA

RASPROSTRANJENOST Mg-a:

- u živim organizmima četvrti katjon (ljudski organizam: $\text{Ca} > \text{K} > \text{Na} > \text{Mg}$)
- drugi u hidrosferi (morska voda: $\text{Na} \text{ 450 mM} > \text{Mg}$ i $\text{Cl} \sim 50 \text{ mM} > \text{K} \sim 10 \text{ mM}$)
- šesti u litosferi 2.74% ($\text{O} > \text{Si} > \text{Al} > \text{Fe} > \text{Ca} > \text{Mg}$)

Dolomit $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$



Magnezit MgCO_3



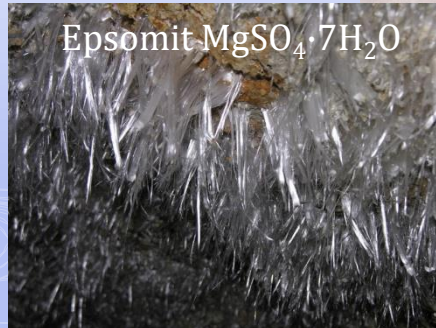
Karnalit $\text{KMgCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$



Epsomit $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$



Epsomit $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$



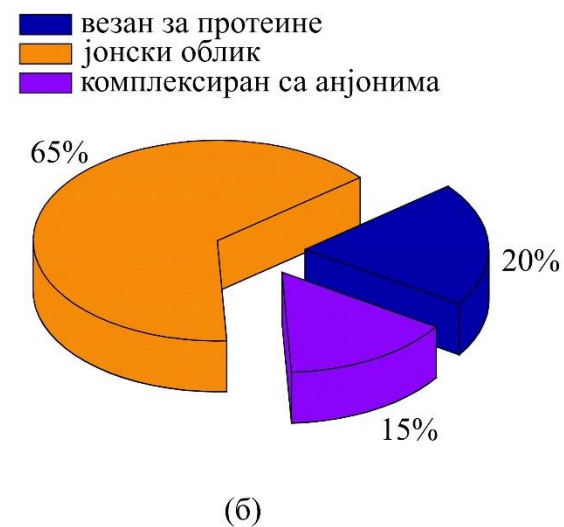
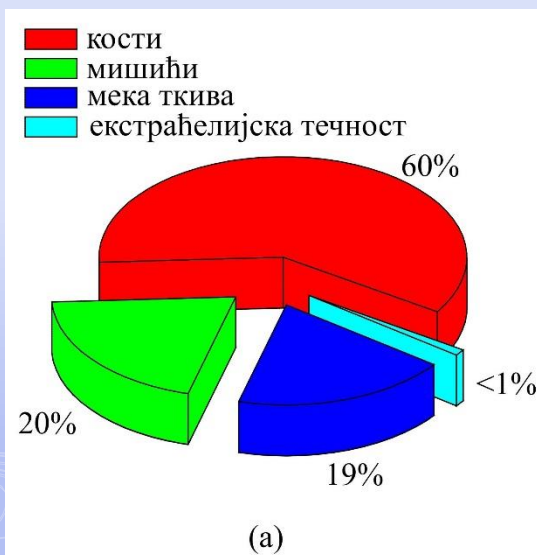
➤ Esencijalni element (učešće u širokom polju bioloških funkcija)

➤ Od ukupnog Mg:

- oko 65% ulazi u sastavu (mineralizacija) kostiju,
- 32% učestvuje u kompleksiranju sa nukleinskim kiselinama i proteinima,
- ostatak se nalazi u plazmi, kao i uskladišten u obliku drugih manjih formi.

➤ hlorofil – fotosinteza

➤ U biljkama oko 6% od ukupnog Mg je vezano za hlorofil.



Fizičko-hemijske osobine od kojih zavisi biološka funkcija Mg-a

1. Naelektrisanje jona

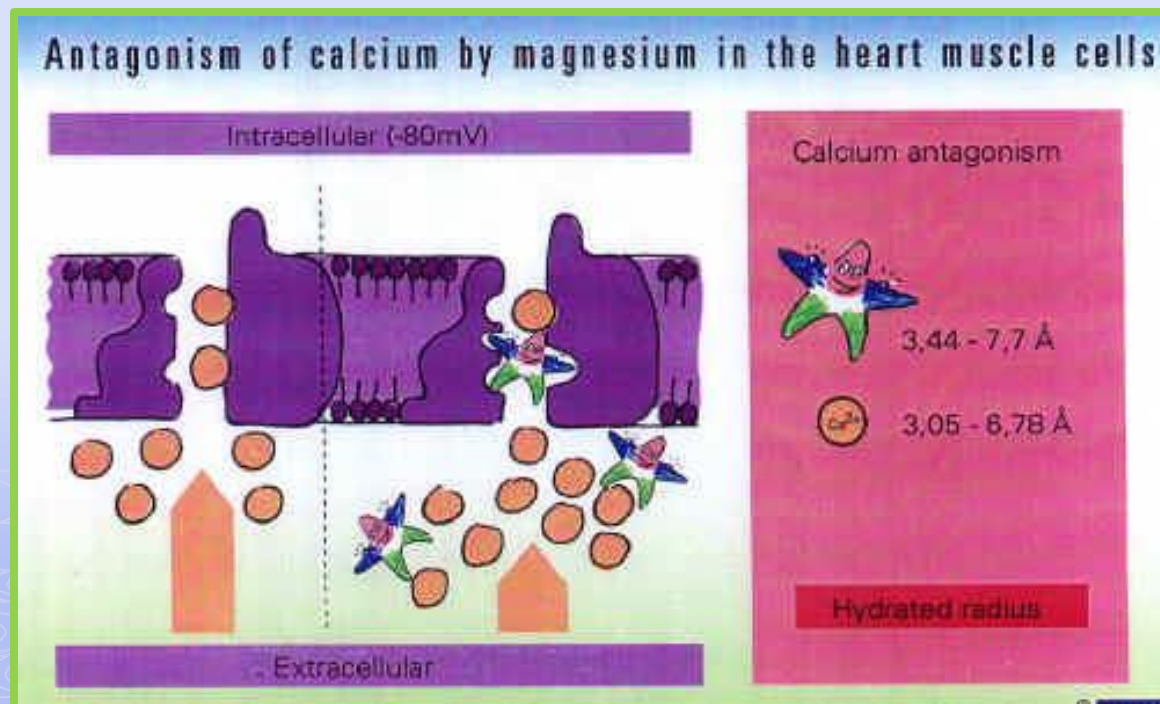
- Mg i Ca su pozitivno naelektrisani joni (+2)
- “takmiče” se za negativno naelektrisane molekule
- Pored ovih sličnosti između Mg^{2+} i Ca^{2+} postoje i određene razlike:
 - ✓ Mg pokazuje veći amfinitet za ligande koji kao donor atom imaju O, npr. negativno naelektrisani karboksilatni, fosfatni, enolatni joni.
 - ✓ Ca pokazuje veću konstantu izmene liganda (k_{ex}), i to reda veličine 10^9 nasuprot 10^5 s^{-1} za Mg.

