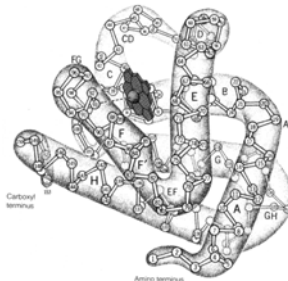


BIOQUÍMICA
1º ano de Medicina
Ensino teórico
2007/2008



9ª aula teórica

Proteínas funcionais: hemoglobina e mioglobina

- *Biochemistry* (J. M. Berg, J. L. Tymozko, L. Stryer) 6ª Ed., W. H. Freeman & Company, 2006, **Cap 7.**
- *Lehninger Principles of Biochemistry* (D.L. Nelson & M. M. Cox) 4ª Ed., W. H. Freeman & Company, 2004, **Cap 5.**

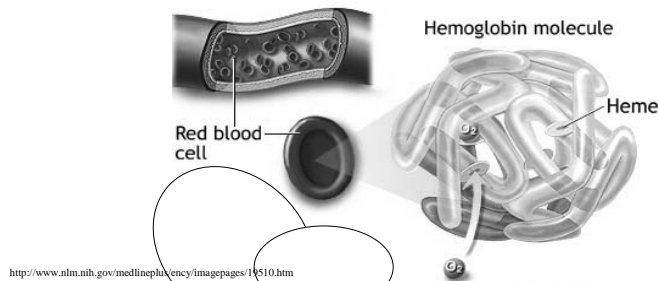
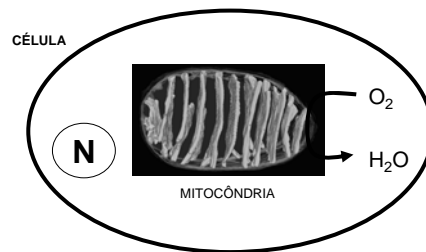
22-Out-07

Objectivos

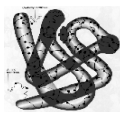
1. Explicar as diferenças estruturais entre hemoglobina e mioglobina.
2. Descrever como se estabelece e quais as características da ligação do oxigénio à mioglobina e à hemoglobina.
3. Avaliar a importância do Fe do grupo heme na ligação ao oxigénio.
4. Interpretar as curvas de ligação da hemoglobina e da mioglobina ao oxigénio.
5. Analisar a regulação da ligação do oxigénio ao grupo heme por H^+ e CO_2 (efeito de Bohr), e pelo 2,3-bifosfoglicerato.

Porque necessitamos de oxigénio?

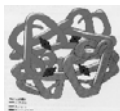
Todos os tecidos do nosso organismo necessitam de um aporte de oxigénio adequado para a respiração celular.



Mioglobina (Mb) e Hemoglobina (Hb) ligam O₂, facilitando a sua cedência aos tecidos.



Mioglobina - armazena O₂ no músculo



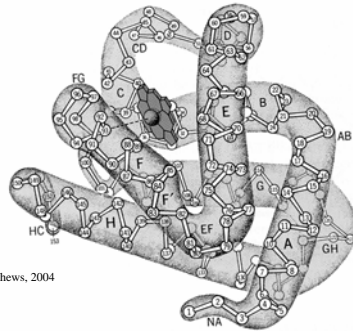
Hemoglobina – transporta O₂ no sangue

Aula nº 9

1. Quais as diferenças estruturais entre Mb e Hb?
2. Como se estabelece a ligação do O₂ à Mb e Hb?
3. Quais as características da ligação do O₂ à Mb e Hb?

- 1. Quais as diferenças estruturais entre Mb e Hb?**
2. Como se estabelece a ligação do O₂ à Mb e Hb?
3. Quais as características da ligação do O₂ à Mb e Hb?

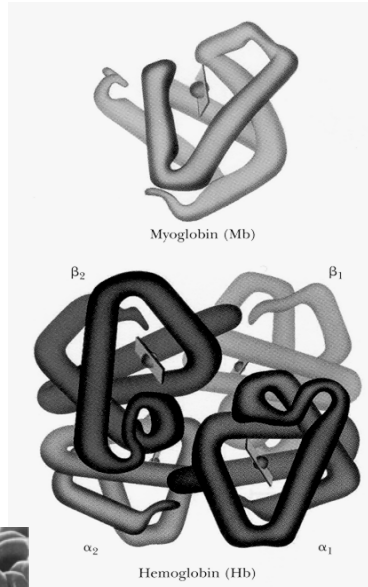
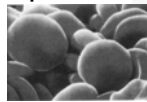
Estruturas da Mioglobina (Mb) e Hemoglobina (Hb)



Mathews, 2004

Mioglobina - armazena O_2 no músculo

Hemoglobina – transporta O_2 no sangue (GV)



Mioglobina (Mb)

(Jonh Kendrew, 1950)



