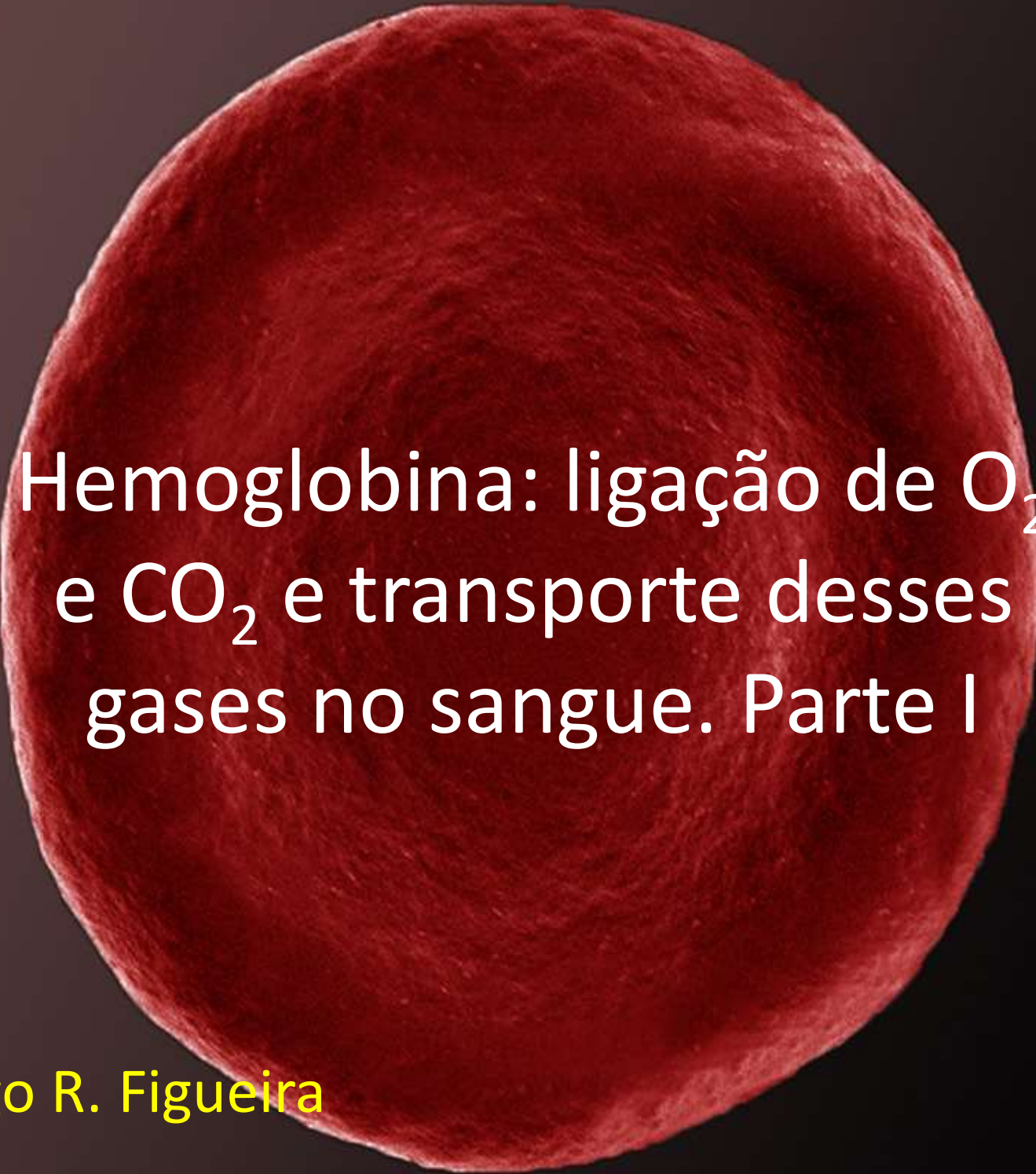




Hemoglobina: ligação de O_2
e CO_2 e transporte desses
gases no sangue. Parte I

Prof. Dr. Tiago R. Figueira
EEFERP/USP

Sumário

1. Introdução

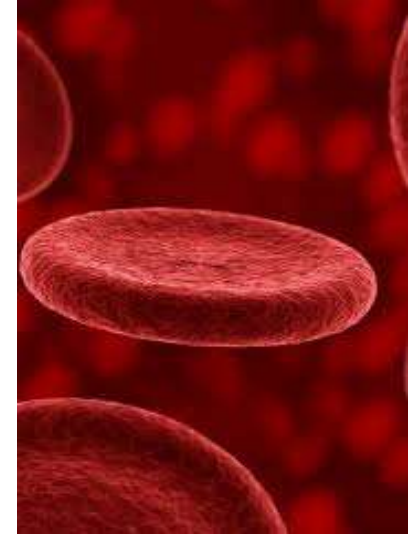
- Conhecendo a hemoglobina e seus ligantes

2. Ligação entre oxigênio e hemoglobina

3. Dishemoglobinas e Hemoglobinopatias

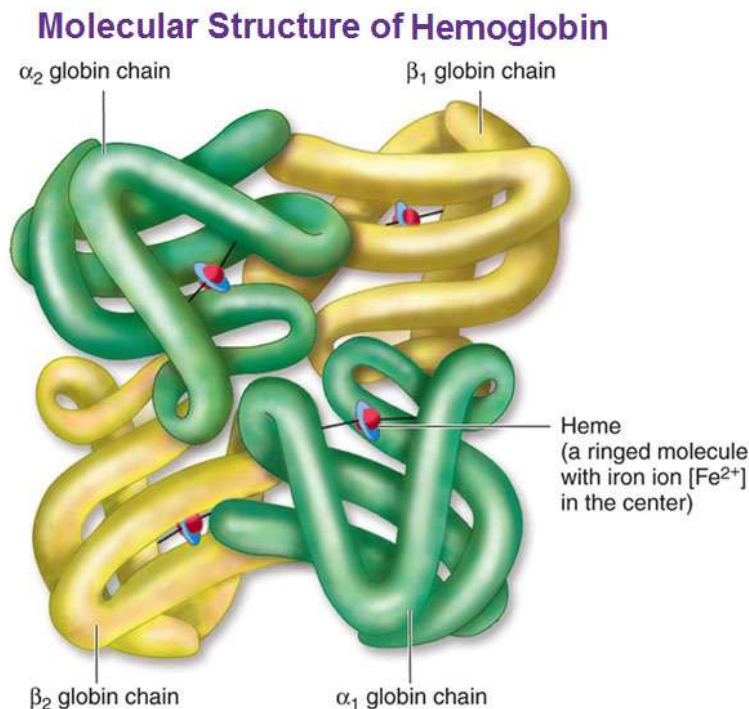
Conhecendo a hemoglobina

- Proteína abundante nas hemácias e no sangue
- Papel amplamente conhecido no transporte de O_2
 - Também transporta CO_2
- É bastante estudada e serve de “modelo didático” para o estudo da interação proteína-ligante.



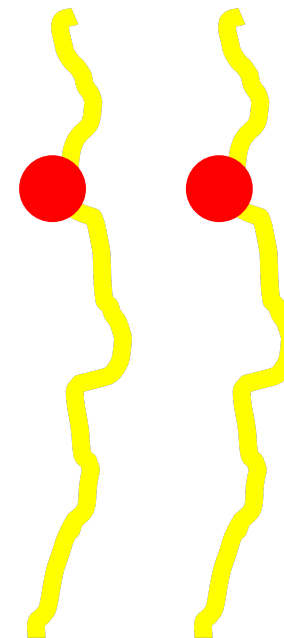
Característica estrutural da hemoglobina (Hb) do humano adulto saudável

- Heterotretâmero globular de 64,5 kDa e $\Phi = \sim 5$ nm
 - 4 subunidades polipeptídicas de ~ 16 kDa cada
- Cada subunidade tem um grupo prostético, o heme.



