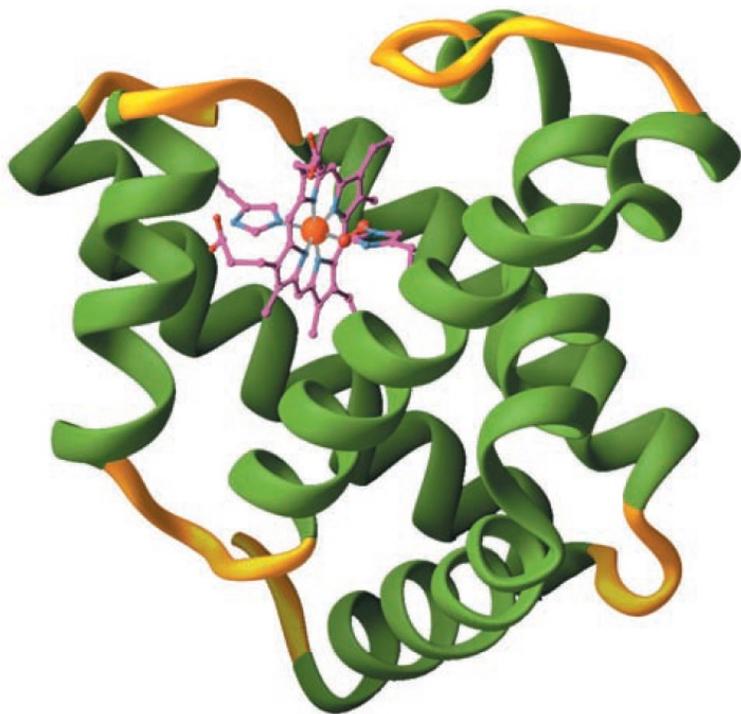


# Hemoglobina e Mioglobina

**CCM0111: Bioquímica, Estrutura de  
Biomoléculas e Metabolismo**  
**Dr. Danilo B. Medinas**



**Mioglobina**

**Material de estudo para prova**

Voet: Capítulo 10

Lehninger: Capítulo 5

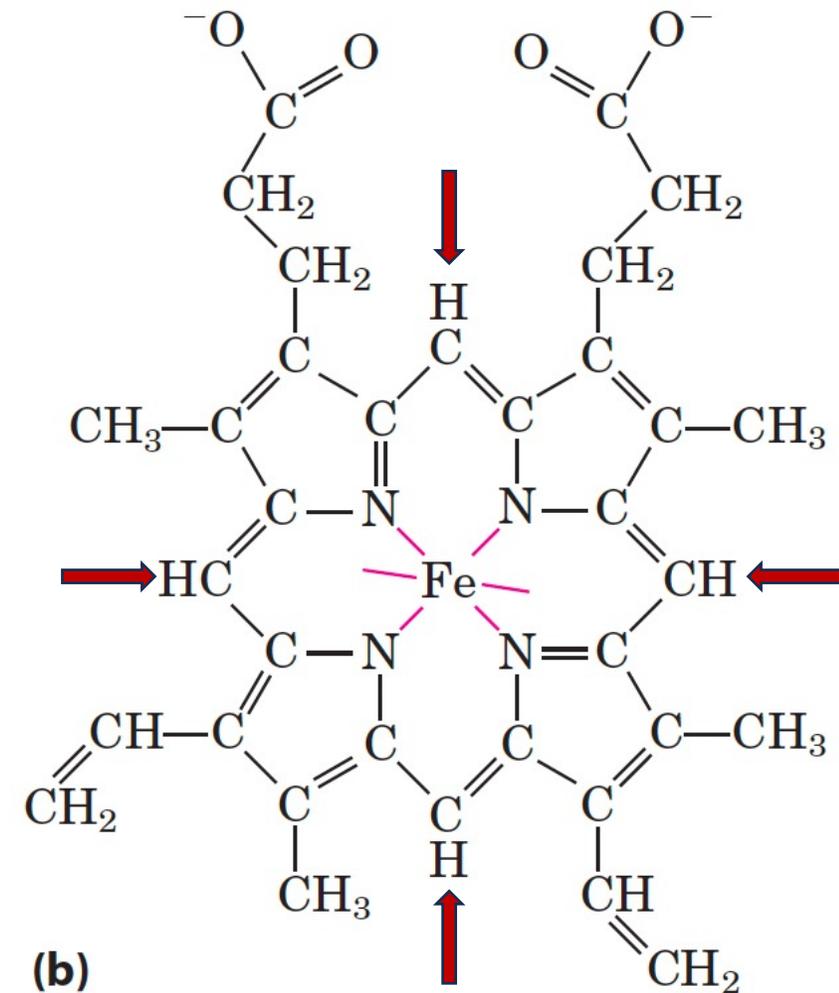


<https://app.jove.com/science-education/v/10884/partial-pressure-and-gas-exchange-in-human-body>

<https://app.jove.com/science-education/v/12168/cooperative-allosteric-transitions>

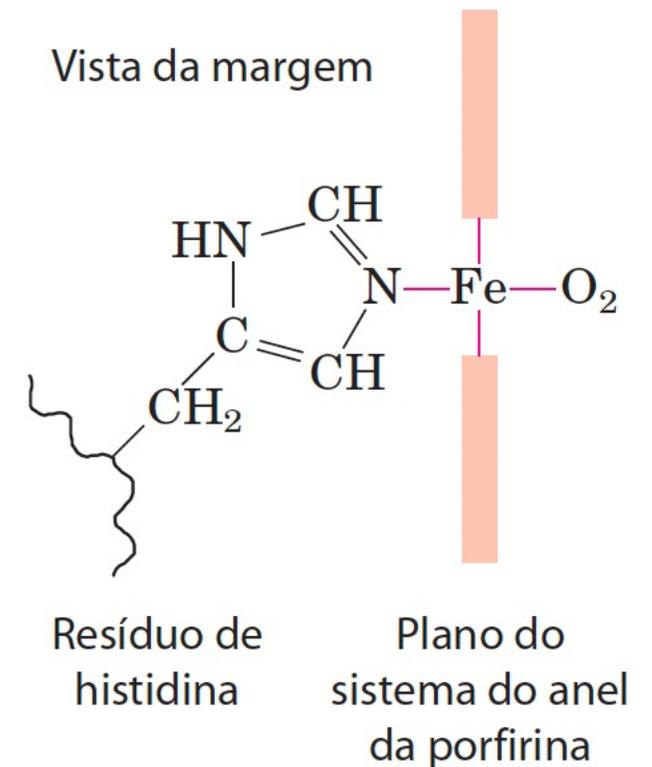
# Hemoglobina e Mioglobina

- Primeiras proteínas a terem a estrutura tridimensional determinada.
- Modelos para compreender a interação entre ligantes e proteínas.
- Hemoglobina: transporta  $O_2$  dos pulmões aos tecidos. Mioglobina: armazena  $O_2$  nos tecidos. Papel fundamental em organismos multicelulares, onde a simples difusão do  $O_2$  não atende a demanda metabólica.
- $O_2$  tem baixa solubilidade em água. Liga-se ao grupo prostético heme presente na hemoglobina e mioglobina.



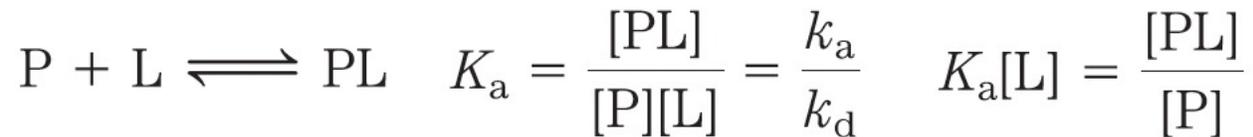
# Hemoglobina e Mioglobina

- Primeiras proteínas a terem a estrutura tridimensional determinada.
- Modelos para compreender a interação entre ligantes e proteínas.
- Hemoglobina: transporta  $O_2$  dos pulmões aos tecidos. Mioglobina: armazena  $O_2$  nos tecidos. Papel fundamental em organismos multicelulares, onde a simples difusão do  $O_2$  não atende a demanda metabólica.
- $O_2$  tem baixa solubilidade em água. Liga-se ao grupo prostético heme presente na hemoglobina e mioglobina.



# A ligação de O<sub>2</sub> à mioglobina

- A interação da mioglobina com O<sub>2</sub> pode ser descrita por uma constante de associação,  $K_a$ .

