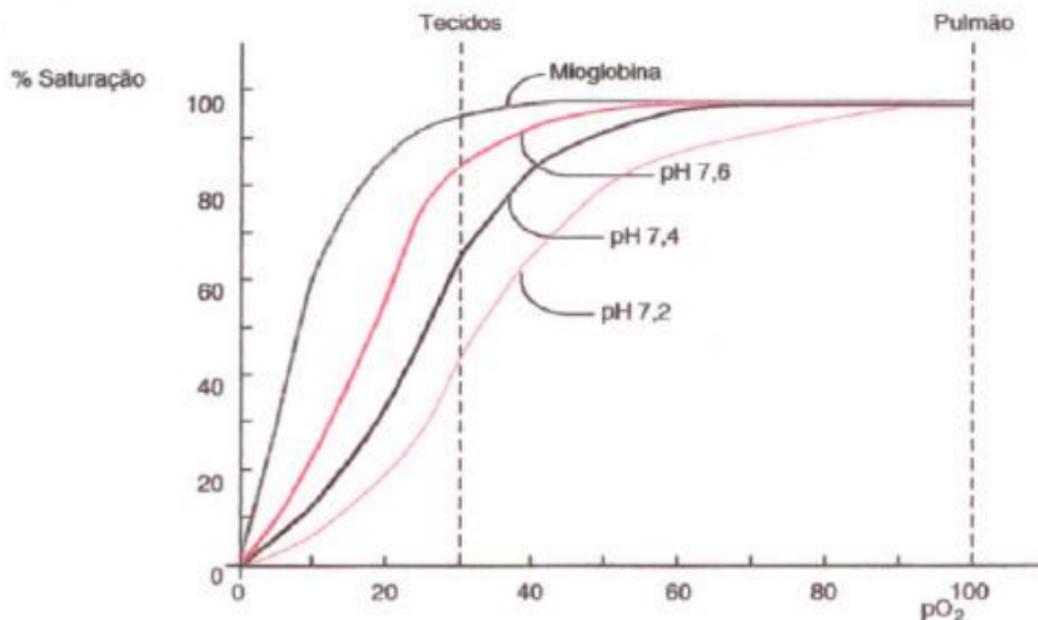


Lista de exercícios 3 – Hemoglobina e enzimas

- 1) O gráfico mostra a curva de saturação por oxigênio da mioglobina e as curvas da saturação da hemoglobina (HbA) em diferentes valores de pH.



- a. Uma solução de hemoglobina, mantida sob pO₂ de 30 torrs, apresentava pH = 7,4. Em experimentos separados, foi adicionado HCl ou NaOH à solução, até que os valores de pH fossem, respectivamente, 7,2 e 7,6. Em qual dos experimentos houve liberação de O₂ pela hemoglobina?

No experimento com adição de HCl ocorre a liberação de O₂. O gráfico indica que com a diminuição do pH (consequência da adição de ácido) a taxa de saturação da hemoglobina diminui.

- b. Uma solução de hemoglobina a pH 7,4 estava submetida a pO₂ de 100 torrs. Que fenômeno deve ocorrer com a hemoglobina se a pO₂ baixar para 40 torrs? E com a mioglobina?

Como indicado no gráfico, nessas condições, a hemoglobina deve liberar O₂, enquanto a mioglobina mantém sua taxa de saturação com pouca alteração.

- c. O pH plasmático nos alvéolos pulmonares (pO₂ = 100 torrs) é 7,4 e nos tecidos (pO₂ = 40 torrs) é 7,2. Que fenômeno deve ocorrer com a hemoglobina nos pulmões e nos tecidos? O que aconteceria se, em vez de hemoglobina, houvesse mioglobina no sangue?

Nos pulmões, a hemoglobina mantém sua taxa de saturação máxima, condição ideal para captação de O₂. Já nos tecidos, a taxa de saturação cai, ocorrendo a liberação de oxigênio como é esperado nos tecidos. Caso a mioglobina estivesse presente no lugar de hemoglobina, a liberação de oxigênio nos

tecidos não seria eficiente, visto que esta mantém sua taxa de saturação mesmo a uma menor pressão de O₂ e pH.

d. A mioglobina, sob uma mesma pO₂, deve doar ou receber oxigênio da hemoglobina?

A mioglobina deve receber O₂ da hemoglobina. O gráfico indica que a afinidade por O₂ é maior para mioglobina do que para hemoglobina.

e. Comparar a curva de saturação por oxigênio para a hemoglobina fetal com a curva de HbA.