2. Jonski radijus

- relativno mali jonski radijus (0.86 nasuprot 1.14 Å za Ca)

3. Hidrataciona energija (-1922 nasuprot -1592 kJ/mol za Ca)

- Na osnovu odgovarajućih radova na temu jonski radijus-hidratacija jona, pokazano je da je zapremina hidratisanog Mg^{2+} jona 400 puta veća od njegove jonske zapremine (nehidratisani oblik jona)



4. Koordinacioni broj i geometrija

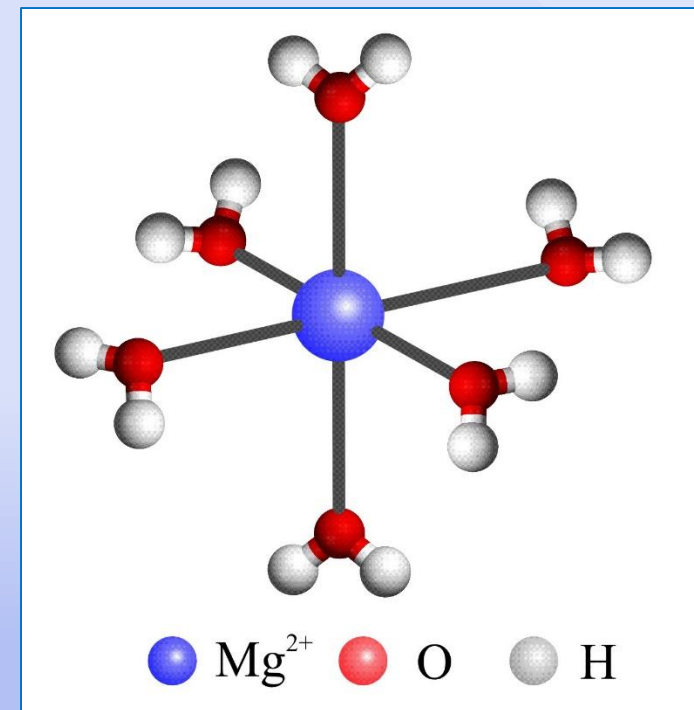
- Jon Mg^{2+} obično koordinira sa 6-7 molekula vode (kao npr. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ili $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
- Ca i Ba obično koordiniraju sa 2 ili 1 molekulom vode.

5. Izmenjivački kapacitet njegovih rastvora

- slabiji u odnosu na K^+ , Na^+ i Ca^{2+}

6. Transportni broj

- pokazuje prosečan broj molekula rastvarača koji se vezuju za katjon i koji mogu da se kreću (migriraju) sa katjonom.



➤ Na ćelijskom nivou reakcije “takmičenja” (kompeticije) odigravaju se ne samo između Mg i Ca, već i između Mg i protona ili amina (-NH_2^+).

➤ Protoni su obično javljaju u koncentracijama ne većim od 10^{-7} M na $\text{pH} = 7$. Međutim, protoni se vezuju za fosfatne centre pri $\text{pK}_a \sim 6.5$, što je značajno niža pK_a nego kod Mg – fosfat kompleksa.

➤ Ovo pokazuje da se Mg može izmeniti iz ATP-a u bilo koje vreme pri $\text{pH} 6.0$, prouzorkujući značajne modifikacije/izmene ovih reakcija koje zavise od Mg – ATP kompleksa:



- Poliamini, nastali iz amonijaka, jesu drugi primer kompetitora za Mg. Oni pokazuju veliki afinitet vezivanja za polianjone (npr. nukleinske kiseline), i oni mogu da zamene Mg u njima.
- Distribuciju Mg u intra i ekstra ćelijskom prostoru, kao i poređenje sa koncentracijama drugih metala prikazani su u sledećoj tabeli.

Табела 1. Дистрибуција појединих јона у ћелији [6]

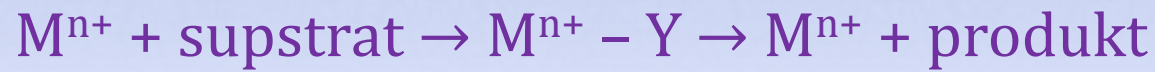
Јон	Концентрација [mmol/L]	
	Интраћелијски	Екстраћелијски
Na^+	10	145
K^+	140	5
Mg^{2+}	300	1
Ca^{2+}	1	4
H^+	5×10^{-4}	5×10^{-4}
Cl^-	4	110

Interakcija Mg sa enzimima

- Mnogi enzimi uključeni u puteve intermedijarnog metabolizma su Mg^{2+} zavisni, kao i veliki broj enzima uključenih u metabolizmu nukleinskih kiselina.
- Od 10 enzima koji ulaze u glikolitički put, 5 su Mg^{2+} zavisni (heksokinaza, fosfofruktokinaza, fosfoglicerat kinaza i piruvat kinaza) i enolaza.
- Mg^{2+} vezivanje za enzime može biti direktno kroz proteinsku stranu lanca ili peptida karbonila (**unutrašnja sfera**) ili preko indirektno interakcije preko metal-molekuli vode vezivanja (**spoljašnja sfera**).

➤ Osnovni način dejstva Mg kao kofaktora, može se prikazati sledećom šemom:

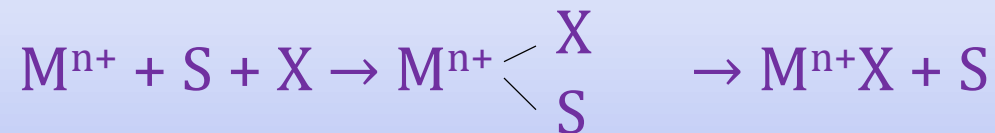
1) stabilizacija intermedijera:



2) stabilizacija produkt odlazeće grupe:



3) simultano vezivanje dva reaktivna supstrata i ubrzavanje reakcije efektom „neposredne blizine“



➤ Nekoliko primera Mg-enzim (ligand) interakcija dati su u sledećoj tabeli:

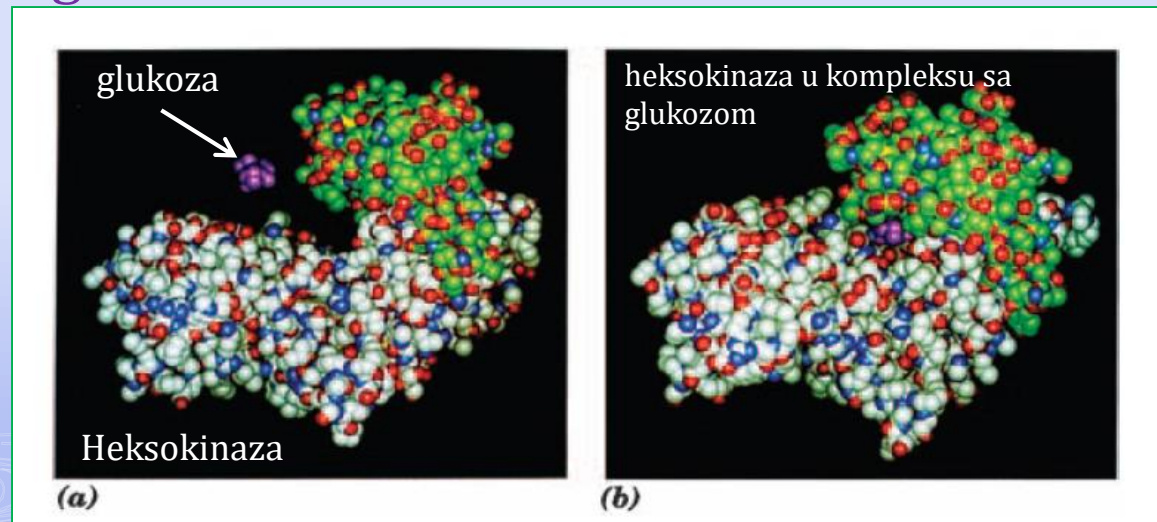
Table 2

Major classes of Mg-requiring enzymes (adapted from R.J.P. Williams, 1993)

Enzyme	Requirement
Kinases	ATP–Mg phosphate transfer
G-proteins	GTP–Mg phosphate transfer
Adenylate-cyclase	ATP–Mg substrate
ATPases	ATP–Mg substrate
Alkaline phosphatase	Mg binds and activates the enzyme
Enolase	Mg binds the enzyme
Isocytate lyase	Mg–isocytate substrate
Glutamine synthase	Mg in the enzyme
Methyl aspartate	Mg binds the enzyme
Pyrophosphatase	Mg bound to substrate
Xylose isomerase	Mg binds the enzyme
Ribulosephosphate carboxylase	Mg in the enzyme

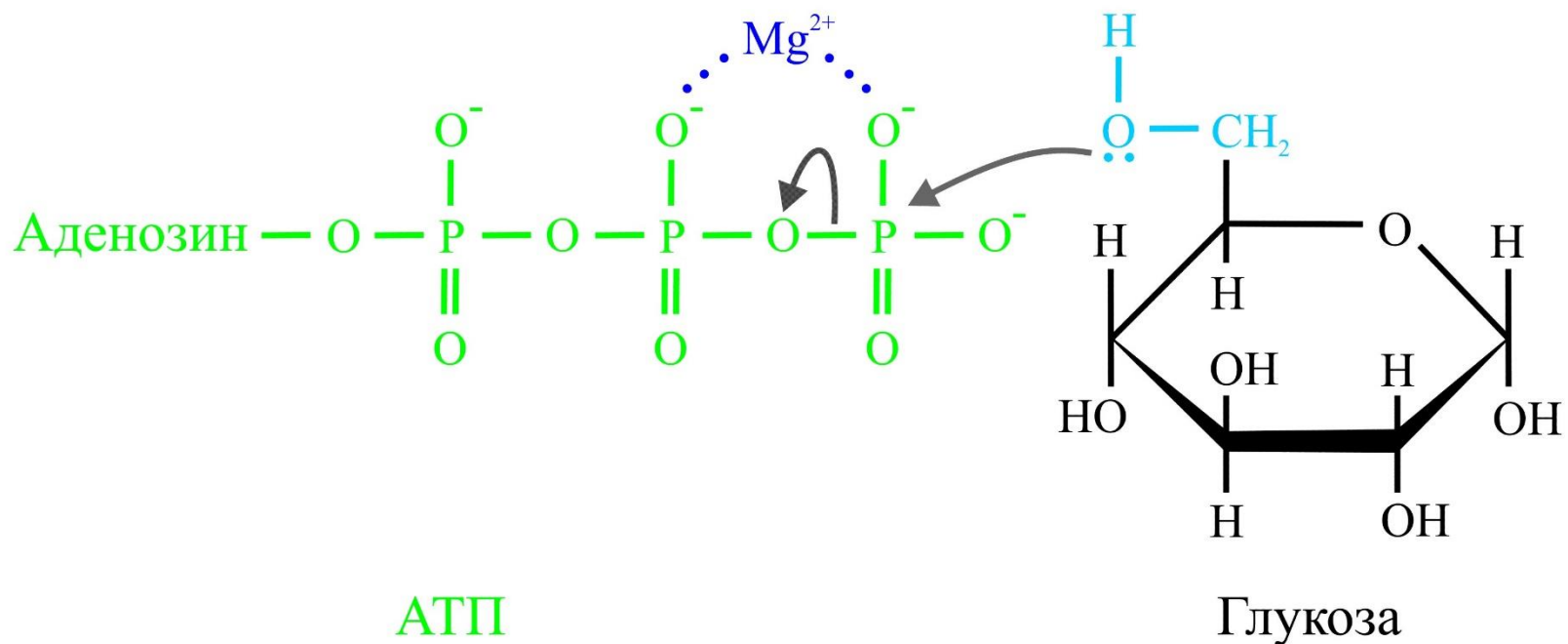
Kinaze

- Kinaze su „prirodni alati“ za uvođenje fosfatnih grupa u organske molekule, ponekad su to metaboliti kao npr. glukoza i fruktoza-6-fosfat u glikolitičkom putu.
- Donor fosforil grupe je Mg^{2+} -ATP kompleks.
- Heksokinaza katalizuje transfer fosforil grupe od Mg^{2+} - ATP na glukoza-6-fosfat i Mg^{2+} -ADP.



