

DAMPAK KADMIUM DAN MERKURI TERHADAP METABOLISME KARBOHIDRAT: KAJIAN IN SILICO PADA ENZIM GLIKOGEN SINTASE DAN FOSFOFRUKTOKINASE

**Azka Lahdimawan¹, Siti Arika Bulan¹, Eko Suhartono^{2*},
Bambang Setiawan²**

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

²Departemen Biokimia dan Biomolekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas
Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Indonesia

*Email: ekoantioxidant@gmail.com

Artikel diterima: 27 November 2021; Disetujui: 15 Maret 2022

DOI: <https://doi.org/10.36387/jiis.v7i1.836>

ABSTRAK

Kadmium (Cd) dan Merkuri (Hg) adalah logam berat dengan sitotoksitas tinggi, berimplikasi sebagai penyebab peradangan kronis, stres oksidatif, obesitas, hiperglikemia, dan bahkan diabetes. Paparan jangka panjang Cd dan Hg dapat mempengaruhi enzim yang terlibat dalam metabolisme karbohidrat, pada proses glikolisis dan glikogenesis. dengan mengubah struktur dan aktivitas enzimatis protein yang dapat menyebabkan efek toksik pada enzim yang terlibat didalamnya termasuk glikogen sintase (GS), yang dapat menyebabkan penipisan kandungan glikogen dan berpotensi membatasi proses glikolisis di hati dan otot dengan menurunkan fosfofruktokinase (PFK) aktivitas enzim. Belum banyak penelitian yang menjelaskan interaksi antara Cd dan Hg pada enzim GS dan PFK. Untuk itu, penelitian ini dilakukan dengan menggunakan in silico. Struktur enzim diperoleh dari RCSB Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org>) dengan kode berikut, GS (PDB ID: 1RZV) dan PFK (PDB ID: 4WLO). Interaksi antara Cd dan Hg dengan enzim ini digunakan oleh MIB: prediksi situs Pengikat Ion Logam dan server docking (<http://bioinfo.cmu.edu.tw/MIB/>). Interaksi antara Cd dan asam amino dari protein target divisualisasikan pada UCSF Chimera 1.14. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Hg berinteraksi dengan residu asam amino pada tapak aktif enzim glikogen sintase pada ujung domain terminal-C, yakni pada 3 residu sistein Cys 295, cys 366, dan cys 390. Semetara itu Cd dan Hg tidak berinteraksi dengan residu asam amino pada sisi aktif enzim fosfofruktokinase, tetapi berinteraksi pada struktur protein penyusun enzim.

Kata kunci: Kadmium, Fosfofruktokinase, Glikogen sintase, Merkuri, Metabolisme karbohidrat

ABSTRACT

Cadmium (Cd) and Mercury (Hg) is a heavy metal with high cytotoxicity, implicated as causes of chronic inflammation, oxidative stress, obesity, hyperglycemia, and even diabetes. The long-term exposure of Cd and Hg can affect enzymes involved in carbohydrate metabolism, on the process of glycolysis and

glycogenesis. by changing the structure and enzymatic activity of proteins which can cause toxic effects on enzymes involved therein including glycogen synthase (GS), which can cause glycogen content depletion and has potential to limit the glycolysis process in liver and muscles by decreasing the phosphofructokinase (PFK) enzyme activity. There are not many studies that explain the interactions between Cd and Hg on GS and PFK enzymes. For this reason, this research was carried out using in silico. The structure of the enzymes was obtained from the RCSB Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org>) with the following code, GS (PDB ID: 1RZV) and PFK (PDB ID: 4WLO). The interactions between Cd and Hg with these enzymes were used by MIB: Metal Ion-Binding site prediction and docking server (<http://bioinfo.cmu.edu.tw/MIB/>). The interactions between Cd and amino acids of targeted protein were visualized on UCSF Chimera 1.14. The results showed that Hg interacted with amino acid residues at the active site of the glycogen synthase enzyme at the end of the C-terminal domain, namely at 3 cysteine residues Cys 295, cys 366, and cys 390. Meanwhile, Cd and Hg did not interact with amino acid residues. on the active site of the phosphofructokinase enzyme, but interacts with the protein structure of the enzyme.

Keywords: Cadmium, Carbohydrate metabolism, Glycogen synthase, Mercury, Phosphofructokinase

PENDAHULUAN

Logam berat merupakan logam yang memiliki nomor atom 21 hingga 92 pada sistem periodik. Kadmium (Cd) dan Merkuri (Hg) termasuk logam berat dapat menjadi penyebab peradangan kronis, stres oksidatif, obesitas, hiperglikemia, diabetes dan lain-lain (Chen, *et al.*, 2009).