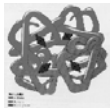
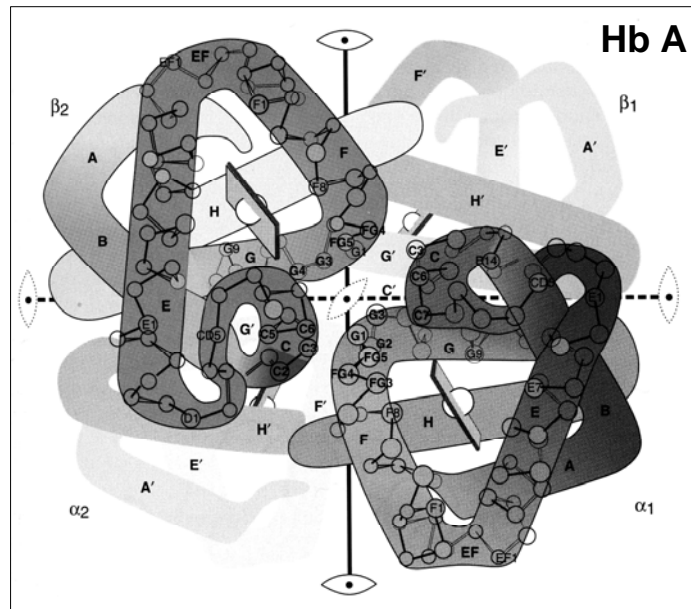
- * Uma única cadeia (estrutura terciária)
- * 75% da cadeia - conformação em α -hélice



8 segmentos helicoidais - A H

- * 4 α -hélices terminam em prolina
- * Interior
 - resíduos apolares: Leu, Val, Phe, Met
 - exceção: His F8 e E7 (AA polares)

Hemoglobina (Hb)



Hemoglobina (Hb)

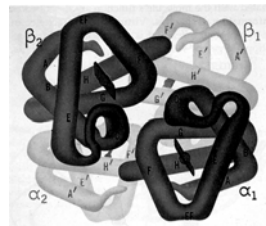
(Max Perutz, 1950)

* Tetrâmero: 2 pares de cadeias polipeptídicas, α , β (~Mb), γ e/ou δ , ligadas por ligações não covalentes.

* Hb adulto A - $\alpha_2 \beta_2$ (~ 97%)

A_2 - $\alpha_2 \delta_2$ (2-3%)

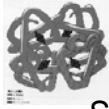
F - $\alpha_2 \gamma_2$ (< 1%)



* Cada cadeia está ligada covalentemente a um grupo heme (~ Mb).

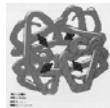
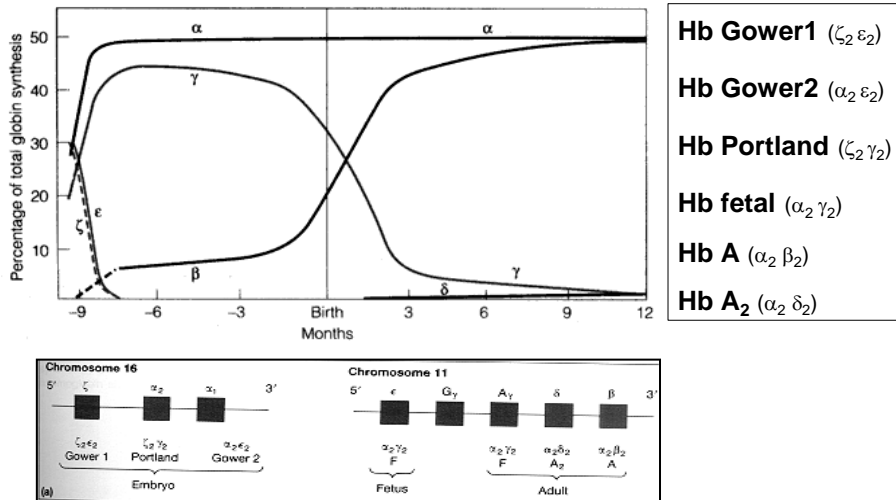
* Cada cadeia α contacta com as β , mas não entre si.

* Cadeia α tem 141 resíduos AA; β , γ e δ têm 146 AA.



Hemoglobina

Síntese das cadeias da hemoglobina humana ao longo do desenvolvimento:



Hemoglobina

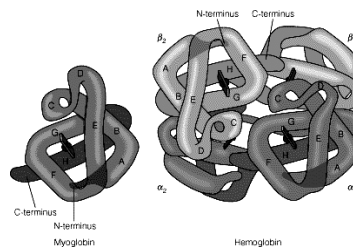
- Existem resíduos de AA invariáveis com importantes funções (Ex: His, Tyr)
- AA no interior variam, mas sem alteração da polaridade - manutenção do interior hidrofóbico
 - * Estabilização da estrutura tridimensional
- AA na superfície variam muito



1. Quais as diferenças estruturais entre Mb e Hb?
2. Como se estabelece a ligação do O₂ à Mb e Hb?
3. Quais as características da ligação do O₂ à Mb e Hb?

A Hemoglobina (Hb) e a Mioglobina (Mb) ligam O₂

(2 hemoproteínas)



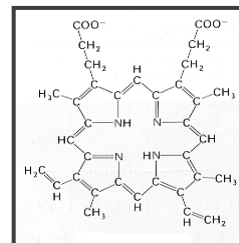
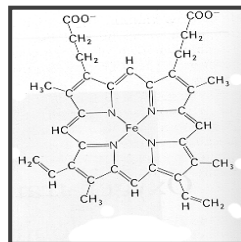
Importância da presença do grupo HEME:

- Parte orgânica - Protoporfirina IX

+

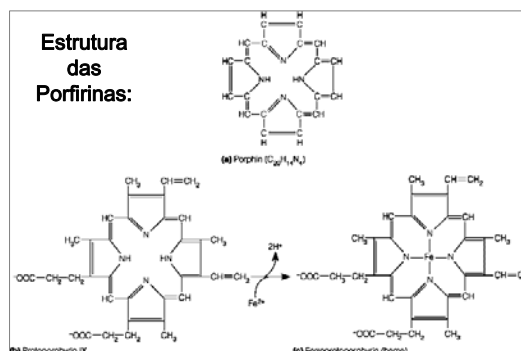
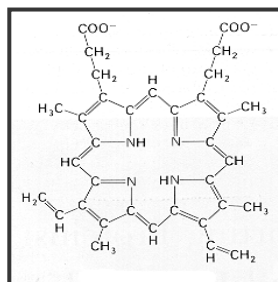
- Um átomo Ferro (Fe²⁺)

Liga O₂

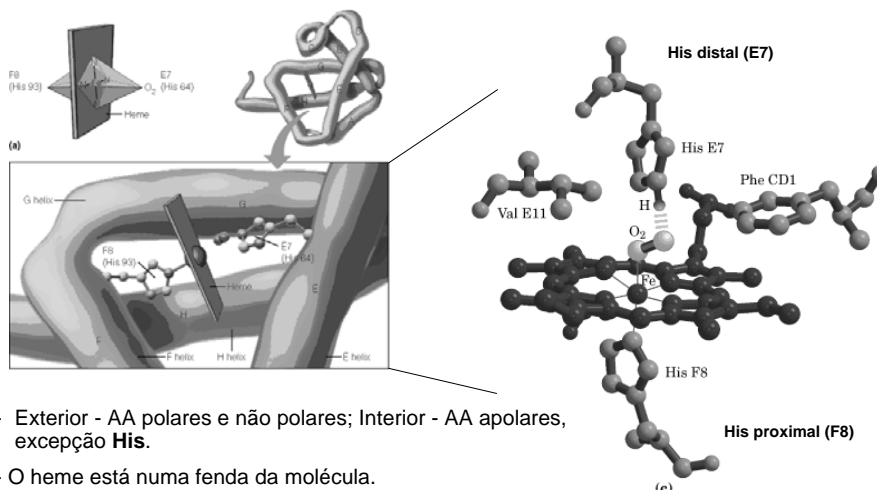


Protoporfirina IX

- 4 anéis pirrólicos ligados por pontes meteno
- A que se ligam:
 - 4 grupos metilo
 - 2 grupos vinilo
 - 2 cadeias laterais de propionato



Geometria de coordenação do ferro na OxiMb e OxiHb



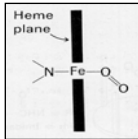
- Exterior - AA polares e não polares; Interior - AA apolares, excepção **His**.
- O heme está numa fenda da molécula.
- O ferro está directamente ligado à histidina proximal (F8), fora do plano hémico (5ª posição coordenação)
- O O₂ liga-se na 6ª posição coordenação do Fe²⁺, de forma angular.

<http://oregonstate.edu/dept/biochem/hhmi/hhmiclasses/bb450/winter2002/ch07/f7p5.htm>
http://www.biochem.arizona.edu/classes/bioc462/462a/NOTES/hemoglobin/Fig7_5cHemeO2binding.GIF



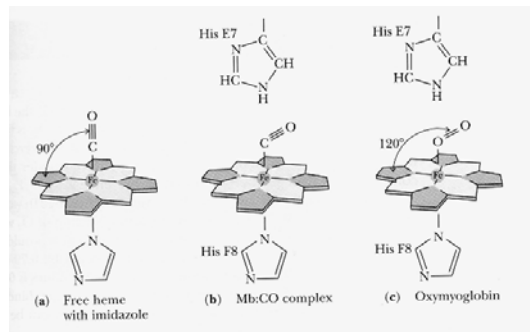
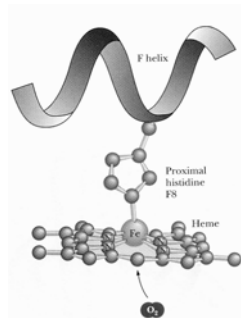
Ligação do CO e O₂ ao ferro (Fe²⁺) do grupo hémico

A ligação linear do CO ao grupo heme é evitada pela histidina distal



Permite uma ligação angular

Enfraquece a ligação do CO e do O₂ à Mb e Hb

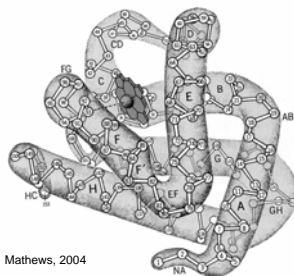


Afinidade (relativamente ao O₂) → → **20,000x**

200x

Mb e Hb: formas Oxi-, Desoxi- e Ferri-

➤ A conformação das 3 formas da Mb são muito semelhantes, excepto na 6^a posição de coordenação.



A função do grupo prostético é modulada pelo seu ambiente polipeptídico:

A Histidina distal (E7) → impede a oxidação do ferro (heme)

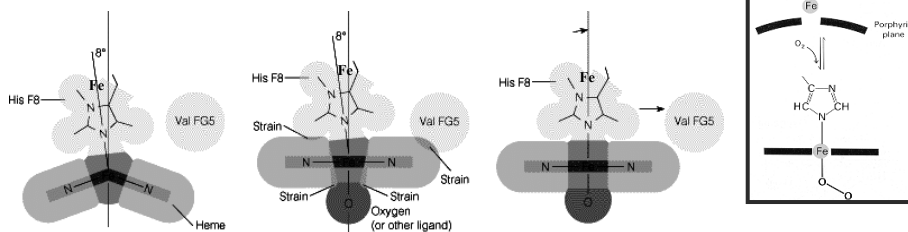
Formas da Mb	6 ^a pos.coord.	Estado de oxidação do ferro
▪ Desoximioglobina	Vazia	+2
▪ Oximioglobina	O ₂	+2
▪ Ferrimioglobina	H ₂ O	+3