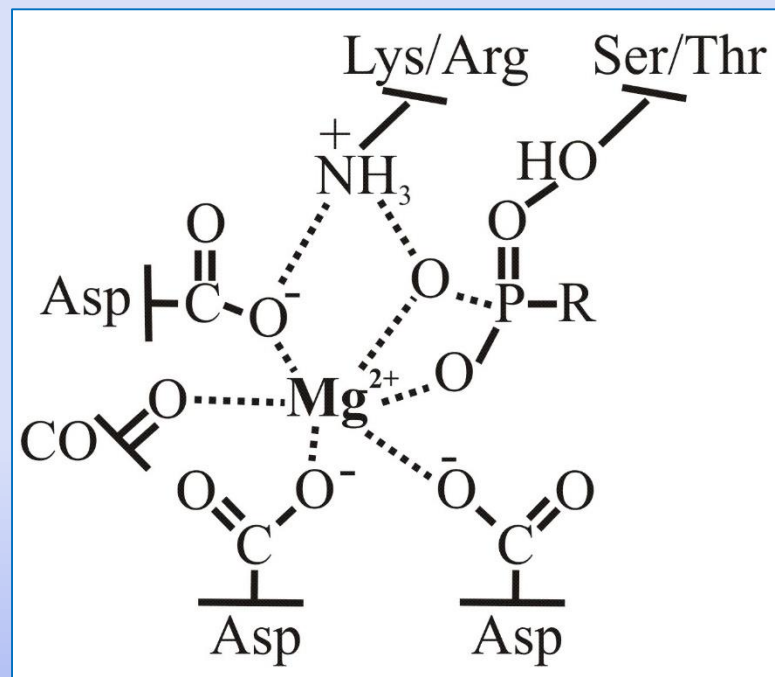
➤ Heksokinaza formira trojni kompleks sa glukozom i Mg^{2+} – ATP koji kao rezultat zatvaranja domena približava ATP C6-hidroksilnoj grupi glukoze.

Nukleofilni napad C6-OH grupe glukoze na γ -fosforni atom Mg^{2+} -ATP



Fosfataze

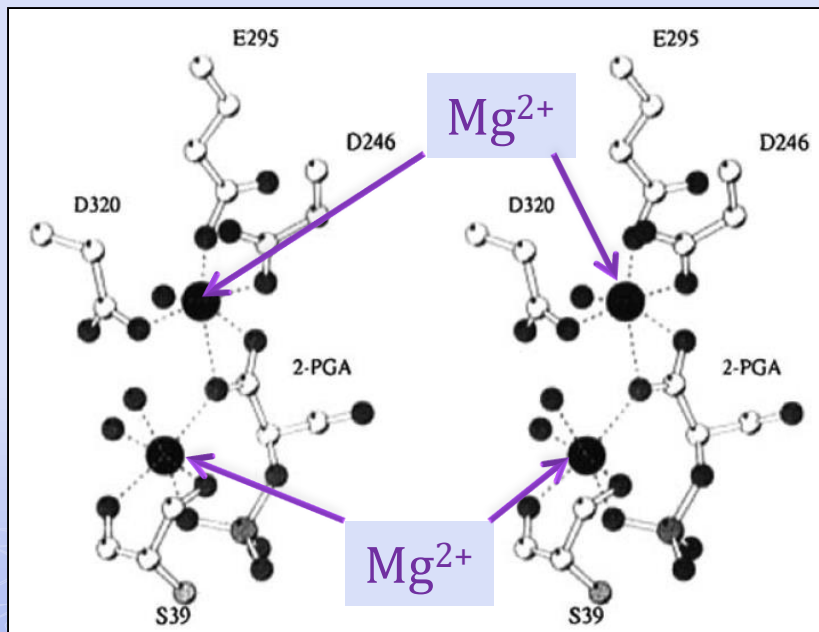
➤ Fosfataze katalizuju “uklanjanje” fosfatne grupe sa fosforilovanih metabolita kao što su glukozo-6-fosfat ili fruktozo-1,6-bifosfat u centralnim metaboličkim putevima, ili od proteina koji su prethodno fosforilovani protein kinazama.



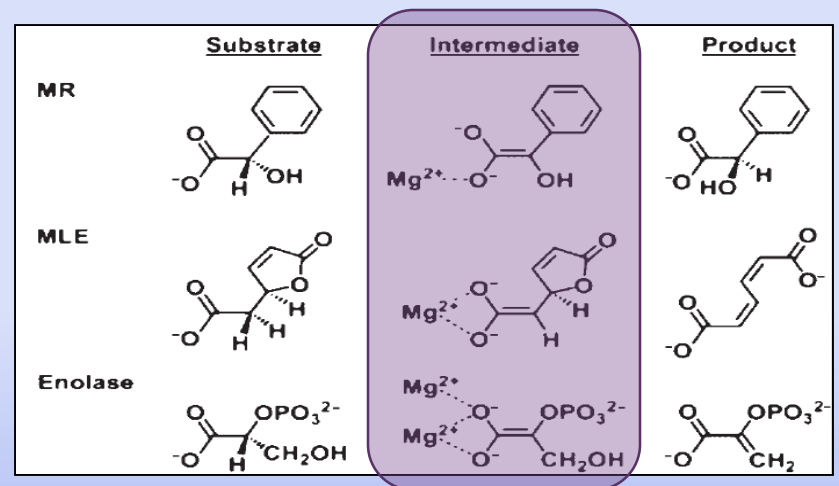
Katalitička aktivnost Mg^{2+} kod fosfataza