A hemoglobina fetal deve possuir maior afinidade por O₂ mesmo em condições de pH mais baixo e menor pressão de O₂. Dessa forma, a curva de hemoglobina fetal deve ser deslocada para cima em comparação à curva de HbA, mantendo o mesmo ponto inicial e limite (máximo).

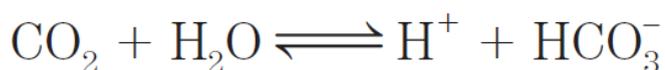
2) Descrever o processo de manutenção do pH do sangue através da interação dos sistemas HHb/HbO₂ e CO₂/HCO₃⁻ nos tecidos e pulmões. Considerar o efeito Bohr e as alterações de pKa de radicais da hemoglobina provocadas pela ligação com oxigênio.

A captação/liberação de O₂ pela hemoglobina também envolve a captação/liberação de H⁺ a partir do seguinte equilíbrio:



A partir desse equilíbrio, a concentração de H⁺ no meio (pH) influencia na captação de O₂ pela hemoglobina. Em concentrações baixas de H⁺ (pH mais alto, como nos alvéolos pulmonares), o equilíbrio é deslocado para direita, direção de captação de O₂. Na situação contrária, em concentrações de H⁺ mais altas (pH mais baixo, como nos tecidos), o equilíbrio é deslocado no sentido oposto, de liberação de O₂.

A concentração de H⁺, por sua vez, é modulada pela presença de CO₂ a partir da reação catalisada pela anidrase carbônica, que compõe o tampão bicarbonato do sangue:



Portanto, além da ação direta de H⁺ sobre a hemoglobina, deve-se considerar também a ação indireta de CO₂. A influência de H⁺ de CO₂ sobre a afinidade da hemoglobina por O₂ é denominada Efeito Bohr.

A ligação do oxigênio à hemoglobina promove mudanças conformacionais (estado T e R) que tem como consequência a variação de pKas de várias cadeias laterais. No estado T (baixa afinidade por O₂) o pKa da cadeia lateral da His146 aumenta, favorecendo a captação do próton representado na primeira equação.

3) Por que temperatura e/ou pHs extremos podem ser danosos ao funcionamento da maioria das enzimas?

O aumento da temperatura representa também um aumento do grau de agitação dos átomos e moléculas, instabilizando eventuais interações e ligações. Como a estrutura tridimensional das proteínas, essencial para suas funções, é dependente de interações intra e intermoleculares relativamente fracas, essas moléculas possuem grande sensibilidade a variações térmicas.

Parte das interações que mantém a estrutura de proteína envolvem grupos ionizáveis, cujo estado é dependente do pH. Dessa forma, variações de pH podem gerar mudanças nos estados de tais grupos, afetando diretamente as interações possíveis e conseqüentemente a estrutura e função da proteína.

4) Assinalar verdadeiro ou falso.

- A. **(F)** Uma enzima acelera a velocidade da reação devido a uma mudança no equilíbrio da reação na direção de formação de produtos.
- B. **(V)** No caso de uma mutação de valina para leucina na região do sítio ativo de uma enzima pode ser que ela ainda continue interagindo eficientemente com o substrato.
- C. **(V)** Uma mutação de alanina para lisina no sítio ativo de uma enzima provavelmente acarretará na perda de ligação ao substrato.
- D. **(F)** Se uma molécula com estrutura similar ao substrato se ligar covalentemente a um importante resíduo catalítico de uma enzima, ela ainda continuará exercendo sua função como catalisador.
- E. **(V)** A enzima diminui a energia de ativação para obtenção do estado de transição fazendo com que a reação ocorra mais rapidamente.
- F. **(V)** Um metal como Zn²⁺ pode ser um cofator na catálise enzimática.
- G. **(F)** Uma vitamina é a porção da coenzima que pode ser sintetizada pelo organismo, e o restante não.

H. (F) O valor de ΔG de uma reação catalisada enzimaticamente é menor do que de uma reação não catalisada.

I. (V) A enzima pode ser reutilizada após a catálise.

J. (F) O substrato se liga de maneira irreversível ao sítio ativo.

K. (F) O sítio ativo de uma enzima de hidrolisa lipídeos é igual ao de uma que hidrolisa proteínas.

L. (V) Os cofatores servem para ampliar as possibilidades de tipos de catálise das enzimas além daquelas que poderiam ser realizadas pelas suas cadeias laterais de aminoácidos.