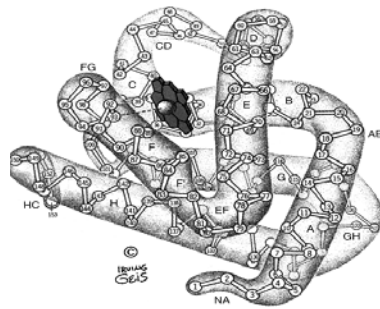
Ligação do oxigénio ao heme

Durante a oxigenação, o ferro move-se para o plano do heme

O movimento do ferro é 'transmitido' a outras subunidades da Hb pela histidina proximal (F8).



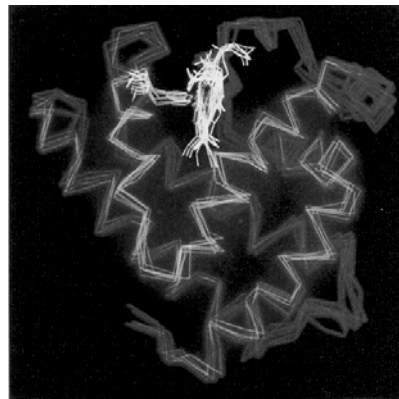
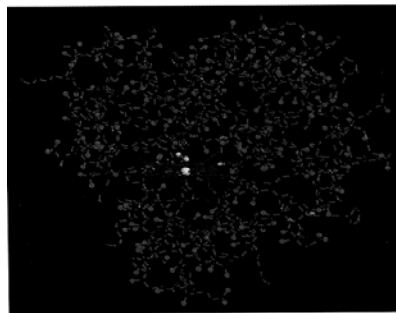
<http://oregonstate.edu/dept/biochem/hhmi/hmiclasses/bb450/winter2002/cb07/f7p3.htm>



Mioglobina

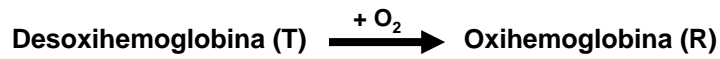
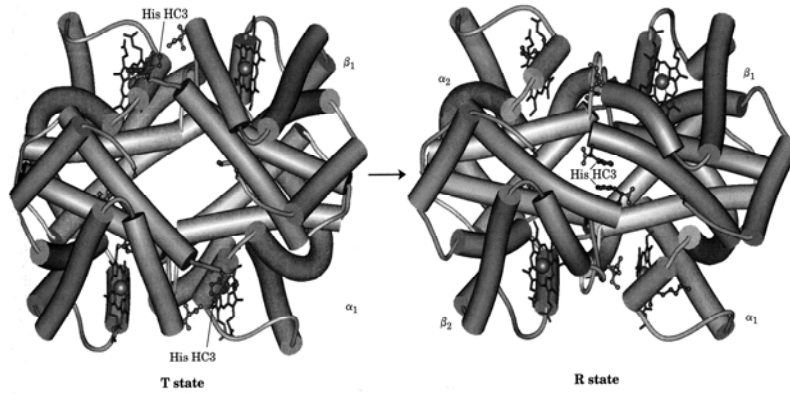
(alteração molecular após ligação do O₂)

a)



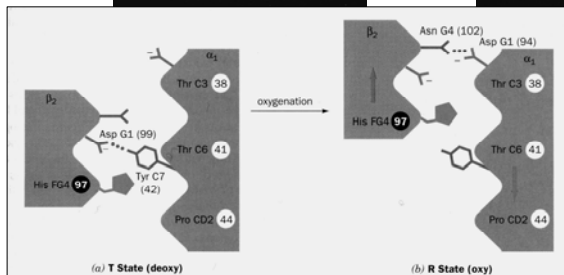
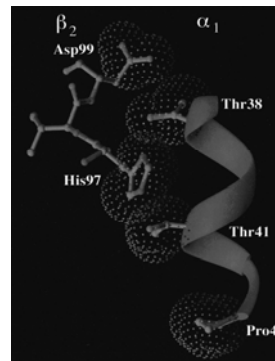
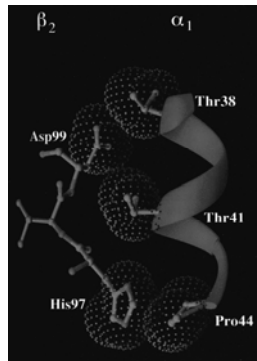
Hemoglobina

Alteração da estrutura quaternária da hemoglobina durante a oxigenação (transição T → R)



Desoxihemoglobina (T)

Oxihemoglobina (R)



Transição T → R:
Estabelecem-se novas lig. hidrogénio entre β_2 e α_1 e entre β_1 e α_2