Enolaze

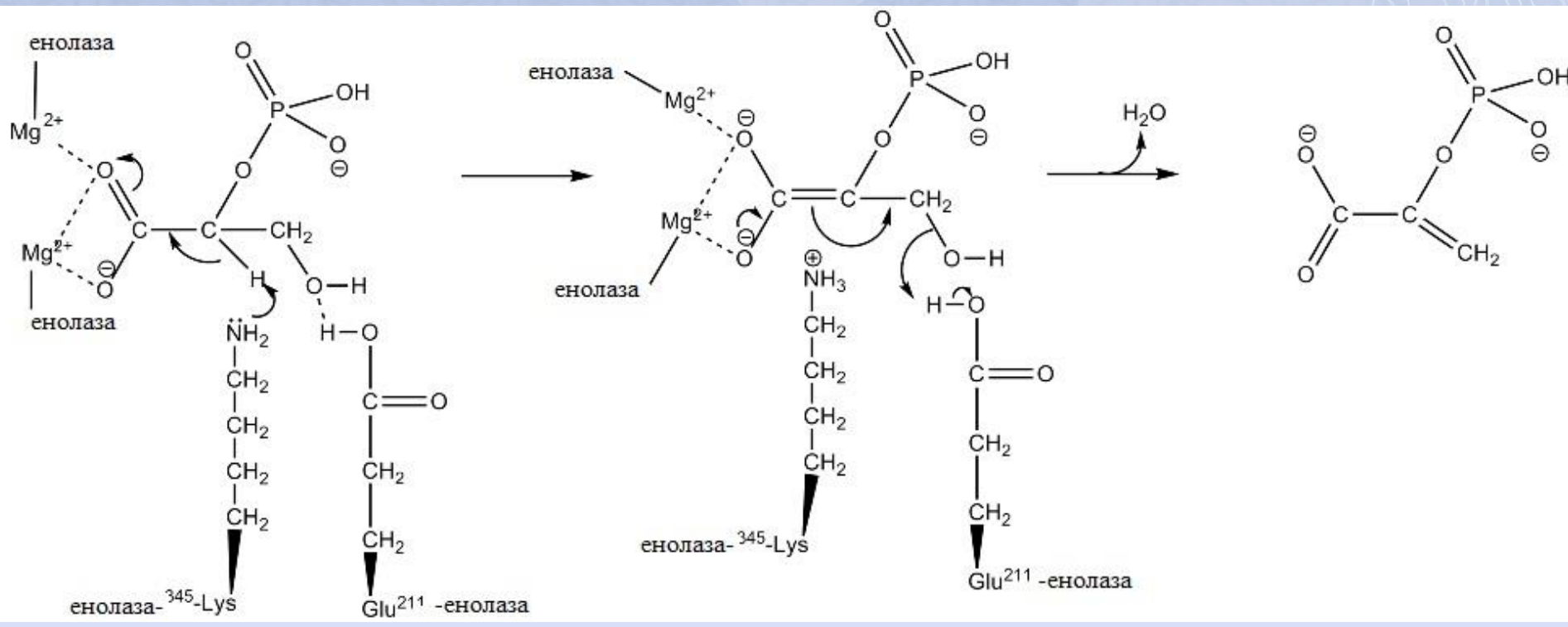
➤ rezultat dejstva enolaza dolazi do građenja enolatnog anjona kao intermedijera. Ovako nagrađeni intermedijer (enolatni anjon) je stabilizovan koordinacijom pomoću Mg^{2+} jona. Dalje se ovaj intermedijer usmerava ka različitim proizvodima.



Ilustracija koordinacije dva Mg^{2+} jona u enolazi- $(Mg^{2+})_2$ -2-PGA kompleksu



Supstrati, enolatni anjon intermedijeri i produkti mandelat racemaze (MR), mukonat lakton enzim (MLE)



Mehanizam dejstva enolaze: konverzija 2-fosfoglicerata u fosfoenolpiruvat

Interakcija sa nukleinskim kiselinama

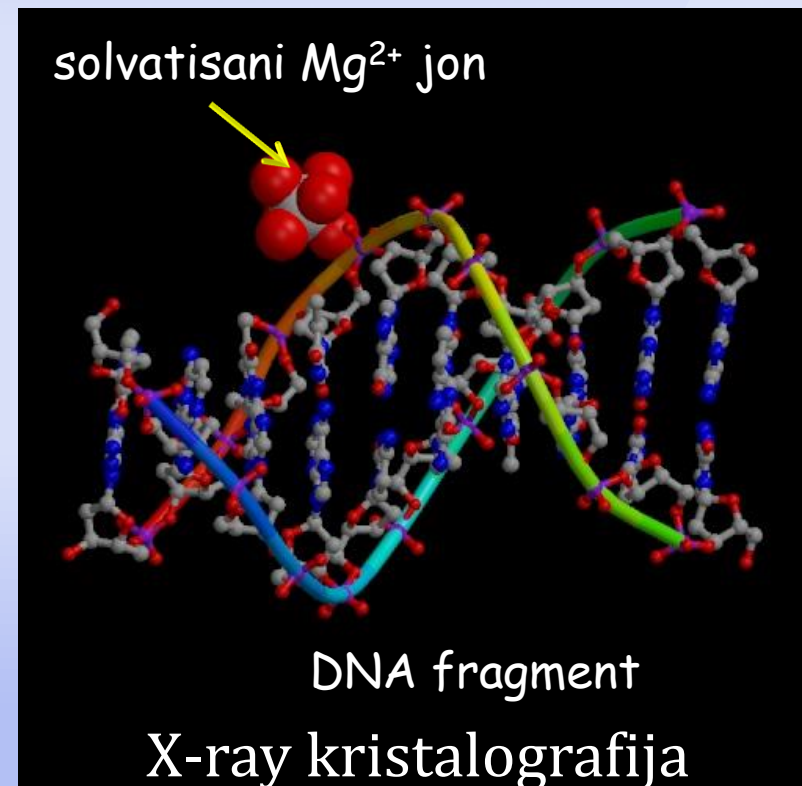
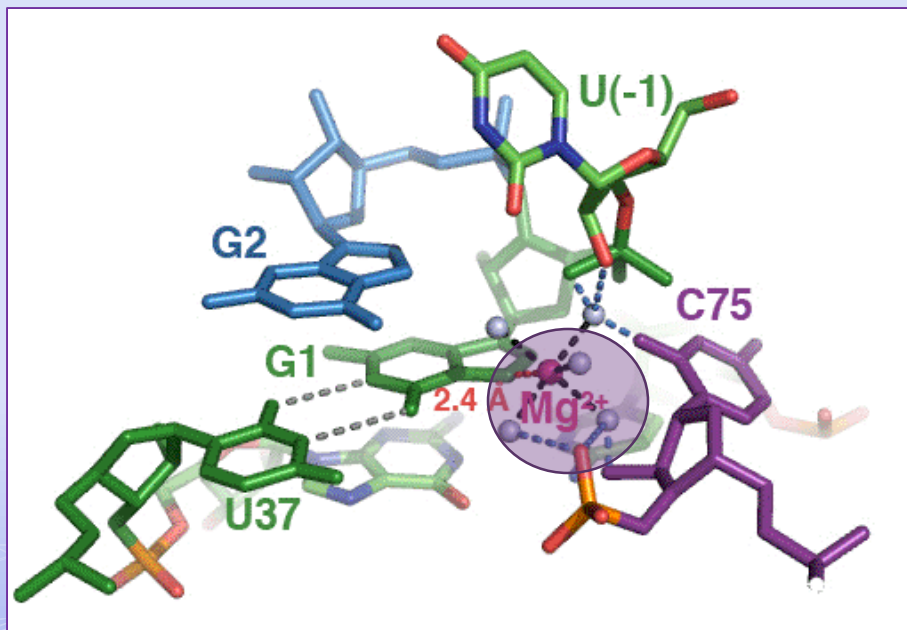
- Mg ima ulogu genskog regulatora i to kroz direktnu interakciju sa DNA, ali sa ishodom koji dalje još uvek nije rešen.
- Mg može učestvovati u „kompeticiji“ (takmičenju) sa poliaminima, koji su poznati kao regulatori ćelijskog ciklusa:



- Mg je esencijalan za funkciju nukleinskih kiselina (DNA, RNA), zato što on učestvuje u:

- ✓ *aktivaciji enzima* važnih za DNA održavanje (npr. obnavljanje egzonukleaza),
- ✓ *duplikaciji* (topoizomeraze II, polimeraz I)
- ✓ *transkripciji* (ribonukleaza H)

➤ Učešće Mg^{2+} jona sa molekulom RNA može se pokazati na primeru *Hepatitis Delta Virusa (HDV) ribozoma*. Aktivna strana ovog enzima sadrži citozin (C75) $pK_a = 6.5$ (kiselo-bazni katalitički mehanizam) za koju se veže Mg^{2+} .