5) Classifique as afirmações abaixo como verdadeiras ou falsas:

A. (F) Sempre que o número de moléculas de substrato for maior que o número de moléculas de enzimas, todas as moléculas de enzimas estarão ligadas a uma molécula de substrato.

B. (V) A velocidade da reação é proporcional ao tempo da reação.

C. (V) A velocidade da reação é proporcional à concentração de substrato.

D. (V) A velocidade da reação é proporcional à concentração de enzima, desde que a concentração de substrato não seja limitante.

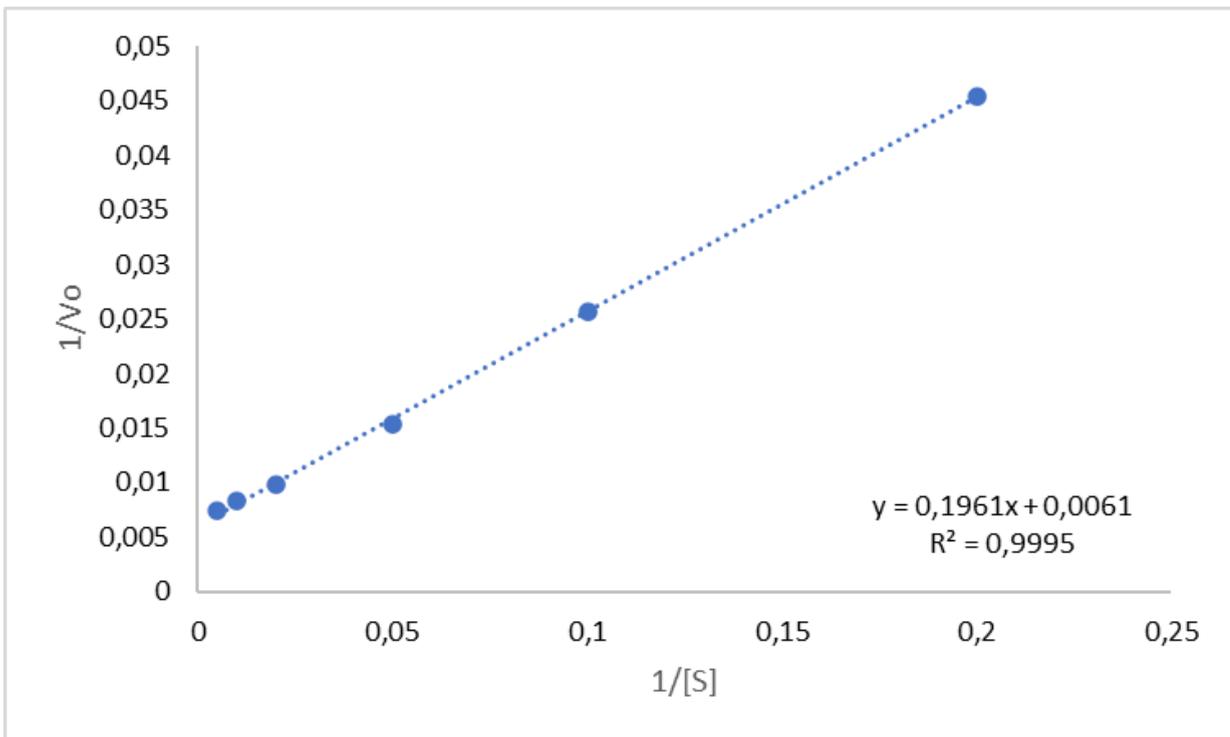
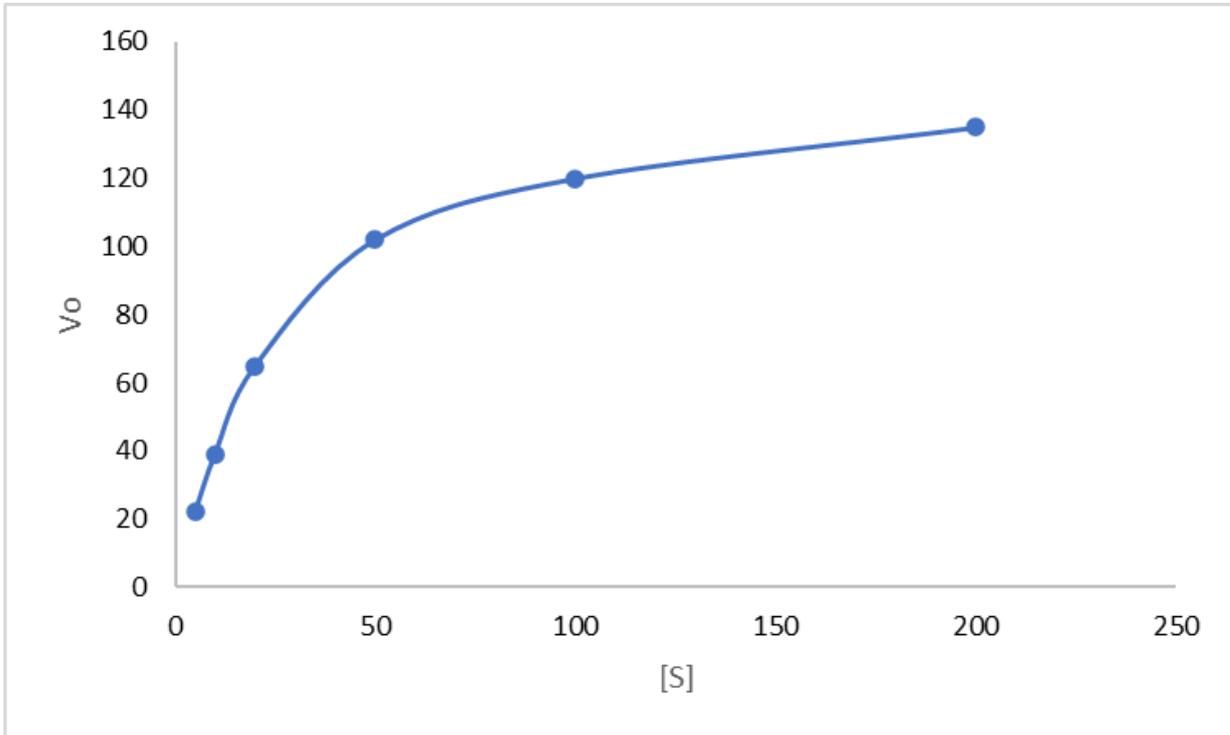
E. (V) A velocidade da reação é proporcional à concentração do complexo enzima-substrato.