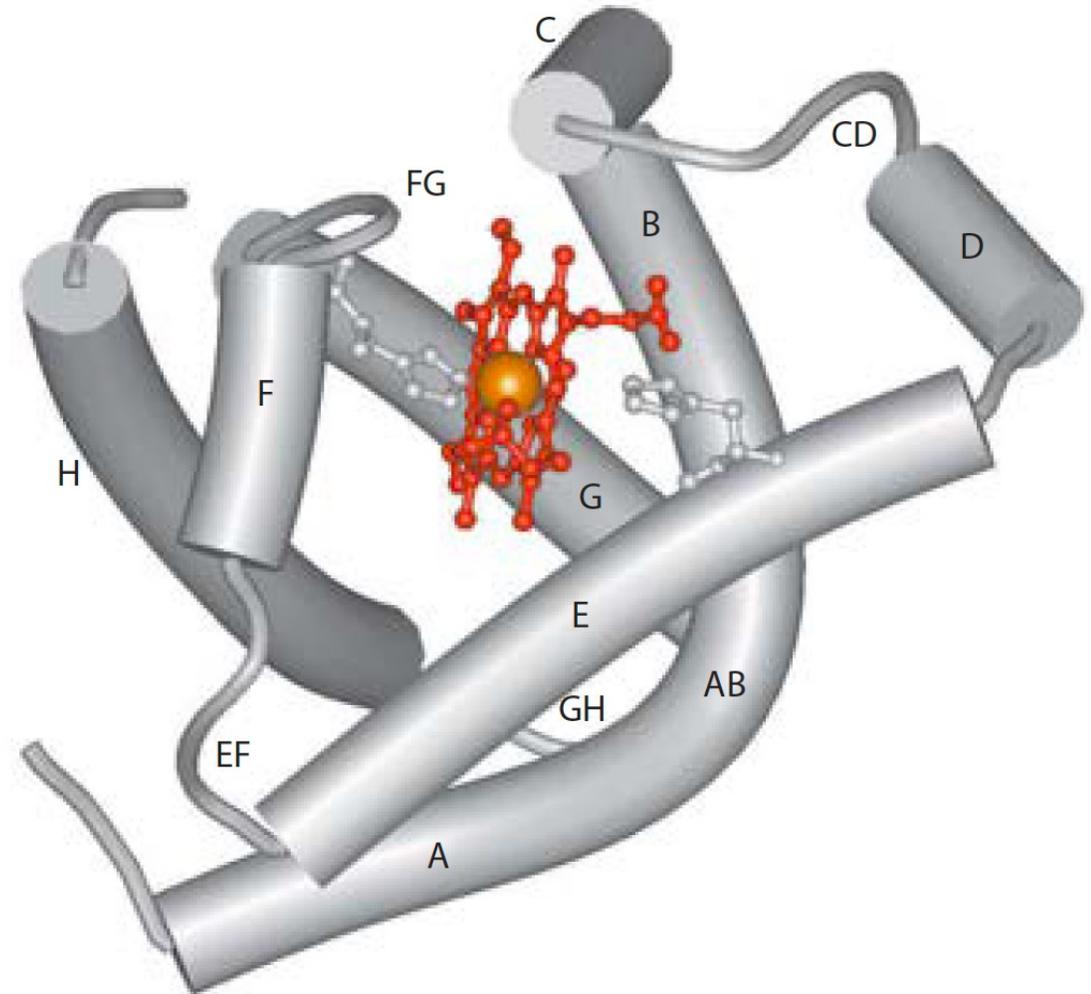


$$\theta = \frac{\text{sítios de interação ocupados}}{\text{total de sítios de interação}} = \frac{[PL]}{[PL] + [P]}$$

$$\theta = \frac{K_a[L][P]}{K_a[L][P] + [P]} = \frac{K_a[L]}{K_a[L] + 1} = \frac{[L]}{[L] + \frac{1}{K_a}}$$

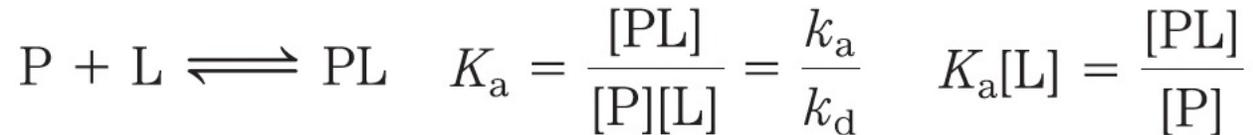
Hipérbole

$$\text{Tendo, } K_d = \frac{[P][L]}{[PL]} = \frac{k_d}{k_a} \quad \longrightarrow \quad (K_d = 1/ K_a)$$



# A ligação de O<sub>2</sub> à mioglobina

- A ligação de O<sub>2</sub> à mioglobina apresenta uma curva de saturação hiperbólica.



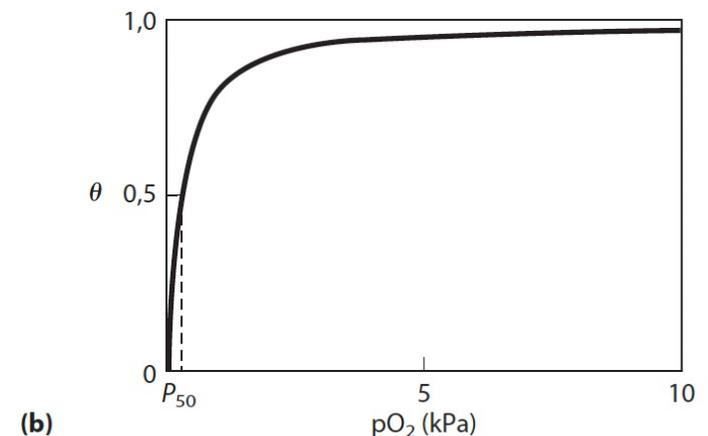
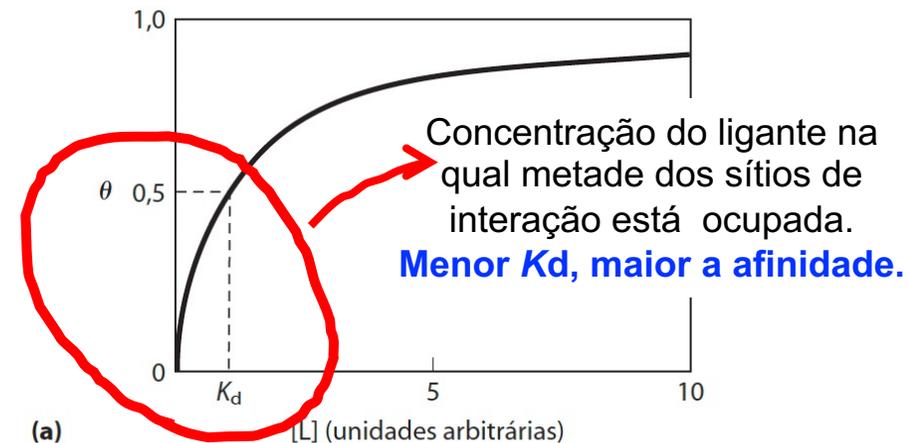
$$\theta = \frac{\text{sítios de interação ocupados}}{\text{total de sítios de interação}} = \frac{[PL]}{[PL] + [P]}$$

$$\theta = \frac{K_a[L][P]}{K_a[L][P] + [P]} = \frac{K_a[L]}{K_a[L] + 1} = \frac{[L]}{[L] + \frac{1}{K_a}}$$

Hipérbole

Tendo,  $K_d = \frac{[P][L]}{[PL]} = \frac{k_d}{k_a} \rightarrow (K_d = 1/ K_a)$

$$\theta = \frac{[L]}{[L] + K_d}$$

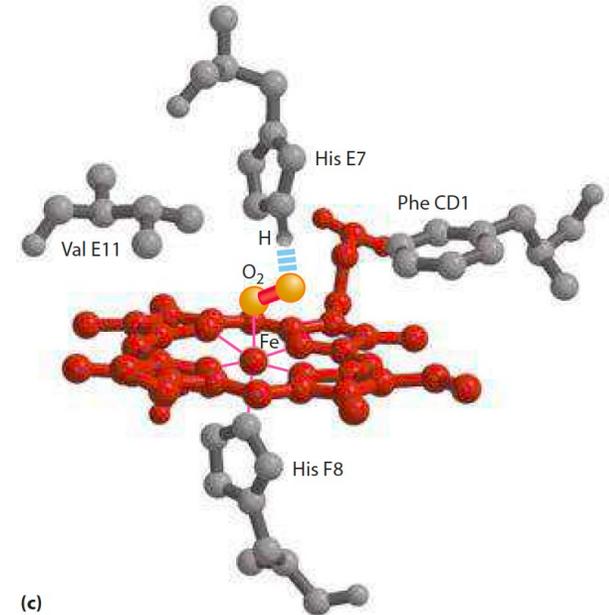
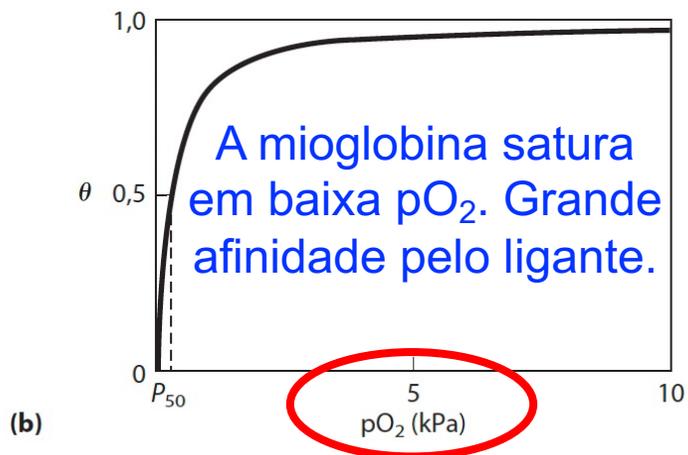