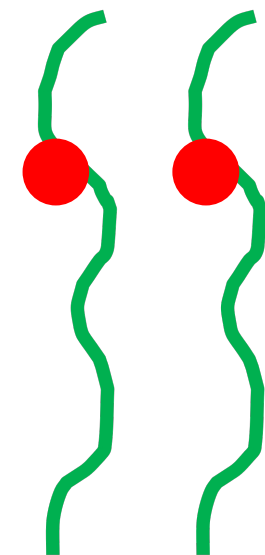
<https://www.rcsb.org/3d-view/2HBS/1>

Cadeia Beta



146 aas

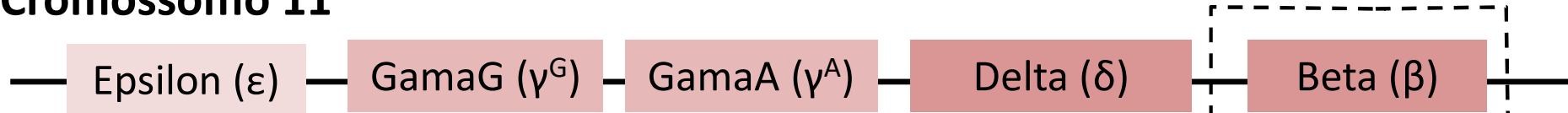
Cadeia alfa



141 aas

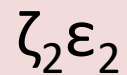
Os vários genes que codificam os polipeptídios que formam hemoglobinas