F. (V) A quantidade de produto formado depende do tempo da reação.

G. (F) Ao final de cada reação enzimática todo substrato foi convertido em produto.

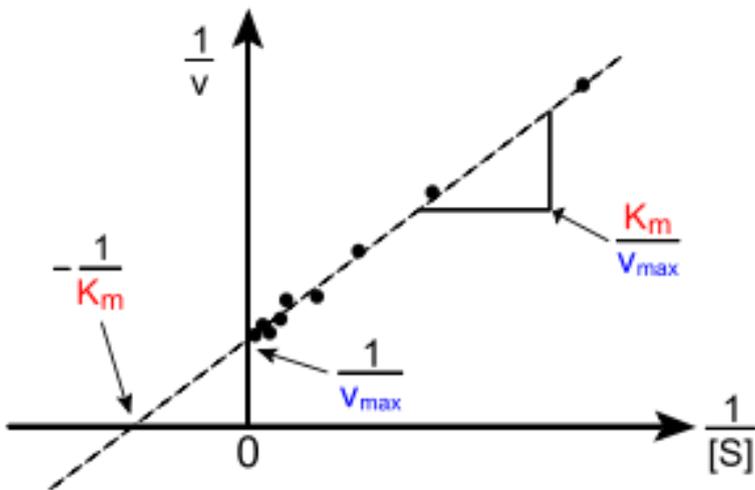
6) As velocidades de uma reação enzimática foram determinadas para diversas concentrações de substrato, conforme a tabela abaixo. Construir os gráficos de V_0 em função de $[S]$, e o de seus inversos (plote de Lineweaver-Burk). Apresentar os valores de K_M e V_{max} obtidos.

[S] (mM)	V_0 (U/mL)
5	22
10	39
20	65
50	102
100	120
200	135



Obs: os gráficos estão nas mesmas unidades fornecidas pelo exercício.

Lembrando que:



$$V_{\max} = 1/0,0061 = 164 \text{ U/mL}$$

$$K_M = 164 \times 0,1961 = 32 \text{ mM}$$

7) Numa reação enzimática, o valor de V_{\max} , mas não o de K_M , é diretamente proporcional à concentração da enzima. O valor de K_M de uma enzima não muda. Justifique.