Kadmium dapat mengganggu penyerapan kalsium, mempengaruhi homeostasis glukosa dan menginduksi hiperglikemia. Sementara itu, merkuri (Hg) memiliki terbukti memiliki efek buruk pada perkembangan dan fungsi sel beta pankreas (β), mengakibatkan

resistensi insulin dan hiperglikemia dan bahkan dapat mengarah pada diabetes (Schumacher, 2017; Tsai, *et al.*, 2019))

Kadmium (Cd) dan Merkuri (Hg) bekerja melalui pengikatan gugus sulfhidril pada protein enzim, mengubah struktur enzim sehingga aktivitasnya akan menurun bahkan tidak aktif. (Jeon, *et al.*, 2015). Patomekanisme keterlibatan Cd dan Hg sebagai diabetes masih belum sepenuhnya diketahui. Kadmium dan Merkuri diduga terlibat dalam metabolisme karbohidrat melalui glikolisis dan glikogenesis. (Palm, *et al.*, 2013). Meski demikian,

mekanisme pengikatannya masih belum diketahui. (Ramírez-Bajo, 2014). Oleh karena itu, pada penelitian ini akan diungkap interaksi Cd dan Hg terhadap enzim-enzim yang terlibat dalam metabolisme glukosa, yakni enzim glikogen sintase dan fosfofruktokinase.

METODE PENELITIAN

Persiapan Ligan dan Protein

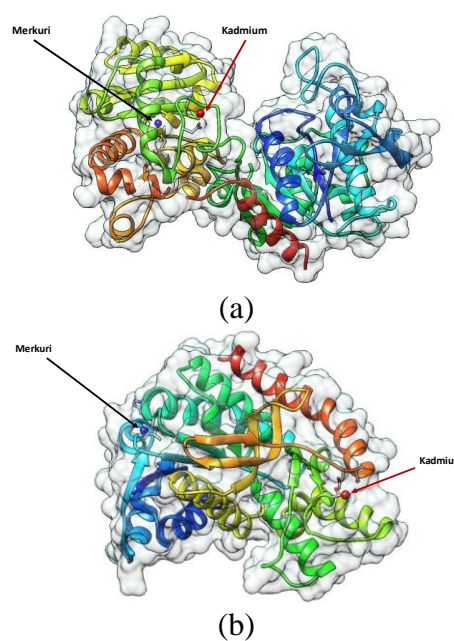
Protein enzim diperoleh dari RCSB Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/search>), yakni enzim glikogen sintase dengan kode PDB: 1RZV dan enzim fosfofruktokinase dengan kode PDB: 4WLO. Protein disiapkan dengan menghilangkan residu ligan alami yang ada dalam protein. Persiapan ligan dan protein digunakan oleh program Chimera 1.15 (<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/download.html>).

Analisis dan Visualisasi

Analisis interaksi logam dan enzim digunakan MIB: Metal Ion-Binding site prediction (<http://bioinformatics.cmu.edu.tw/MIB/>). dan visualisasi hasil docking menggunakan program Chimera 1.14

(<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/download.html>). (Komari, *et al.*, 2020)

HASIL DAN PEMBAHASAN



Gambar 1. Interaksi dengan logam Kadmium dan Merkuri pada (a) enzim Glikogen sintase (PDB: 1RZV) dan (b) enzim Fosfofruktokinase (PDB: 4WLO)

Hasil analisis dari jenis interaksi, panjang ikatan, jenis residu asam amino dan residu asam amino dengan *binding score* tertinggi pada *website* MIB yang didapatkan dari penambatan logam Cd dan Hg terhadap enzim glikogen sintase (1RZV) fosfofruktokinase (4WLO). Interaksi antara Cd dan Hg terhadap enzim glikogen sintase dan fosfofruktokinase dapat dilihat pada

Gambar 1, sedangkan interaksinya disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan gambar 1 dan 2, terlihat bahwa Cd dan Hg menempati posisi yang berbeda dari tapak aktif dari masing-masing enzim. Jika dilihat dari tabel 1, Hg berinteraksi lebih banyak pada enzim glikogen sintase dibandingkan Cd. Sementara itu, Cd dan Hg memiliki potensi yang sama dalam berinteraksi dengan

enzim fosfofruktokinase. Pada tabel 1 juga menunjukkan binding score Hg lebih besar daripada Cd pada enzim glikogen sintase. Hal ini berarti kebolehdadian Hg terikat pada residu asam amino lebih besar daripada Cd. Sementara itu, Cd dan Hg memiliki potensi yang sama dalam pengikatan pada residu asam amino enzim fosfofruktokinase.