Ligações iónicas (pontes salinas) estabilizam a forma T da desoxihemoglobina

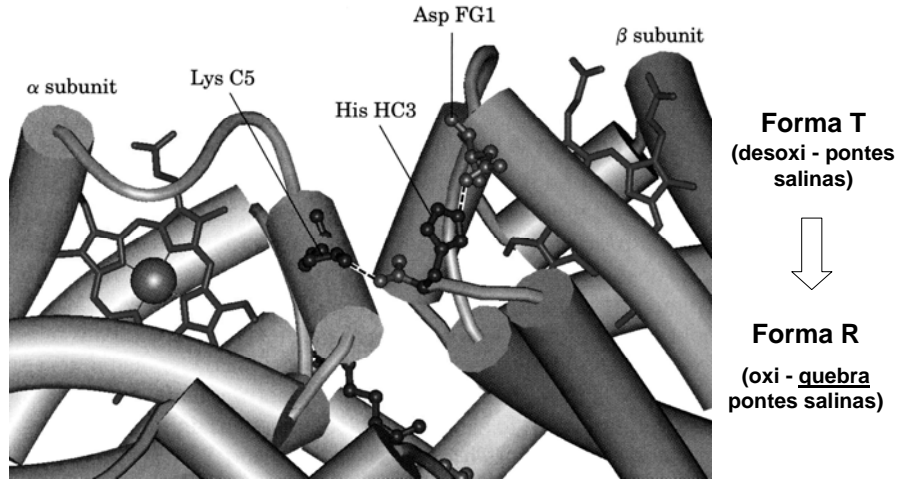
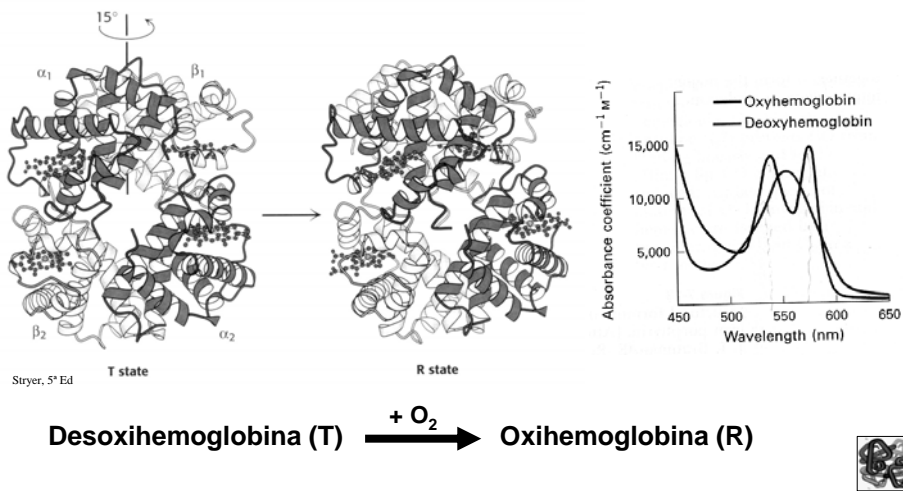


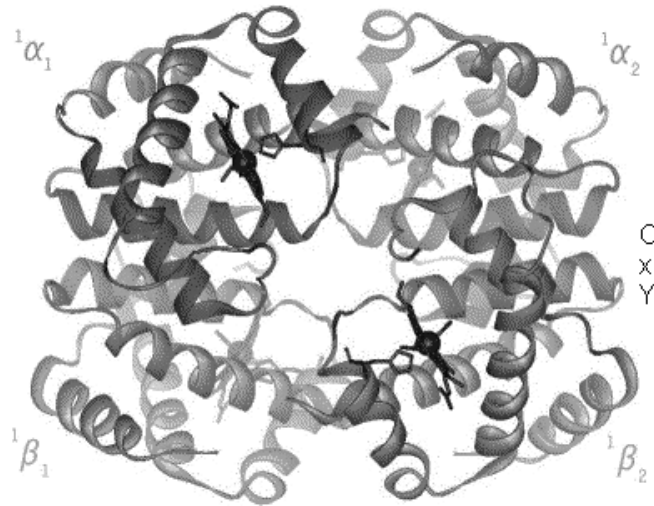
Figura: Lig. iónica entre His e Asp da subunidade β ; Lig. iónica entre Lys (subunidade α) e $-\text{COO}^-$ da His.

Ligação do oxigénio à hemoglobina

Durante a oxigenação, um par de subunidades α - β roda cerca de 15 graus



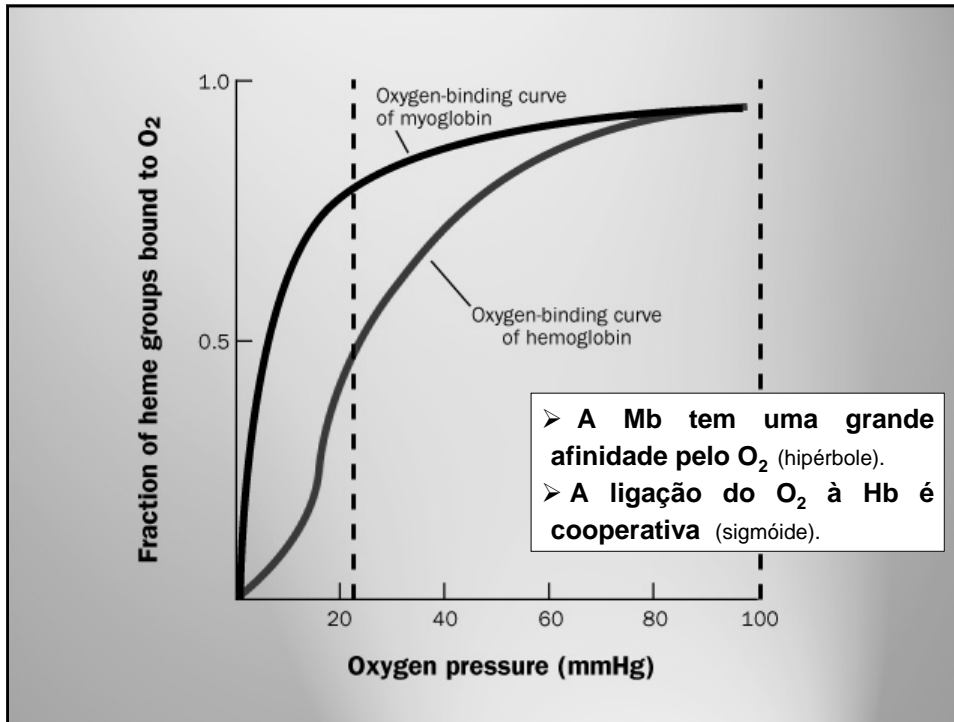
Hemoglobina – uma proteína que “respira”