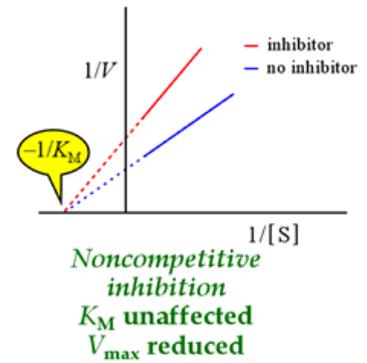
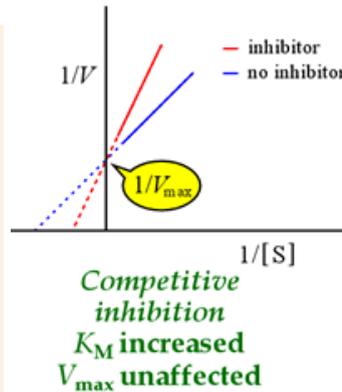
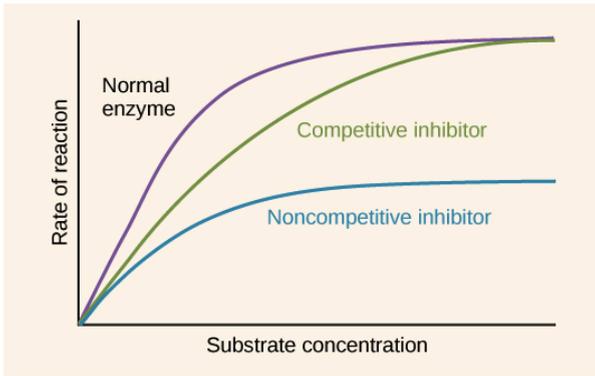
V_{\max} é um valor de velocidade inicial máxima, sendo dependente da concentração do complexo ES. Se a quantidade de substrato não for limitante, um aumento na concentração de enzima leva a um aumento diretamente proporcional na concentração de complexo ES e, conseqüentemente, da velocidade.

K_M , por outro lado, se refere a uma medida de afinidade da enzima por seu substrato, uma constante intrínseca da interação entre as moléculas. Dessa forma, a concentração não exerce qualquer influência sobre K_M .

8) Definir inibidor competitivo e não competitivo. Esquematize os gráficos (tradicional e inverso) do exercício 6 com novas curvas considerando: **a.** Uma inibição competitiva; **b.** Uma inibição não competitiva.

Inibidor competitivo: se liga à enzima no mesmo sítio ativo de ligação do substrato, impedindo o reconhecimento do substrato e impedindo a catálise.

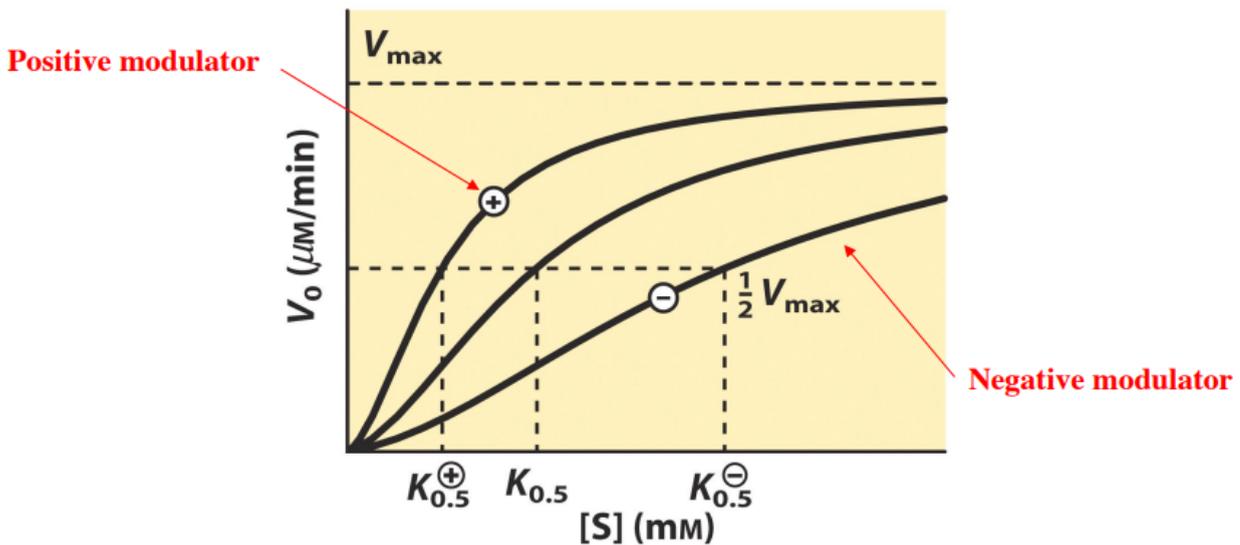
Inibidor não-competitivo: se liga à enzima em um sítio diferente do sítio ativo de ligação do substrato, podendo promover mudanças conformacionais que dificultem o reconhecimento do substrato e/ou a catálise em si.