Tabel 1. Interaksi Cd dan Hg terhadap enzim glikogen sintase dan fosfofruktokinase

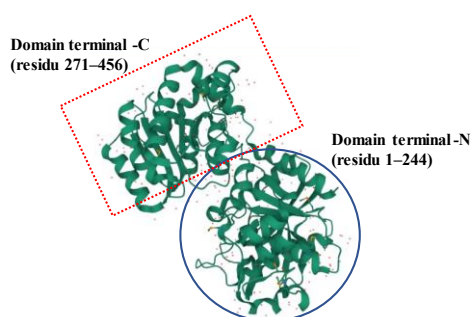
Logam Berat	Enzim	Residu Asam Amino	Jarak	Interaksi	Binding Score
Kadmium	Glikogen sintase (1RZV)	ASN 264	2.203 Å	Ikatan kovalen koordinasi	1.734
		ASP 263	7.001 Å	Ikatan hidrofobik	
	Fosfofruktokinase (4WLO)	SER 309	3.461 Å	Ikatan hidrofobik	7.908
		GLU 312	2.424 Å	Ikatan kovalen koordinasi	
Merkuri	Glikogen sintase (1RZV)	CYS 295	2.296 Å	Ikatan Kovalen Koordinasi	1.136
		CYS 366	3.780 Å	Ikatan Hidrofobik	6.562
		CYS 390	2.708 Å	Ikatan Kovalen Koordinasi	6.562
	Fosfofruktokinase (4WLO)	HIS 131	5.877 Å	Ikatan Hidrofobik	6.562
		CYS 132	2.941 Å	Ikatan Kovalen Koordinasi	6.562

Metabolisme karbohidrat meliputi glikolisis, glikogenesis, glikogenolisis, dan glukoneogenesis. Glikolisis adalah jalur pemecahan glukosa menjadi piruvat dalam keadaan aerob atau asam laktat dalam keadaan anaerob, sedangkan glikogenesis adalah proses penyimpanan glukosa. Glikogen

dapat dengan cepat dipecah untuk menghasilkan glukosa yang diatur oleh enzim glikogen sintase. Enzim-enzim tersebut dapat berinteraksi dengan logam berat dan berikatan dengan sisi aktif maupun dengan sisi alosterik enzim. (Mul, *et al.*, 2015)

Enzim glikogen sintase memiliki dua situs pengikatan

substrat akseptor yang berbeda (gambar 2), dua domain lipatan tersebut dinamakan lipatan Rossmann (*Rossmann-fold*). Pada domain ini terdiri dari situs katalitik dan situs pengikatan polisakarida, yaitu domain terminal-N (residu 1–244) dan domain terminal-C (residu 271–456) dengan celah yang dalam di antara kedua domain sebagai pusat katalitik. (Buschiazzo, *et al.*, 2004; Martz, 2021).



Gambar 2. Situs pengikatan substrat pada enzim glikogen sintase

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa Hg berinteraksi dengan residu tapak aktif enzim glikogen sintase pada ujung domain terminal-C, yakni pada 3 residu sistein Cys 295, cys 366, dan cys 390. Interaksi Hg dengan situs katalitik enzim glikogen sintase, menyebabkan tidak penghambatan pertautan $\alpha(1\rightarrow4)$ di dalam glikogen, sehingga

terjadi penumpukan glukosa di dalam darah. Selain itu, enzim glikogen sintase berperan dalam elongasi rantai glukosa yang ada di dalam sel hepar, sehingga inaktivasi enzim ini menyebabkan produksi glikogen menurun dan glukosa menumpuk. Penumpukan glukosa menyebabkan hiperglikemia yang dapat memicu diabetes.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Sabir et al (2019) yang menyatakan bahwa logam memiliki afinitas yang tinggi sehingga dapat mempengaruhi struktur enzim. Sisi aktif enzim yang mengandung gugus sulfhidril dari residu sistein akan mengikat secara kovalen dengan logam. Afinitas tinggi merkuri untuk gugus sulfhidril dari situs katalitik enzim adalah motif utama yang umum diketahui dalam inaktivasi enzim. (Xu, *et al.*, 2014)