# A ligação de O<sub>2</sub> à mioglobina

- A ligação de O<sub>2</sub> à mioglobina é descrita em termos da pressão do gás.

$$\theta = \frac{[L]}{[L] + K_d}$$

$$\theta = \frac{[O_2]}{[O_2] + K_d} \quad \theta = \frac{[O_2]}{[O_2] + [O_2]_{0,5}} \quad \theta = \frac{pO_2}{pO_2 + P_{50}}$$

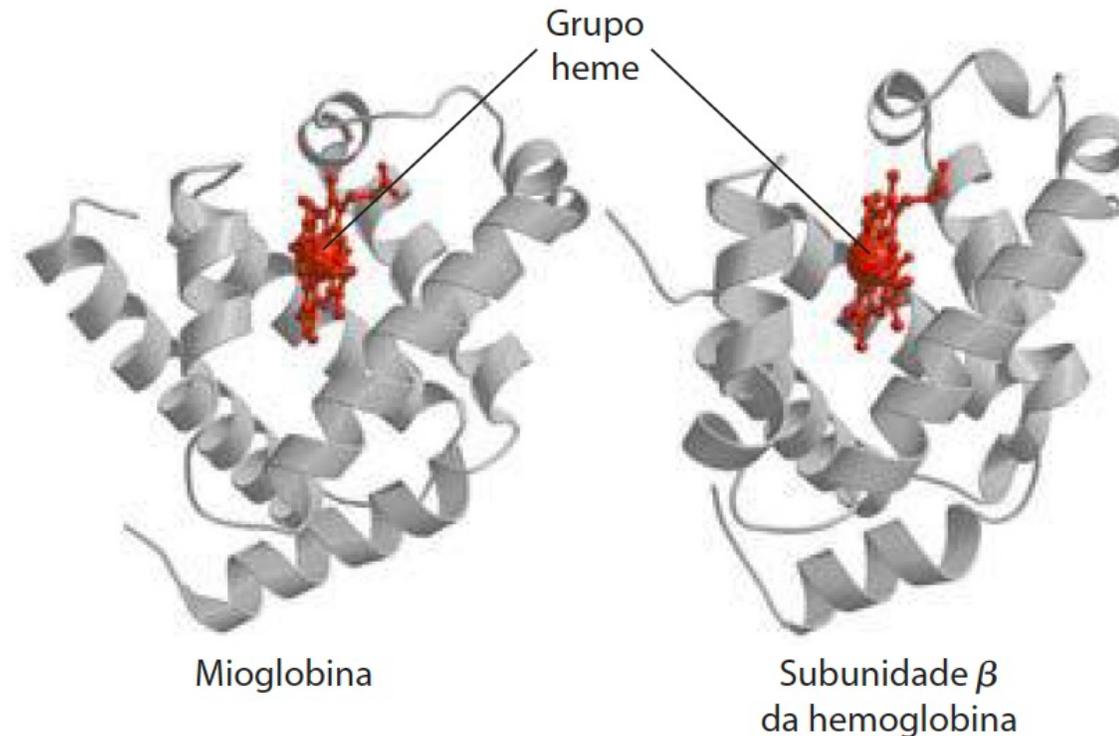


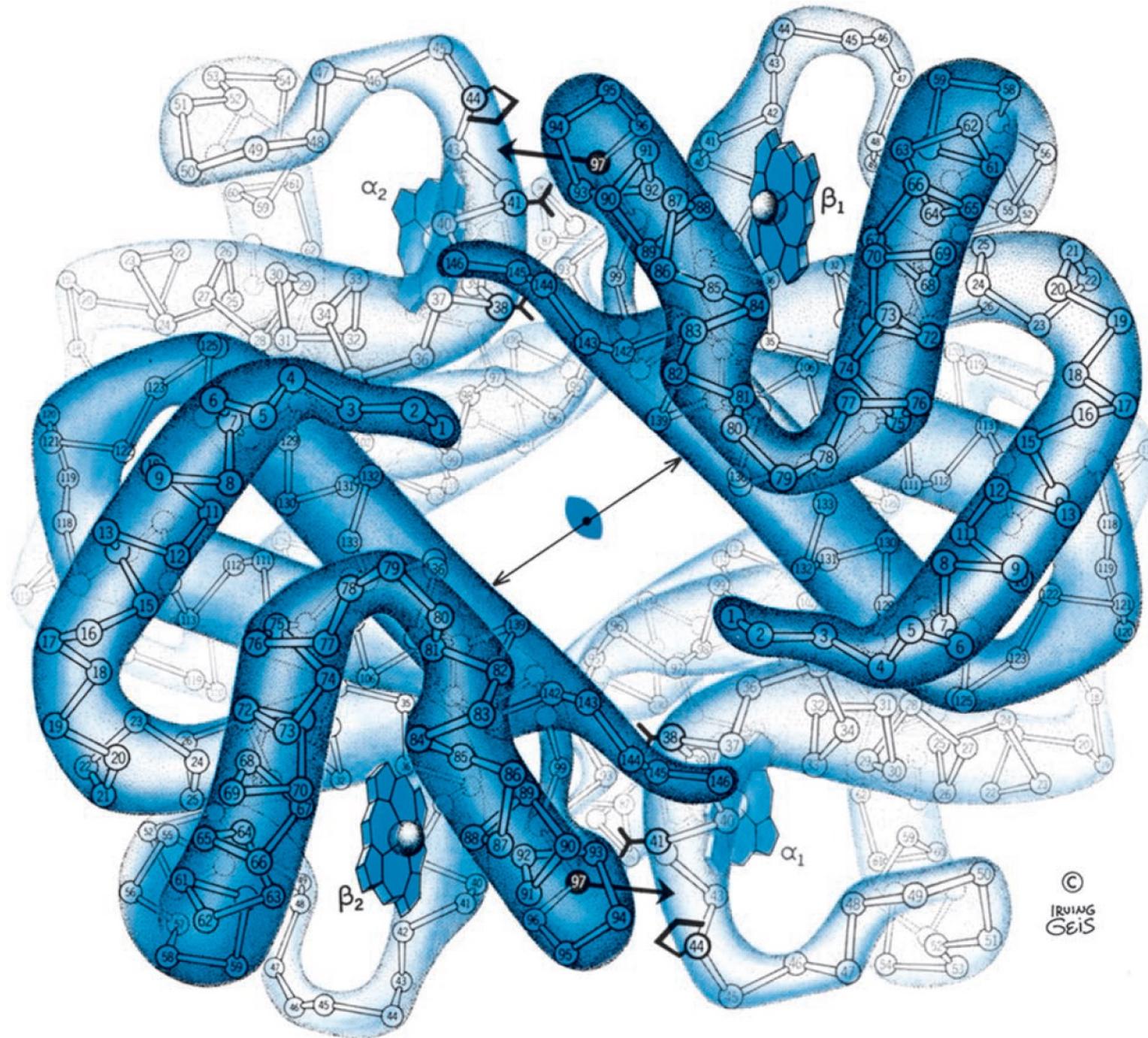
Ligação do O<sub>2</sub> no heme da mioglobina. His distal explica, parcialmente, a exclusão do CO.