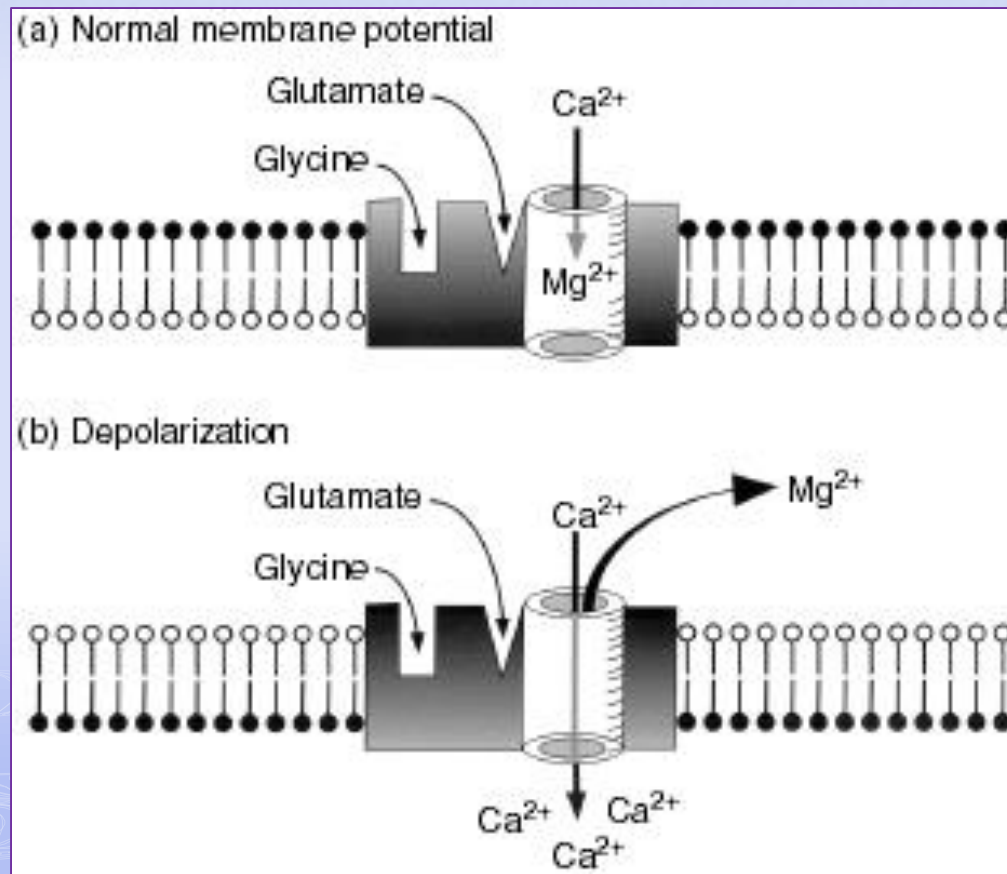


➤ I Mg i Ca joni stabilizuju biloške membrane **neutralizacijom** naelektrisanja posle unakrsnog povezivanja karboksilovanih ili fosforilovanih glava (glavnih grupa) lipida.

➤ Helatni agensi koji vezuju ove jone (EDTA) mogu poremetiti funkcije membrane.

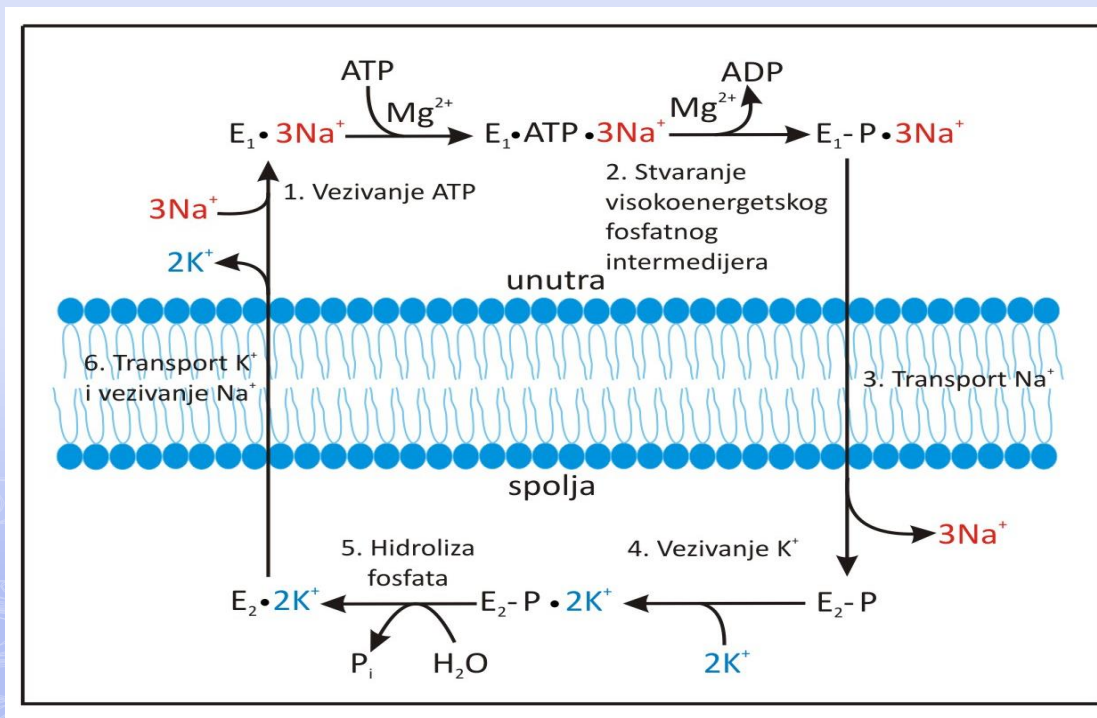
➤ U ovom kontekstu metalni jon takođe reguliše endo- i egzo- citozu uključujući fluidnost i stabilnost membrana.