From Wikipedia, the free encyclopedia



1. Quais as diferenças estruturais entre Mb e Hb?
2. Como se estabelece a ligação do O₂ à Mb e Hb?
3. **Quais as características da ligação do O₂ à Mb e Hb?**



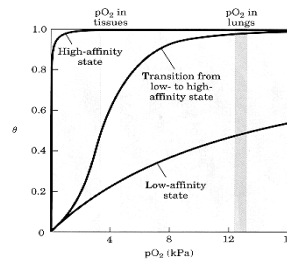
Mioglobina e Hemoglobina – ligação do O₂:

- A ligação da Hb ao O₂ é cooperativa



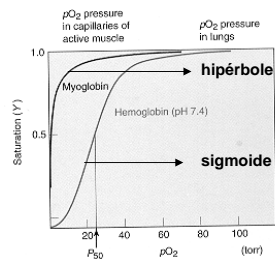
Curva de dissociação do O₂ da Hb é sigmoide

A Hb é um transportador eficiente de O₂!!

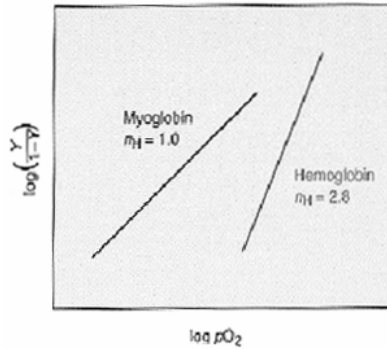


- A ligação da Mb ao O₂ não é cooperativa

Curva de dissociação do O₂ da Mb é hiperbólica



Gráficos de Hill da ligação de Oxigênio à Mioglobina e Hemoglobina



Mb: n = 1
Hb: n = 2,8

Ligação Cooperativa $n > 1$

$$\theta = \frac{(pO_2)^n}{(p50)^n + (pO_2)^n} \quad \text{Equação de Hill}$$

θ = fracção de saturação ou ocupação locais de ligação (0-1)

$n = n^{\circ}$ Hill
Se $n=1$ (hipérbole) \rightarrow não existe cooperatividade
Se $n > 1$ \rightarrow cooperatividade positiva
Se $n < 1$ \rightarrow cooperatividade negativa

$n=1$ \rightarrow Ligação das moléculas de O_2 à Mb é independente
 $n > 1$ \rightarrow Ligação cooperativa de O_2 à Hb e depende das alterações da pO_2 \rightarrow cooperatividade positiva

Capacidade de ligação/libertação de O_2 Mioglobina vs Hemoglobina

$$\theta = \frac{(pO_2)^n}{(p50)^n + (pO_2)^n}$$

Qual destas proteínas possui maior capacidade de ligar/libertar O_2 ?

Exercício:

pO_2 cap. Alv. = 100 torr

pO_2 cap. Musc. = 20 torr

se $p50 = 26$ torr e $n = 2.8$

mas se $n = 1$

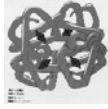
θ cap. alv. = 0.98

θ cap. musc. = 0.32 } $\Delta = 0.66$

θ cap. alv. = 0.79

θ cap. musc. = 0.43 } $\Delta = 0.36$

A Hb facilita a libertação de 1.83x mais O_2 do que a Mb!



Hemoglobina

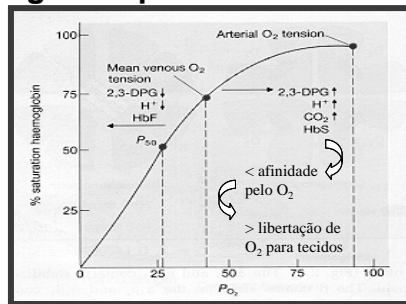
- A Hb transporta O_2 , H^+ e CO_2
- A Hb é uma proteína alostérica



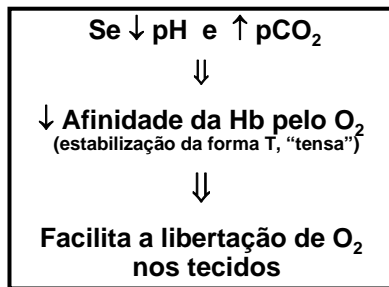
A afinidade pelo O_2 é regulada por

- pH
- CO_2
- BPG

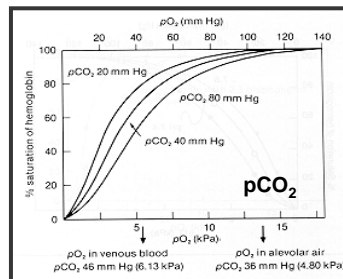
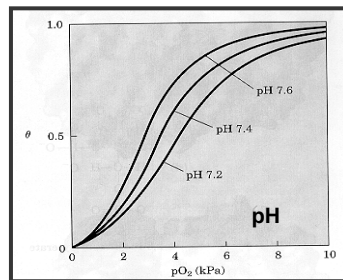
BPG = *biphosphoglycerate*