# A ligação de O<sub>2</sub> à hemoglobina

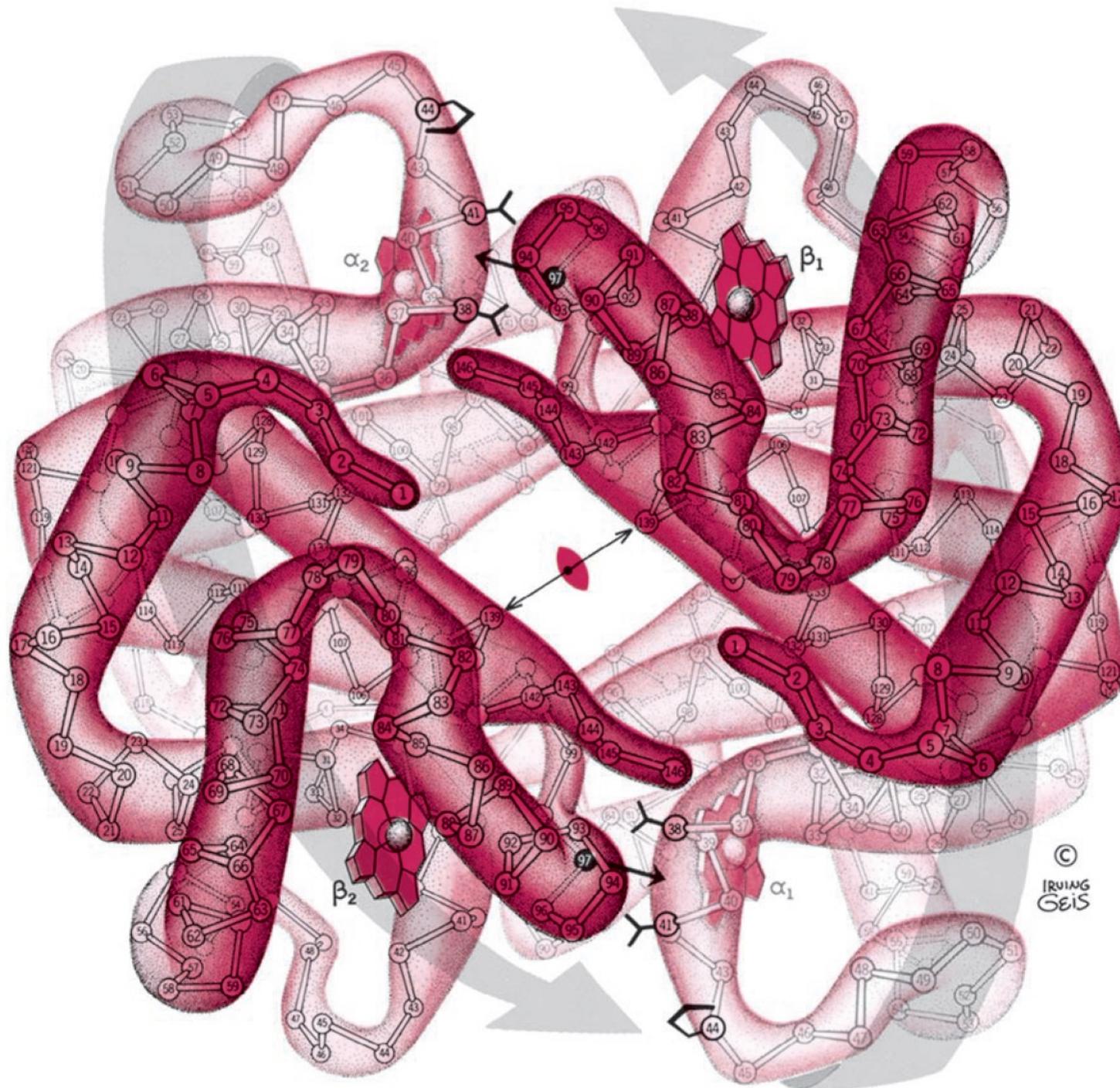
- A hemoglobina está contida em eritrócitos, constituindo 34% do peso total deste tipo celular. Ao contrário da mioglobina, possui afinidade variável pelo O<sub>2</sub>, o que a permite responder a diferenças na pressão do gás, característica importante na sua função de transportadora.
- Composta por 4 subunidades, 2  $\alpha$  e 2  $\beta$ , que se assemelham à mioglobina.
- Sua estrutura quaternária envolve interações fortes entre cadeias  $\alpha$  e  $\beta$ , formando dois dímeros,  $\alpha_1\beta_1$  e  $\alpha_2\beta_2$ .





Deoxy-hemoglobina

**A hemoglobina sofre mudança conformacional  
quando se liga ao O<sub>2</sub>**

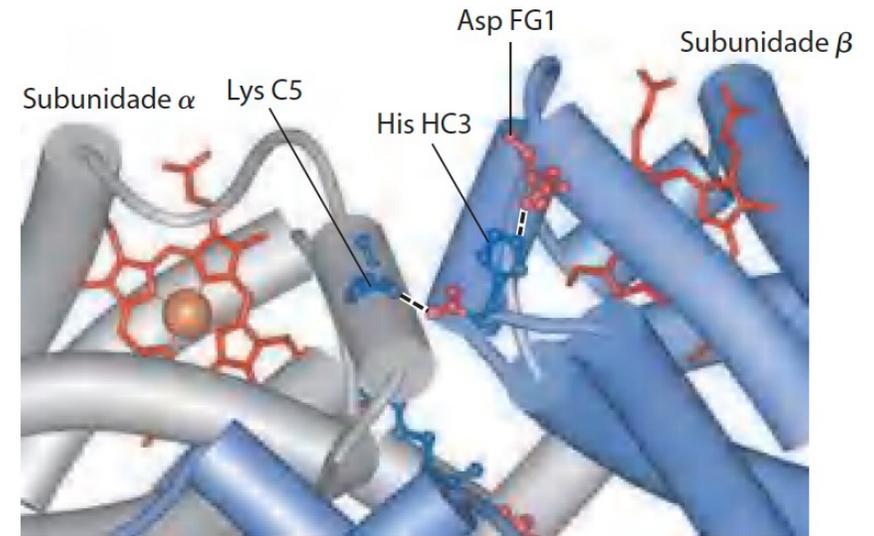


©  
IRVING  
GEIS

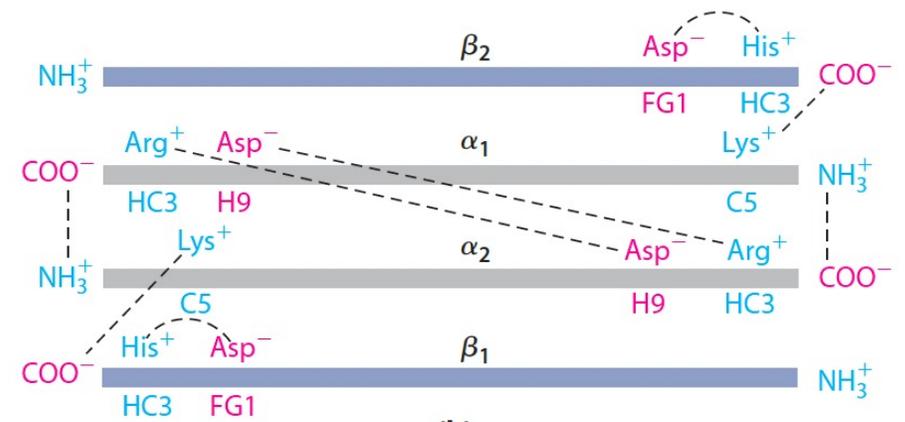
Oxi-hemoglobina

# A ligação de O<sub>2</sub> à hemoglobina

- A hemoglobina existe em dois estados conformacionais, estado R e estado T.
- O O<sub>2</sub> tem maior afinidade pelo estado R, estabilizando esta conformação.
- Na ausência de O<sub>2</sub>, predomina o estado T, que remete a tenso, dado que possui maior quantidade de pares iônicos.
- A ligação do O<sub>2</sub> no estado T desencadeia sua conversão ao estado R.



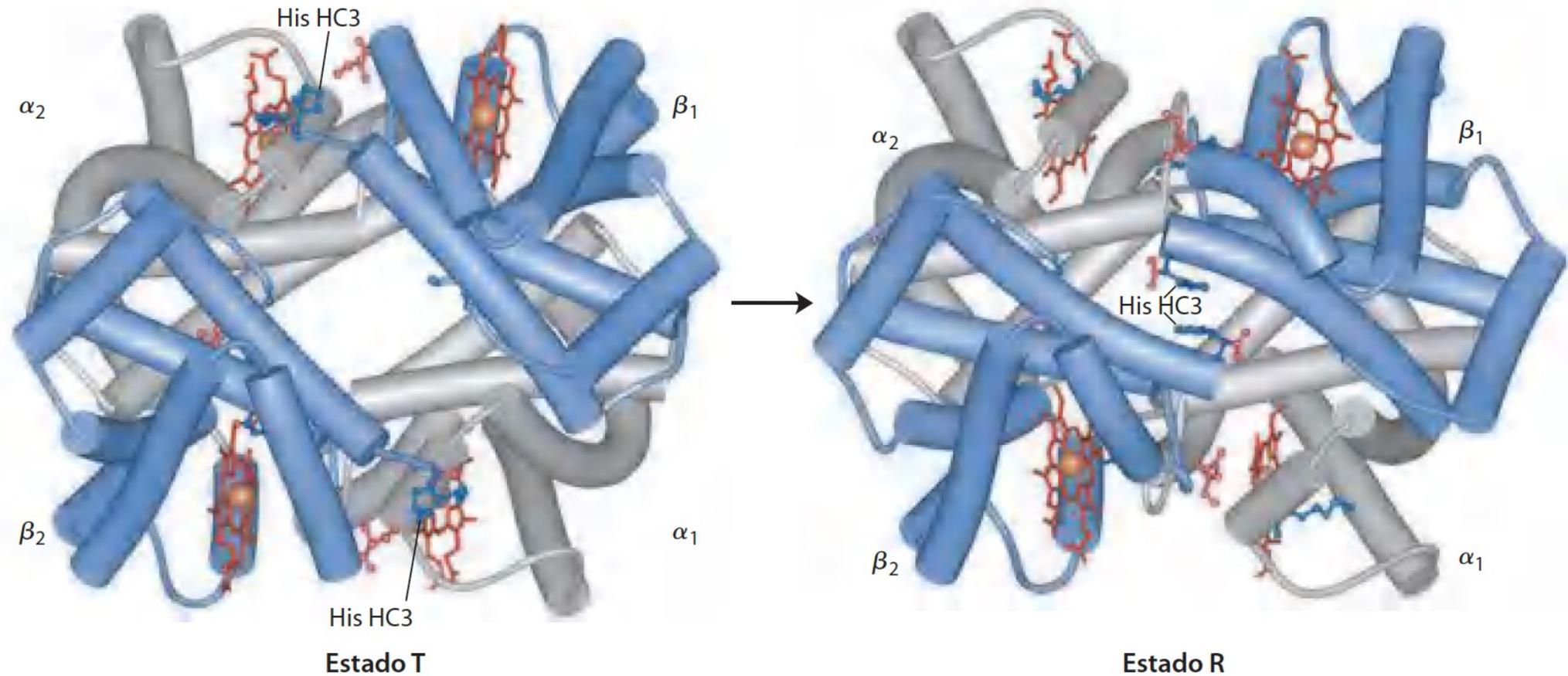
(a)