Obs: nos livros vocês podem encontrar outros tipos de inibição, mas foquem apenas nessas duas (que foram citadas em aula!).

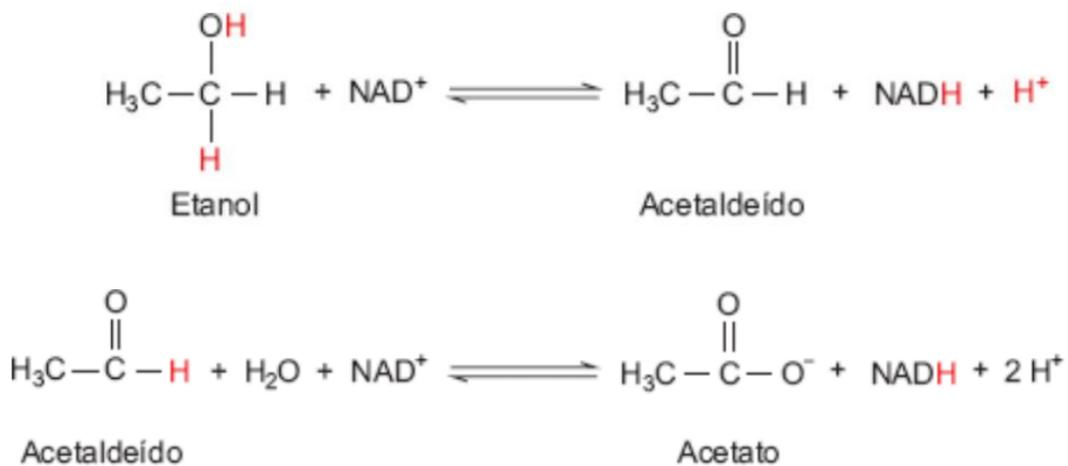
9) O que são enzimas alostéricas? Defina utilizando-se de gráficos esquemáticos de V em função de $[S]$, compare uma enzima michaeliana com uma enzima alostérica positiva e com uma enzima alostérica negativa.

Enzimas alostéricas são aquelas que sofrem mudança conformacional a partir da ligação com outra molécula denominada efetador alostérico. Tal molécula pode ou não ser substrato da enzima.



10) Joãozinho vai a uma festa e bebe exatamente a mesma quantidade alcoólica que sua amiga Mariazinha, mas apresenta efeitos claramente mais exacerbados de embriaguez. Baseado nas informações fornecidas abaixo justifique essa observação com relação a ambas as enzimas apresentadas.

1. A conversão de etanol em acetaldeído é realizada pela álcool desidrogenase, ao passo que a conversão de acetaldeído em acetato é catalisada pela acetaldeído desidrogenase.
2. A maior parte dos efeitos da embriaguez é provocada por níveis elevados de acetaldeído.
3. A álcool desidrogenase de Joãozinho e Mariazinha possuem mesmo valor de K_M , mas a enzima de Joãozinho possui valor de k_{cat} 4 vezes maior.
4. Joãozinho tem uma mutação que aumenta o valor de K_M da versão da enzima acetaldeído desidrogenase.



A sensibilidade de Joãozinho é consequência de acúmulo de acetaldeído. A álcool desidrogenase de Joãozinho possui maior k_{cat} , portanto gera acetaldeído a partir de etanol com maior velocidade. A acetaldeído desidrogenase de Joãozinho, por sua vez, possui maior K_M (menor afinidade por acetaldeído), o que dificulta o reconhecimento do substrato e consequentemente a catálise. Assim, após ingestão de álcool, Joãozinho sofre com uma maior formação de acetaldeído e um menor consumo desse metabólito em comparação a Mariazinha.