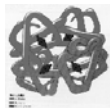
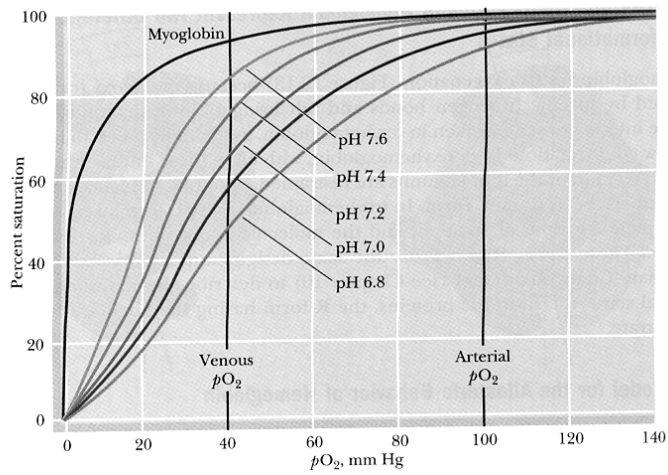
Hemoglobina



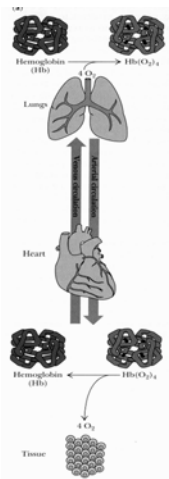
CO_2 liga-se na forma de *carbamato* ao terminal-N de cada cadeia polipeptídica →
→ **Carbaminohemoglobina**



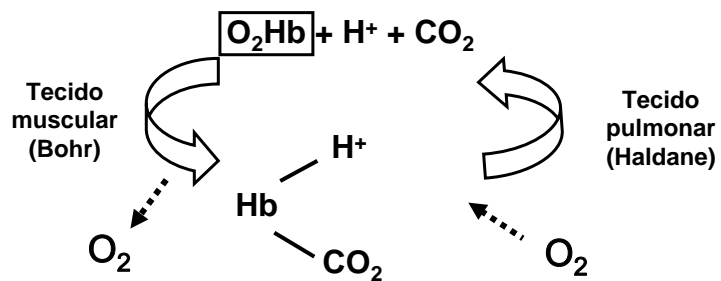
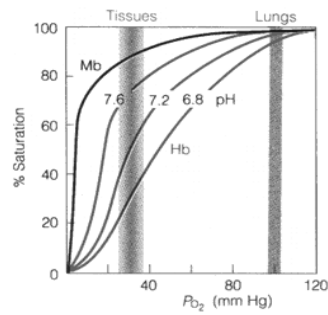
Curvas de saturação da mioglobina e hemoglobina – efeito do pH



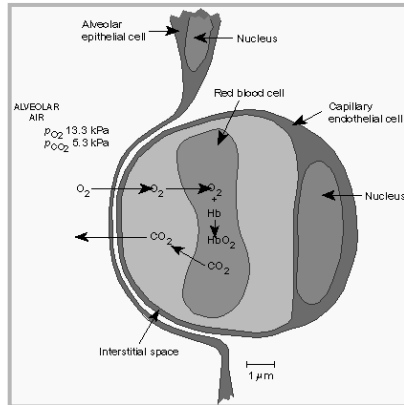
Hemoglobina



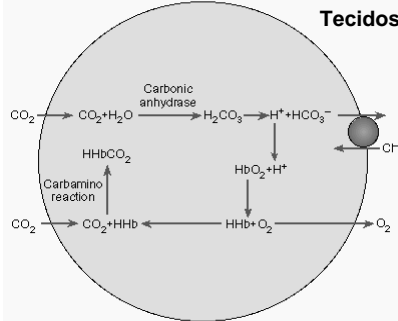
Efeito de Bohr



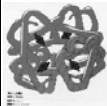
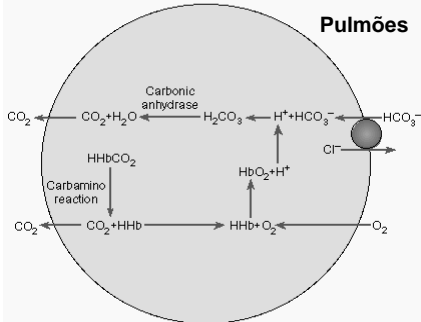
Hemoglobina Transporte de O₂ e CO₂ nos glóbulos vermelhos



(a) CO₂ uptake by red cells as the blood perfuses active tissues



(b) O₂ uptake by red cells as the blood passes through the lungs



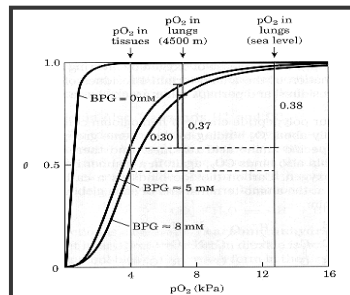
Hemoglobina e o 2,3-bifosfoglicerato (BPG)