(b)

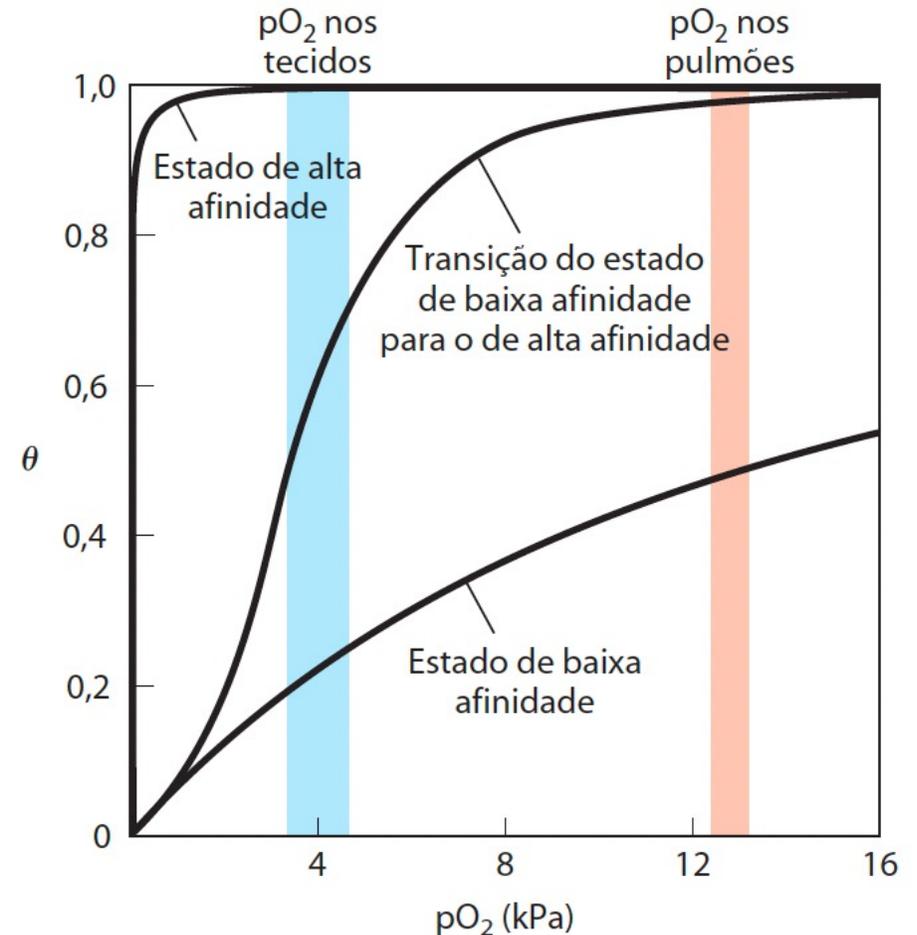
Estado T

# Conversão do estado T ao R da hemoglobina



# Como a hemoglobina (Hb) é capaz de capturar e depois liberar o $O_2$ ?

- A hemoglobina atua de forma cooperativa, dada pela transição conformacional de T para R de suas subunidades à medida que o  $O_2$  se liga.
- A primeira molécula de  $O_2$  se une com menor afinidade, se ligando a uma subunidade no estado T. Essa ligação, contudo, induz a conversão de T para R nas outras subunidades, facilitando a ligação das moléculas de  $O_2$  subsequentes.

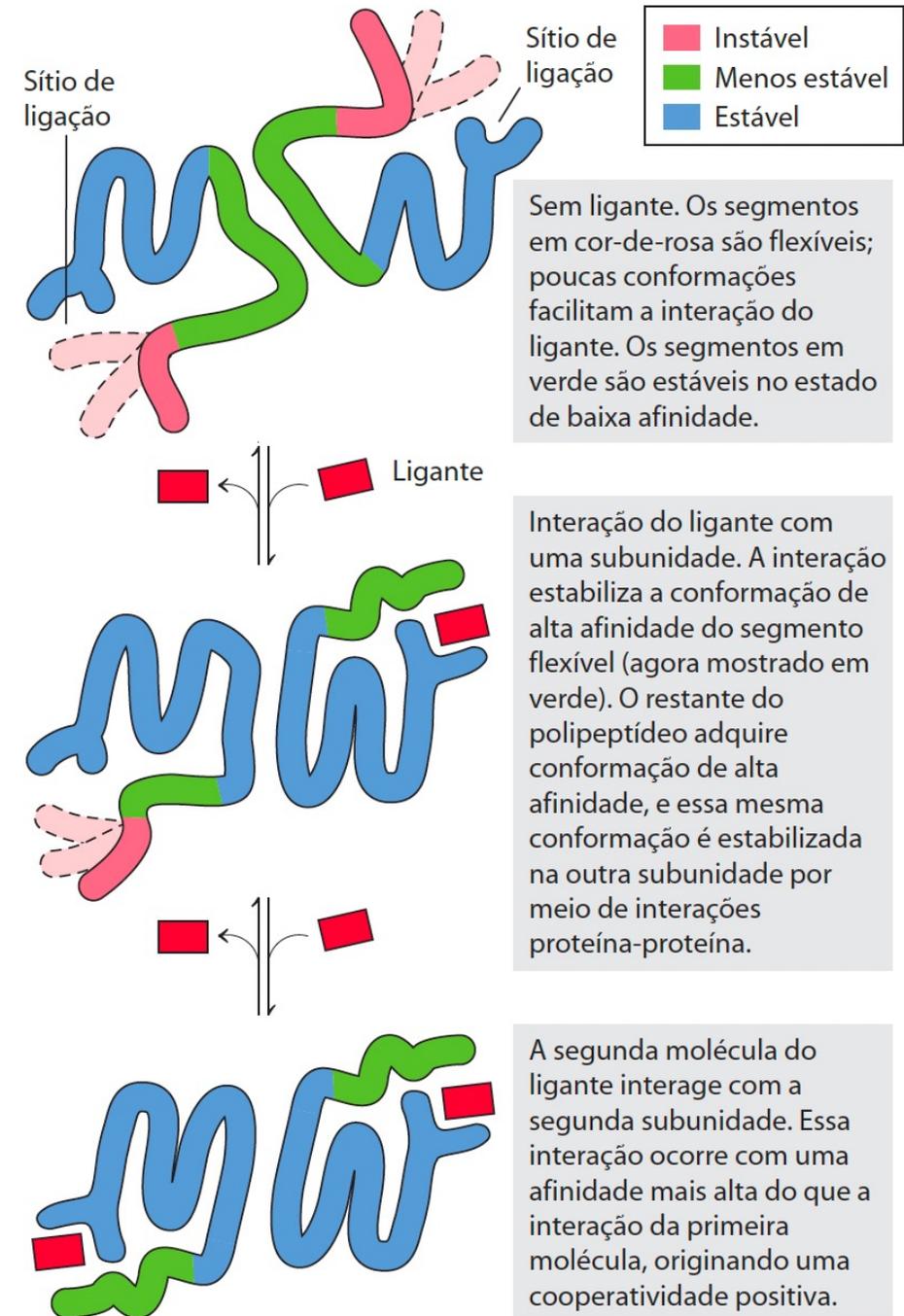


$pO_2$  pulmões = 13,3 kPa (Hb liga);  
 $pO_2$  tecidos = 4 kPa (Hb desliga).