➤ Katjoni vezani za membranu takođe povećavaju membransku permeabilnost za vodu, pomažu osmotsku regulaciju rastvora kroz membranu i inhibiraju hemijsku degradaciju Mg, Ca, Fe i Na se selektivno vezuju za ćelije membrane.



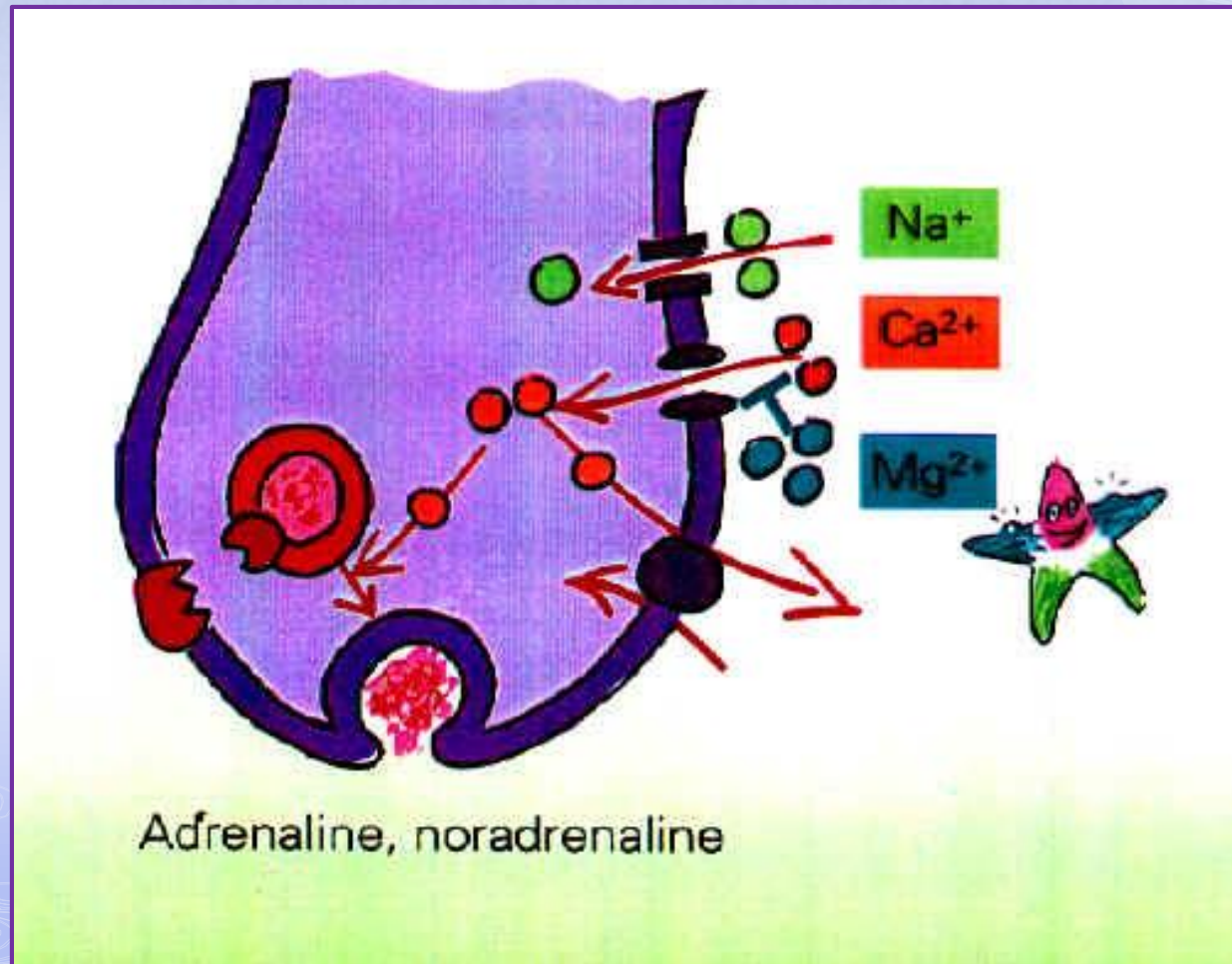
Uloga Mg u transportu kroz ćelijsku membranu

- Mg^{2+} ima ulogu u jednoj od faza primarnog aktivnog transporta kada se vrši fosforilacija enzima, odnosno vezivanje ATP-a za α -subjedinice.
- Za fosforilaciju enzima neophodno je prisustvo Mg^{2+} sa unutrašnje strane membrane.



Mg i nervne ćelije

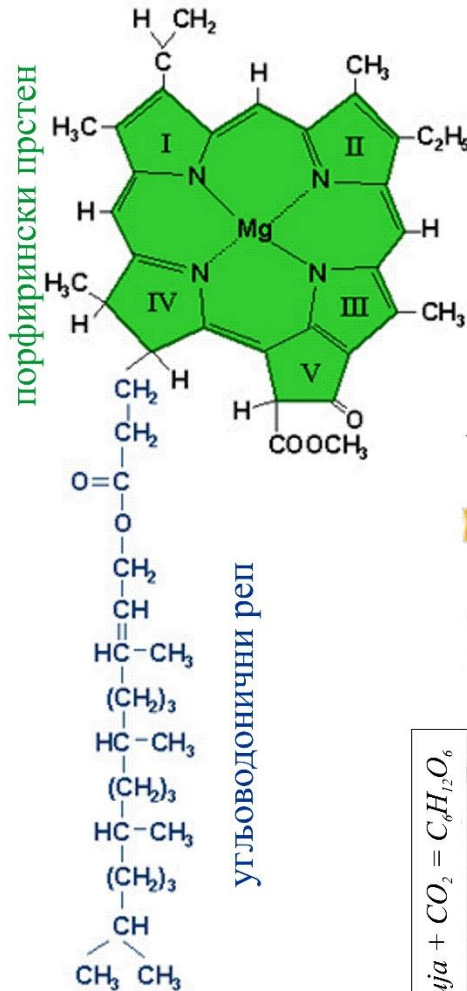
➤ Mg inhibira Ca u procesu induktivnog oslobađanja neurotransmitera na nivou nervnih ćelija tj., na nivou membrana presimpatičkog nervnog sistema.