- O BPG ↓ a afinidade da Hb pelo O₂



Estabilização da estrutura
quaternária na forma desoxi (T)

- Liga-se às cadeias β (AA+)
(Lys E1, Lys F6 e His H21)

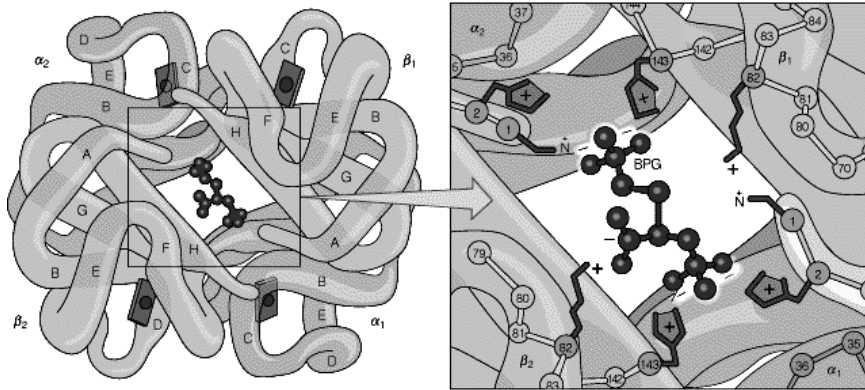


- O BPG liga-se menos à Hb F ⇒ > afinidade da Hb F pelo O₂
(HbF: H21 é uma serina e não histidina)



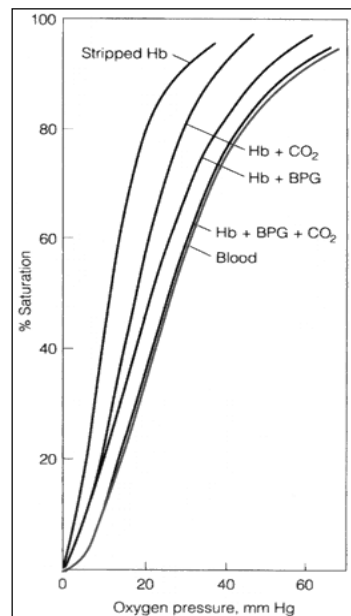
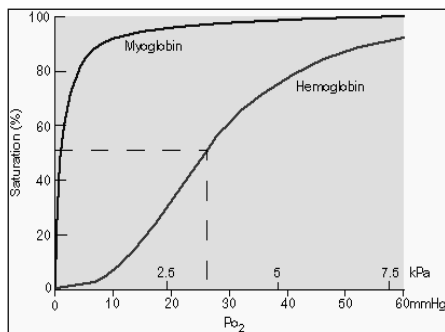
Transferência de O₂ da circulação materna para a Hb fetal

Ligação de 2,3-bifosfoglicerato (BPG) à desoxihemoglobina (T)



As cargas negativas (-) do BPG interagem com cargas positivas (+) das 2 subunidades β

Curvas de saturação da mioglobina e hemoglobina – efeito do CO_2 e BPG

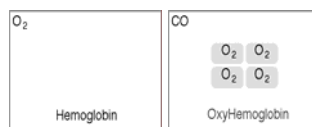
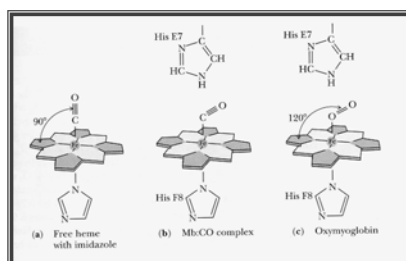


Mioglobina e Hemoglobina

1. A **mioglobina (Mb)** é uma proteína monomérica. A **Hemoglobina (Hb)** é um tetrâmero.
2. Cada cadeia polipeptídica liga um grupo prostético – Heme (protoporfirina + ferro)
3. O **oxigênio** liga-se à 6ª posição de coordenação do ferro (Fe^{2+}) no heme.
4. A **histidina F8** (proximal) ocupa a 5ª posição de coordenação. A **histidina E7** (distal) induz um ângulo ($\sim 120^\circ$) na ligação do O_2 ao Fe^{2+} no plano do heme.
5. Durante a **oxigenação**, o ferro move-se para o plano do heme.
6. A alteração estrutural resultante da oxigenação induz a **alteração da estrutura quaternária** da Hb.
7. O oxigênio liga-se de forma **cooperativa** à Hb (a curva de dissociação do O_2 é sigmóide) \rightarrow **maior eficiência no transporte de O_2** .
8. O CO_2 liga-se na forma de **carbamato** à Hb (carbaminoHb).
9. A afinidade da Hb pelo O_2 é regulada por: **pH, CO_2 e BPG**.
10. O **BPG liga-se menos à Hb F** \rightarrow > afinidade da Hb F pelo O_2 .



Porque é tóxico o monóxido de carbono?



<http://www.coheadquarters.com/animations/indexanimations.htm>

- O heme possui uma maior afinidade pelo CO do que pelo O_2 .
- A histidina 64 (E7) dificulta ($\sim 10x$) a ligação de CO ao heme (angulação imposta pela His).
- CO é tóxico porque impossibilita o transporte de O_2 pela Hb ou o seu armazenamento pela Mb.

A Hb (GV) liga CO com alta afinidade.

Como o CO não é utilizado pelas células e não existe O_2 , ocorre **hipóxia, morte celular** e do próprio organismo.



http://www.hopshop.net/index.php?option=com_content&task=view&id=61&Itemid=136