# A hemoglobina (Hb) exhibe alosteria na ligação ao O<sub>2</sub>

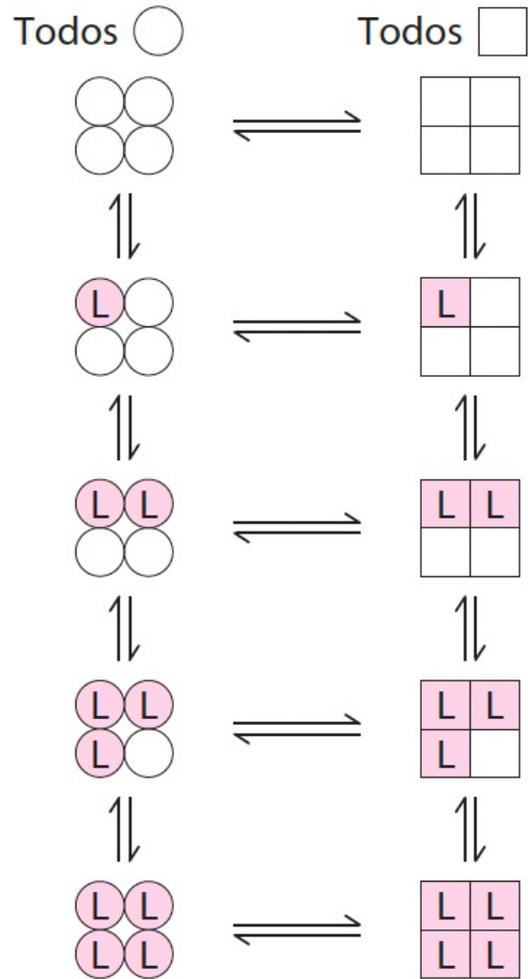
- Uma proteína alostérica é aquela em que a interação com um ligante em um sítio afeta as propriedades de ligação de outro sítio na mesma proteína.
- **Alostérico, do grego *allos*, “outro”, e *stereos*, “sólido” ou “forma”.**
- Interconversão de conformações mais e menos ativas pela união de ligantes.
- **Moduladores (ligantes) de proteínas alostéricas podem ser ativadores ou inibidores.**
- Quando o ligante e modulador são a mesma espécie, a interação é homotrópica. Quando são diferentes, a interação é heterotrópica.
- **O O<sub>2</sub> na hemoglobina é um modulador homotrópico ativador.**

# Ilustração de cooperatividade positiva entre subunidades



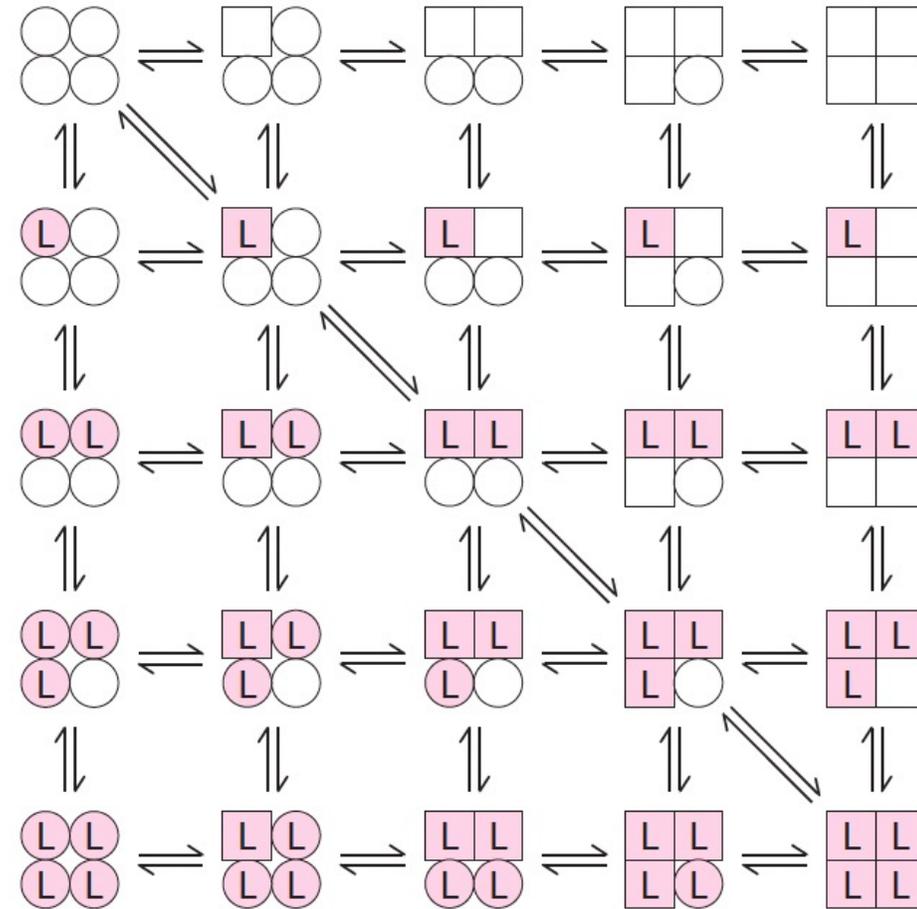
# Dois modelos para as transições alostéricas na hemoglobina

Combinado



(a)

Sequencial



(b)

# Descrição matemática da cooperatividade na hemoglobina (Hb)



e a expressão para a constante de associação torna-se

$$K_a = \frac{[PL_n]}{[P][L]^n} \quad (5-13)$$

A expressão para  $\theta$  (ver Equação 5-8) é

$$\theta = \frac{[L]^n}{[L]^n + K_d} \quad (5-14)$$

Rearranjar e então tomar o log em ambos os lados resulta em

$$\frac{\theta}{1 - \theta} = \frac{[L]^n}{K_d} \quad (5-15)$$

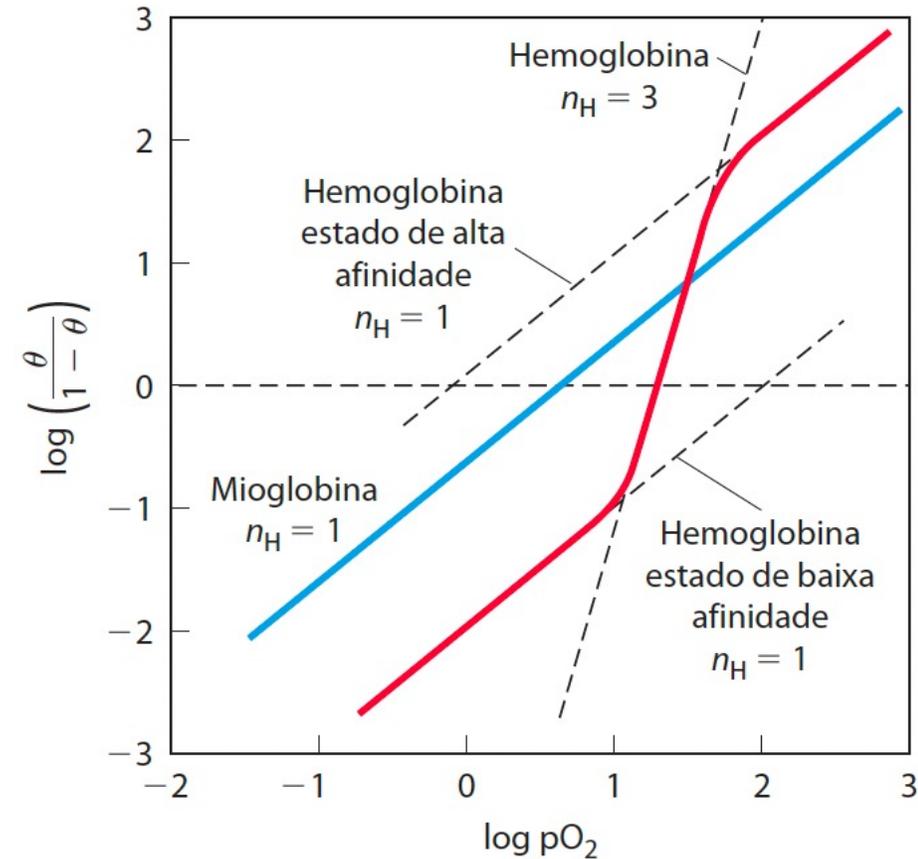
$$\log\left(\frac{\theta}{1 - \theta}\right) = n \log [L] - \log K_d \quad (5-16)$$

em que  $K_d = [L]_{0,5}^n$ .

$$\log\left(\frac{\theta}{1 - \theta}\right) = n \log pO_2 - n \log P_{50} \quad (5-17)$$

**Equação de Hill**

**Curva de Hill**

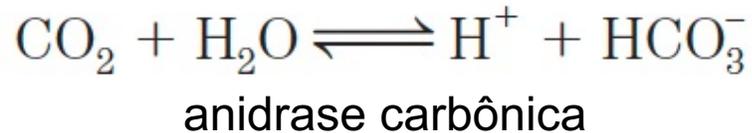


**A inclinação da curva reflete de interação entre os sítios de ligação, uma medida do grau de cooperatividade na proteína**