Pada struktur enzim fosfofruktokinase, situs ATP terletak di antara heliks (residu 102-108) dan permukaan lingkaran antara heliks 3 dan 4 (residu 72-77). Ada tiga situs pengikatan ligan per subunit, yakni dua membentuk situs aktif (mengikat fruktosa-6-fosfat dan ATP) dan satu

situs pengikatan alosterik, diantaranya ASP 127 dan ARG 171 (Evans, *et al.*, 1981). Pada penelitian ini, Cd dan Hg tidak berinteraksi dengan residu asam amino pada sisi aktif enzim, tetapi berinteraksi pada struktur protein penyusun enzim. Perubahan struktur enzim fosfofruktokinase diduga dapat mengganggu aktivitas katalitik enzim tersebut. Enzim ini mentransfer gugus fosfat dari ATP untuk membentuk fruktosa-1,6-bisfosfat (Kloos *et al.*, 2015). Penelitian Suhartono *et al.* (2021), yang menyatakan bahwa Hg lebih reaktif dibandingkan Cd pada enzim-enzim reaksi glikolisis, karena merkuri memiliki jari-jari atom yang lebih besar daripada kadmium. Afinitas pengikatan Hg terhadap sistein lebih tinggi dibandingkan Cd terhadap asparagin (Asn) dan asam aspartat (Asp). Hal ini menunjukkan peran reaktivitas tiol yang lebih tinggi dalam toksisitas Hg (Roos, *et al.*, 2010).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, disimpulkan bahwa Hg berinteraksi dengan residu asam amino pada

enzim glikogen sintase pada ujung domain terminal-C, yakni pada 3 residu sistein Cys 295, cys 366, dan cys 390. Semetara itu Cd dan Hg tidak berinteraksi dengan residu asam amino pada sisi aktif enzim fosfofruktokinase, tetapi berinteraksi pada struktur protein penyusun enzim.

DAFTAR PUSTAKA

- Buschiazzo A, Ugalde JE, Guerin ME, Shepard W, Ugalde RA, Alzari PM. Crystal structure of glycogen synthase: Homologous enzymes catalyze glycogen synthesis and degradation. *EMBO J*. 2004;23(16):3196–205.
- Chen YW, Yang CY, Huang CF, Hung DZ, Leung YM, Liu SH. Heavy metals, islet function and diabetes development. *Islets*. 2009; 1(3):169-76
- Evans, P. R., Farrant, G. W., Hudson, P. J., Britton, H. G., Phillips, D. C., Blake, C. C. F., & Watson, H. C. (1981). Phosphofructokinase: structure and control. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 293(1063), 53-62. doi:10.1098/rstb.1981.0059
- Jeon JY, Ha KH, Kim DJ. New risk factors for obesity and diabetes: Environmental chemicals. *J Diabetes Investig*. 2015;6(2):109–11.

- Kloos M, Brüser A, Kirchberger J, et al. Crystal structure of human platelet phosphofructokinase-1 locked in an activated conformation. *Biochemical Journal*. 2015;469(3):421-32.
- Komari N, Suhartono E. Cadmium binding to antioxidant enzymes: In silico study. *IOP Conf Ser Mater Sci Eng*. 2020;980(1).
- Martz E. Demonstration : Noncovalen bond finder. *Molviz Organization*. 2021.
- Mul JD, Stanford KI, Hirshman MF, Goodyear LJ. Exercise and Regulation of Carbohydrate Metabolism. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2015;135:17–37.
- Palm DC, Rohwer JM, Hofmeyr JHS. Regulation of glycogen synthase from mammalian skeletal muscle - A unifying view of allosteric and covalent regulation. *FEBS J*. 2013;280(1):2–27.
- Ramírez-Bajo MJ, de Atauri P, Ortega F, et al. Effects of cadmium and mercury on the upper part of skeletal muscle glycolysis in mice. *PloS one*. 2014;9(1):e80018.
- Roos DH, Puntel RL, Lugokenski TH, Ineu RP, Bohrer D, Burger ME, et al. Complex methylmercury-cysteine alters mercury accumulation in different tissues of mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2010;107(4):789–92.
- Sabir S, Akash MSH, Fiayyaz F, Saleem U, Mehmood MH, Rehman K. Role of cadmium and arsenic as endocrine disruptors in the metabolism of carbohydrates: Inserting the association into perspectives. *Biomed Pharmacotherapy*. 2019;114:108802.
- Schumacher L, Abbott LC. Effects of methyl mercury exposure on pancreatic beta cell development and function. *J Appl Toxicol*. 2017;37(1):4–12.
- Suhartono E, Komari N, Siahaan SC. Interaksi Merkuri dan Kadmium terhadap Enzim Kunci pada Glikolisis in Silico. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*. 2021;10(2):253-60.
- Tsai TL, Kuo CC, Pan WH, Wu TN, Lin P, Wang SL. Type 2 diabetes occurrence and mercury exposure – From the National Nutrition and Health Survey in Taiwan. *Environ Int]*. 2019;126:260–7.
- Xu X, Mathieu C, Boitard SE, Dairou J, Dupret JM, Agbulut O, et al. Skeletal muscle glycogen phosphorylase is irreversibly inhibited by mercury: Molecular, cellular and kinetic aspects. *FEBS Lett*. 2014;588(1):138–42.