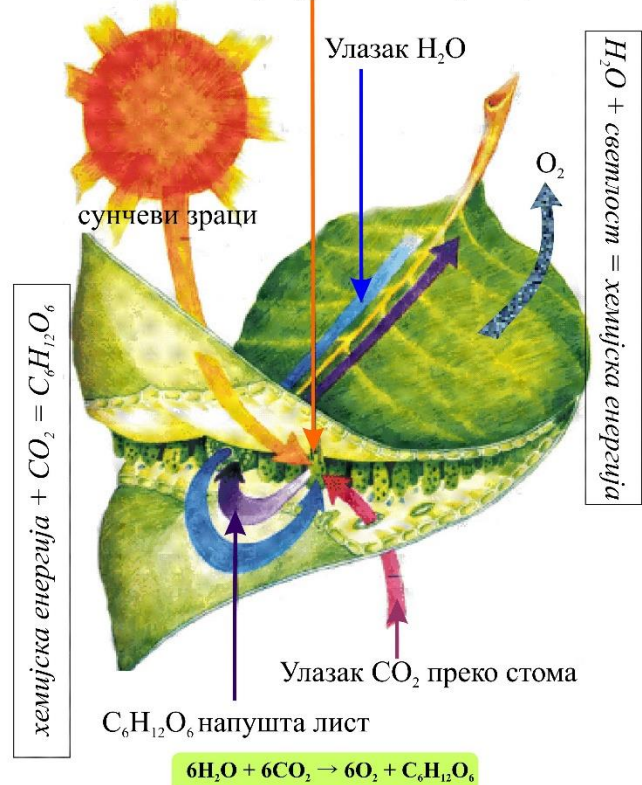
Hlorofil

➤ Hlorofil je dobar fotoreceptor jer sadrži nezasićene dvostruke veze (polien).

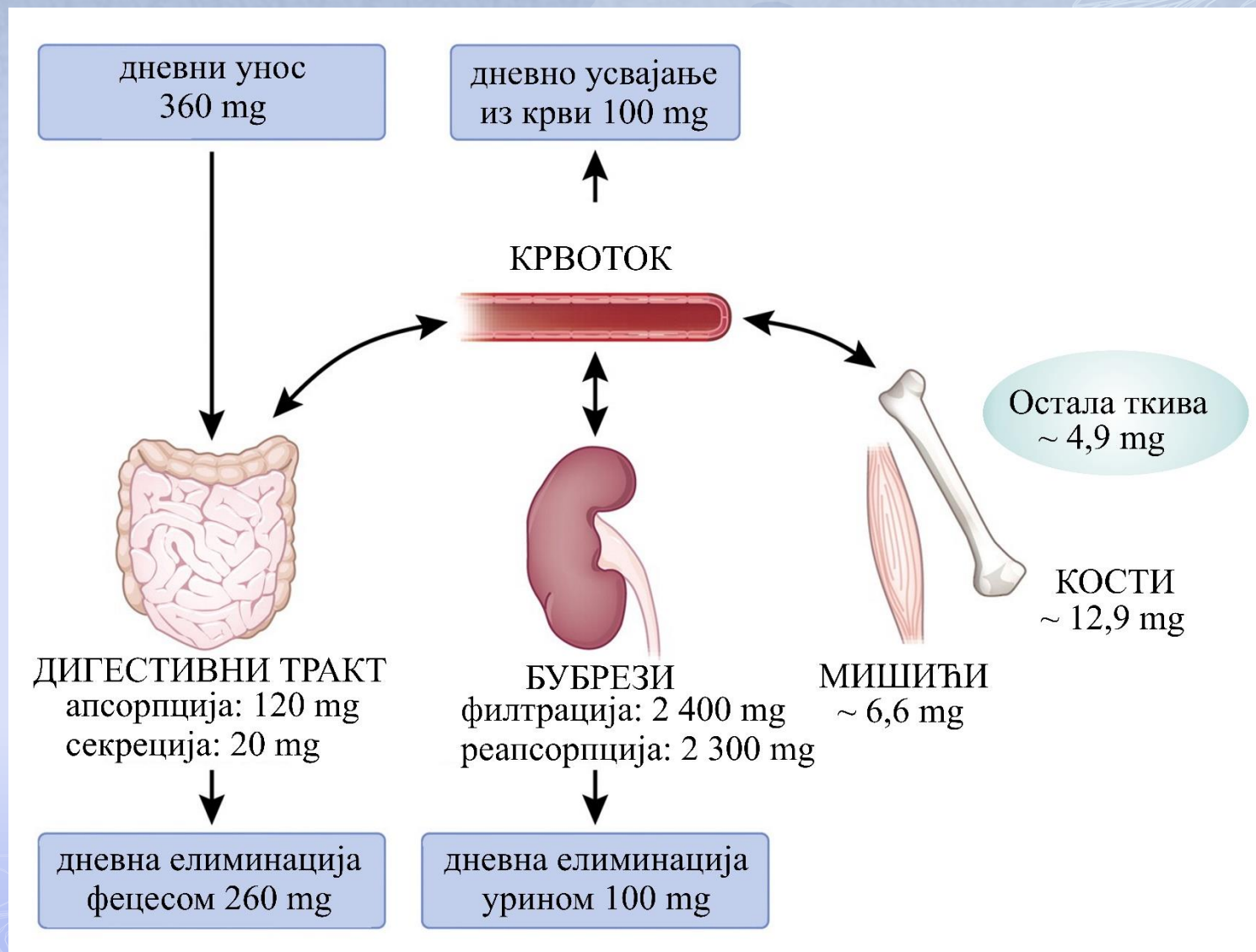
➤ Ima veoma jaku moć apsorpcije u vidljivom delu spektra, kada je zračenje sunca najveće.



Апсоррсија енергије светлости у хлоропластима



Mg u metabolizmu



Homeostaza magnezijuma u organizmu

➤ Resorpcija Mg-a se smanjuje usled prisustva veće količine:

- Zn
- Ca
- vitamina D
- proteina
- fosfata

Mg učestvuje u metabolizmu:

- tiamina (vitamin B₁)
- vitamina C
- piridoksina (vitamin B₆)

Poremećaji usled nedostatka Mg

- kardiovaskularne bolesti
- diajabetes
- osteoporoza
- migrene
- astma
- nedostatak energije u organizmu

Mg u terapiji nekih bolesti

- **srčani udar** – povećava stvaranje energije, sprečava agregaciju trombocita, vazodilatator
- **srčane aritmije**
- **angina**
- **kardiomiopatija**
- **dijabetes** – povećava toleranciju na glukozu i na aktivnost insulina.
“Štiti” organizam od komplikacija koje se javljaju u dijabetesu, npr. bolesti srca i očiju.
- **astma** – kao relaksant bronhijalnih glatkih mišića
- **osteoporoza**

Zaključak Mg