# A hemoglobina também transporta H<sup>+</sup> e CO<sub>2</sub>

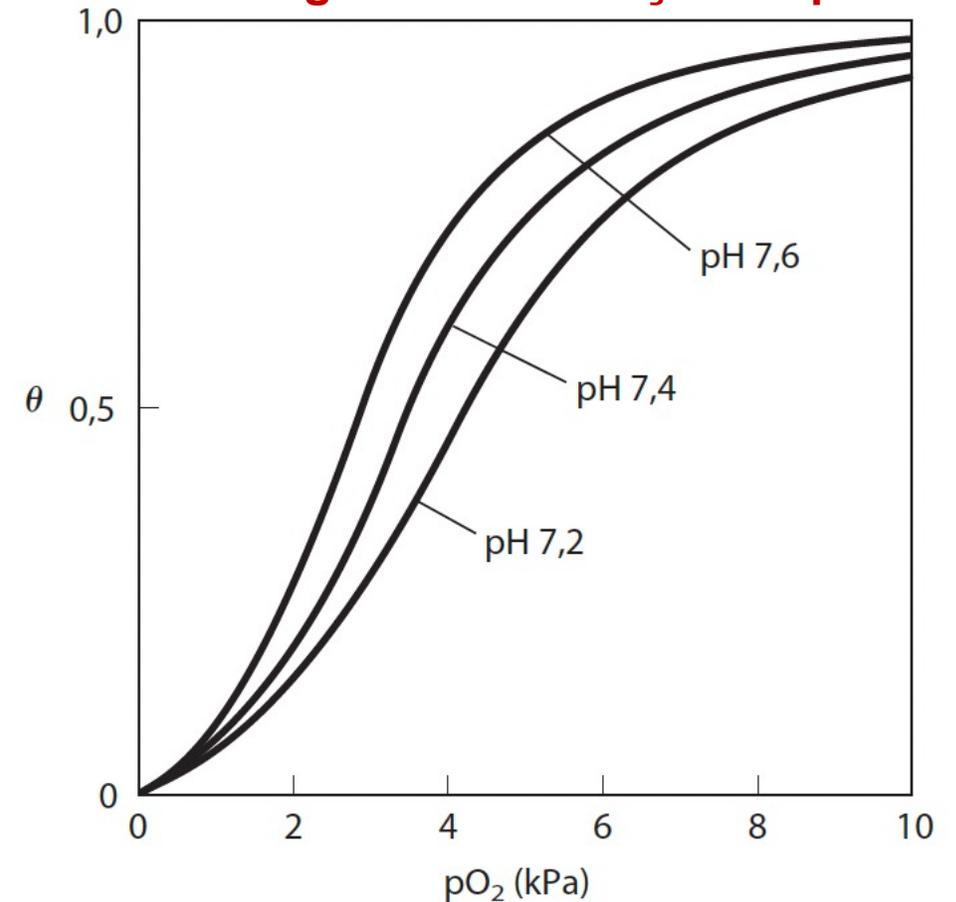
- H<sup>+</sup> e CO<sub>2</sub>, produtos finais da respiração celular, são transportados para os rins e pulmões para secreção.

- Conversão de CO<sub>2</sub> a bicarbonato nos eritrócitos, com diminuição do pH.



- A capacidade da hemoglobina de ligar O<sub>2</sub> varia com o pH e, portanto, é influenciada pelo teor de CO<sub>2</sub> em equilíbrio com bicarbonato. pH menor nos tecidos facilita a liberação de O<sub>2</sub>, Efeito Bohr.

Curvas de saturação da hemoglobina em função do pH

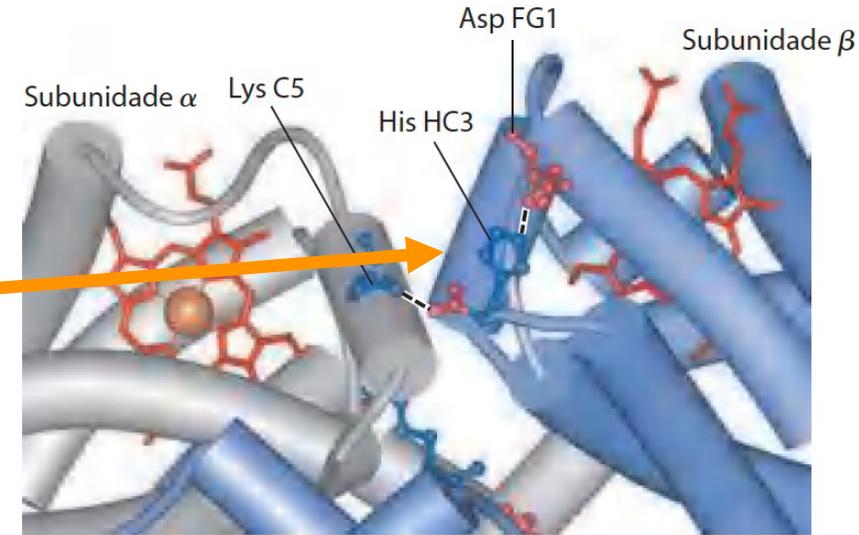


# A hemoglobina também transporta H<sup>+</sup> e CO<sub>2</sub>

- Libera próton, liga O<sub>2</sub> nos pulmões. Liga próton, libera O<sub>2</sub> nos tecidos.

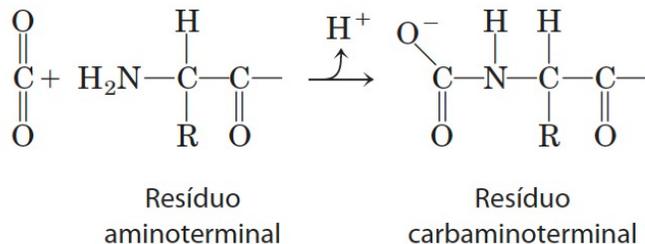
- Qual a base do Efeito Bohr?

Dentre outros, a protonação da histidina HC3 (His 146 no C terminal da cadeia β) favorece formação de ponte salina com Asp FG1 e estabiliza o estado T, de menor afinidade ao O<sub>2</sub>.

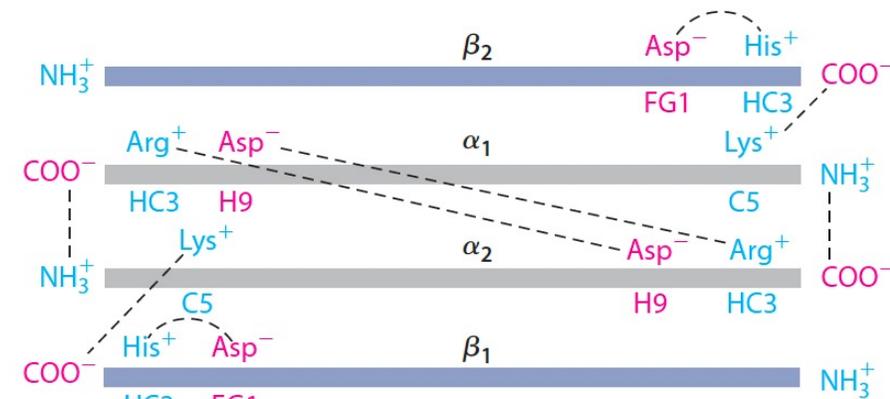


(a)

- Também,



Carbamatos podem formar pontes salinas adicionais que estabilizam o estado T.

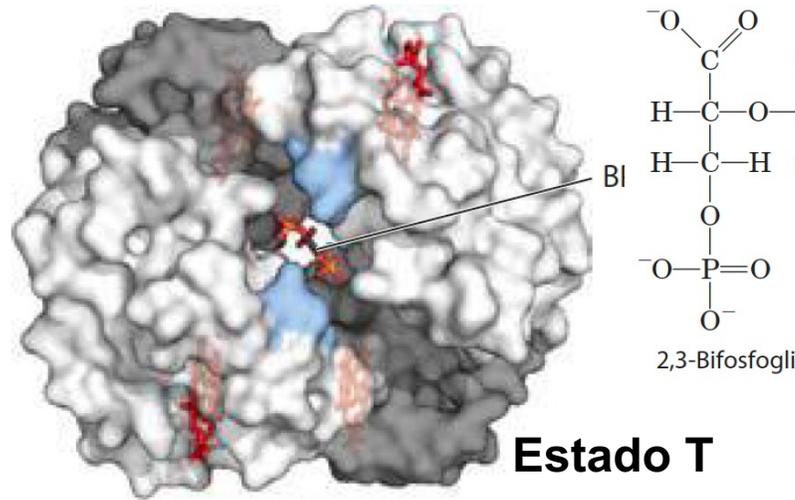


(b)

Estado T

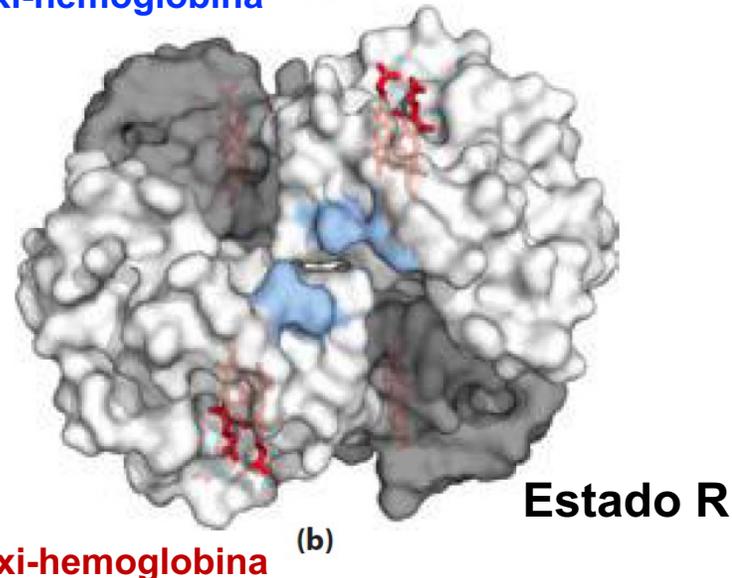
# A influencia do 2,3-bifosfoglicerato (BPG) na ligação do O<sub>2</sub> à hemoglobina

- **BPG, um modulador alostérico heterotrópico que reduz a afinidade da hemoglobina por O<sub>2</sub> por estabilizar o estado T.**

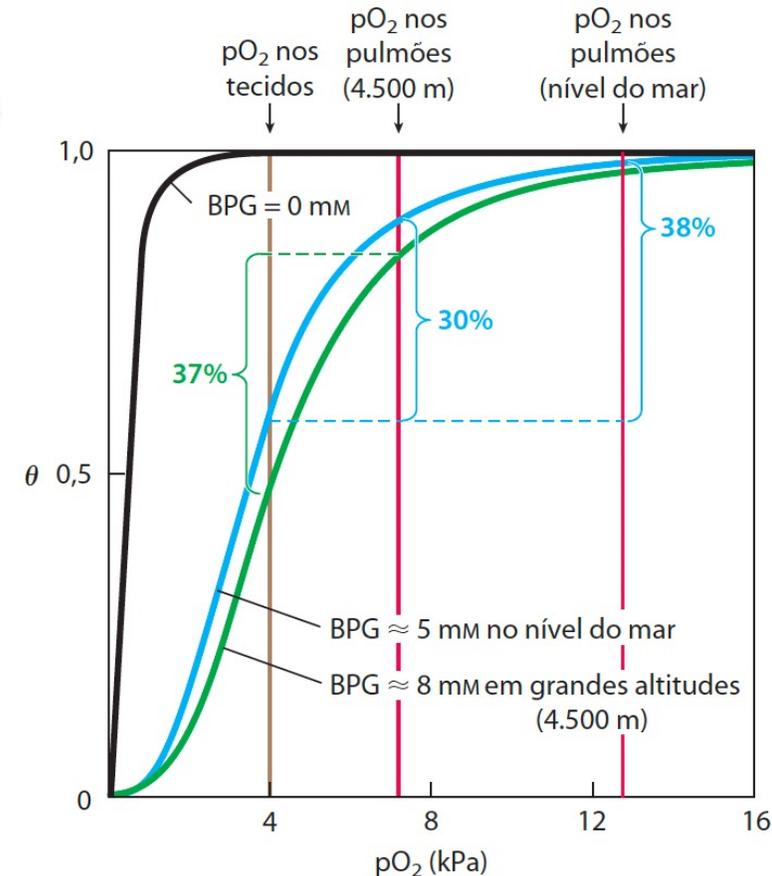


Desoxi-hemoglobina (a)

- **Aumento da [BPG] em grandes altitudes ajuda na liberação do O<sub>2</sub> nos tecidos (~40% capturado pela hemoglobina).**

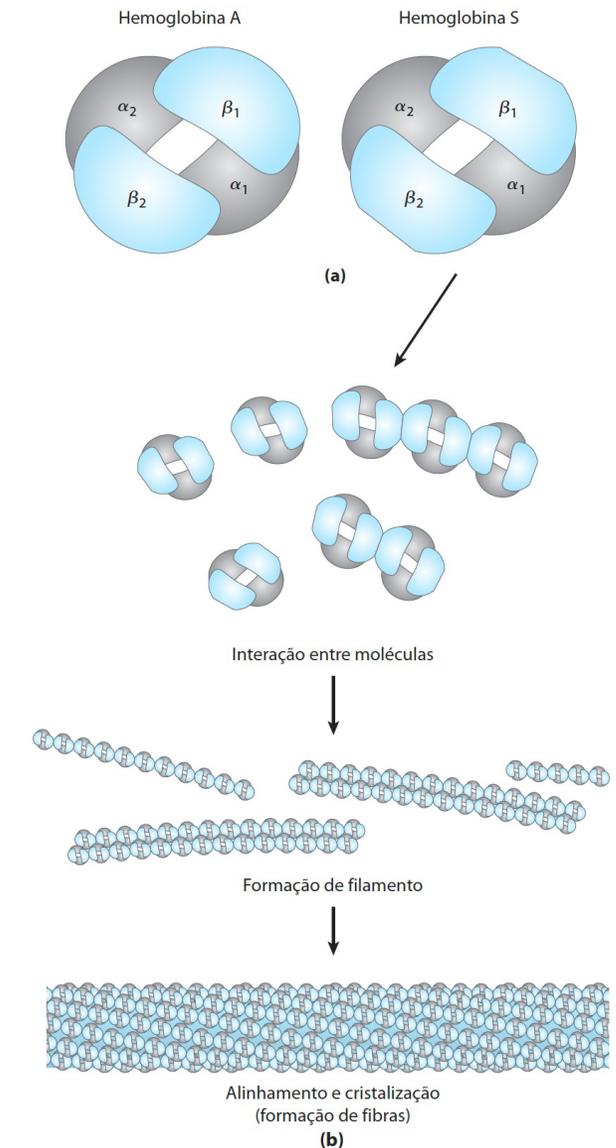


## Curvas de saturação da hemoglobina em função do BPG



# Anemia falciforme: uma doença conformacional da hemoglobina

- Os pacientes possuem eritrócitos anormais, longos e finos em forma de foice, e que existem em menor número.
- Causada por mutações nos genes da hemoglobina.
- O desoxi-hemoglobina mutante ( $Hb\beta^{E6V}$ , denominada S) torna-se insolúvel, formando agregados fibrilares.
- Tais agregados deformam os eritrócitos.
- Em heterozigotos, confere resistência contra a malária (*P. falciparum* depende dos eritrócitos).

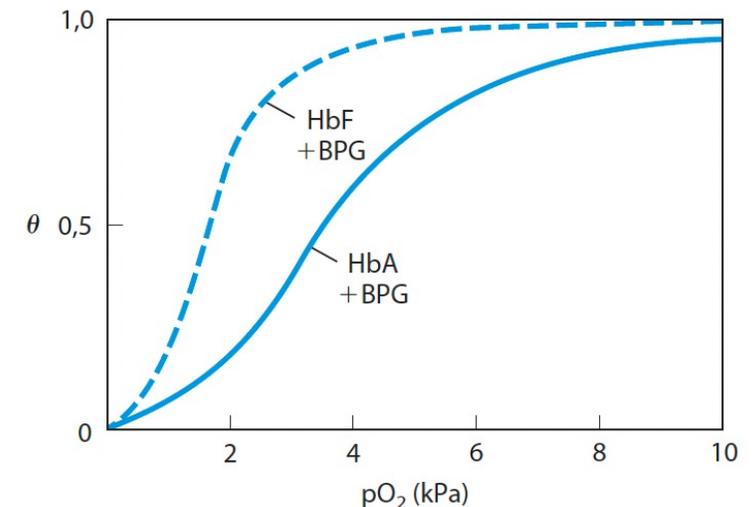


# Exercícios e Problemas

1. Comente como a afinidade da mioglobina e hemoglobina pelo  $O_2$  permitem que estas proteínas cumpram funções biológicas diferentes.
2. Explique alosteria e como esta propriedade regula o transporte de  $O_2$  pela hemoglobina.
3. Sob condições adequadas, a hemoglobina se dissocia em suas quatro subunidades. A subunidade  $\alpha$  isolada se liga ao  $O_2$ , mas a curva de saturação para o  $O_2$  é hiperbólica e não sigmoide. Além disso, a ligação do oxigênio à subunidade  $\alpha$  não é afetada pela presença de  $H^+$ ,  $CO_2$  ou BPG. Qual dessas observações revela a fonte da cooperatividade na hemoglobina?
4. Qual é o efeito das seguintes mudanças sobre a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio? (a) Redução no pH do plasma sanguíneo de 7,4 para 7,2. (b) Redução na pressão parcial de  $CO_2$  no pulmão de 6 kPa (segurar a respiração) para 2 kPa (respiração normal). (c) Aumento no nível de BPG de 5 mM (nível do mar) para 8 mM (grande altitude).

# Exercícios e Problemas

5. Estudos sobre o transporte de  $O_2$  em mamíferos prenhes mostram que as curvas de saturação do  $O_2$  do sangue fetal e do sangue materno são muito diferentes quando medidas sob as mesmas condições. Os eritrócitos fetais contêm uma variante estrutural da hemoglobina, HbF, que consiste em duas subunidades  $\alpha$  e duas subunidades  $\gamma$  ( $\alpha_2\gamma_2$ ), enquanto os eritrócitos maternos contêm HbA ( $\alpha_2\beta_2$ ). (a) Qual das hemoglobinas tem uma afinidade mais alta pelo  $O_2$  em condições fisiológicas, HbA ou HbF? Explique. (b) Qual é o significado fisiológico das afinidades diferentes pelo  $O_2$ ? (c) Quando todo o BPG é cuidadosamente removido das amostras de HbA e HbF, as curvas de saturação medidas (e, conseqüentemente, a afinidade pelo  $O_2$ ) são deslocadas para a esquerda. Contudo, a HbA tem agora uma afinidade maior pelo oxigênio do que a HbF. Quando o BPG é reintroduzido, as curvas de saturação retornam ao normal, conforme mostrado no gráfico. Qual é o efeito do BPG sobre a afinidade da hemoglobina pelo  $O_2$ ? Como as informações dadas podem ser usadas para explicar as diferentes afinidades das hemoglobinas fetal e materna?



# Bibliografia

- **Donald Voet e Judith G. Voet, Biochemistry, 4<sup>th</sup> edition.**
- **David L. Nelson e Michael M. Cox, Princípios de Bioquímica de Lehninger, 6<sup>a</sup> edição.**