Cromossomo 11

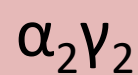


Tipos de hemoglobinas

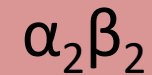
Embrião



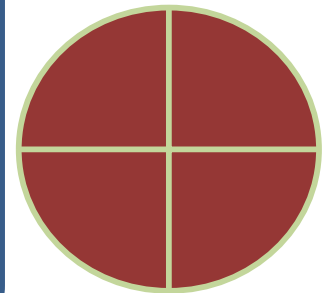
Feto



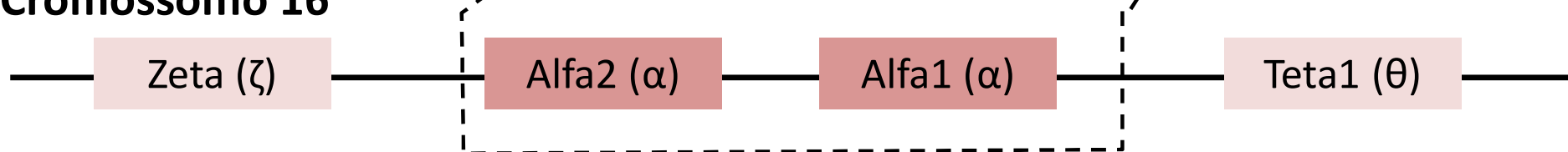
Adulto



Hb



Cromossomo 16



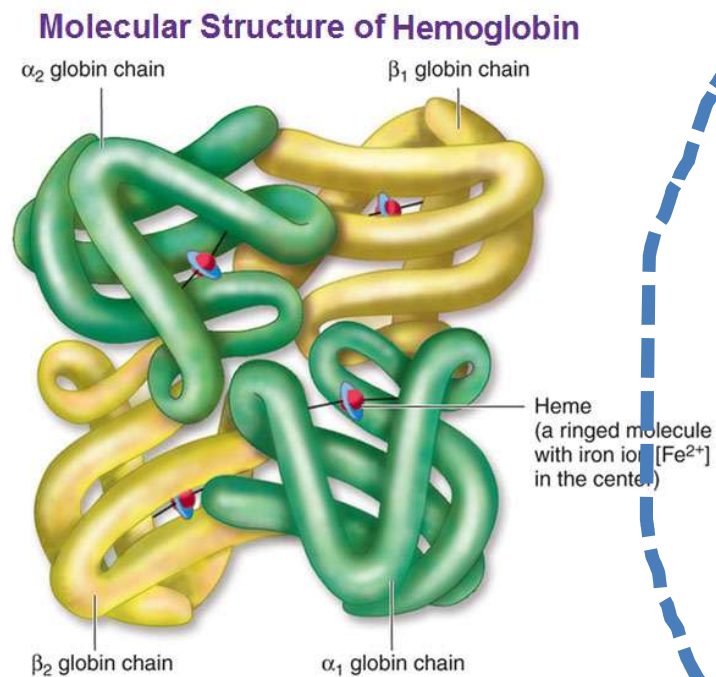
Hemoglobina para que ? Fatos que demonstram a importância da hemoglobina

- A vida depende primordialmente do metabolismo aeróbio, o que requer contínuo oferecimento de O_2 aos tecidos periféricos
- A solubilidade do O_2 é baixa em meio aquoso, de modo que há pouco O_2 dissolvido no sangue, somente ~ 3 mL/L.
- O sangue arterial possui elevado conteúdo total de O_2 (~ 200 mL de O_2 /L de sangue) porque nele há uma proteína ligadora de O_2 : **a hemoglobina**

Numeros que ilustram a importância da hemoglobina no transporte de O_2

- ❖ Solubilidade do O_2 em meio aquoso a 37 °C: 0,03 mL/L/mmHg
 - ❖ Conteúdo de O_2 dissolvido no sangue arterial ($PO_2 = 100$ mm Hg): 3 mL/L
- ❖ 150 g de hemoglobina/L de sangue (~2,4 mM)
- ❖ 1,39 mL de O_2 /grama de hemoglobina
(Obs. saturação de 97,5% a 100 mmHg de PO_2)
- ❖ Com o auxílio da hemoglobina o sangue é capaz de conter 206 mL de O_2 /L – ~ 98% do O_2 estão ligados a Hb

O oxigênio e outros ligantes da hemoglobina



4 sítios ligantes de O_2

- Fe^{2+} do heme de cada subunidade

Sítios aceptores de H^+ :

- His C-terminal das cadeias betas
- Outros resíduos de His (pK_a 6,0)

4 sítios que **podem** ligar CO_2 :

- Grupo amino N-terminal em cada subunidade

1 sítio ligante de 2,3-bifosfoglicerato (BPG):

- Cavity formada entre as duas cadeias betas

Em função das propriedades mencionadas, a hemoglobina faz:

Transporte de O_2

Transporte de CO_2

Tamponamento do pH

Sumário

1. Introdução

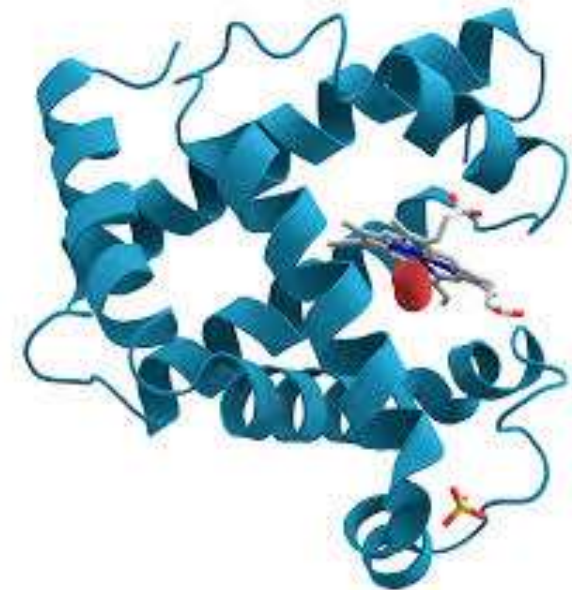
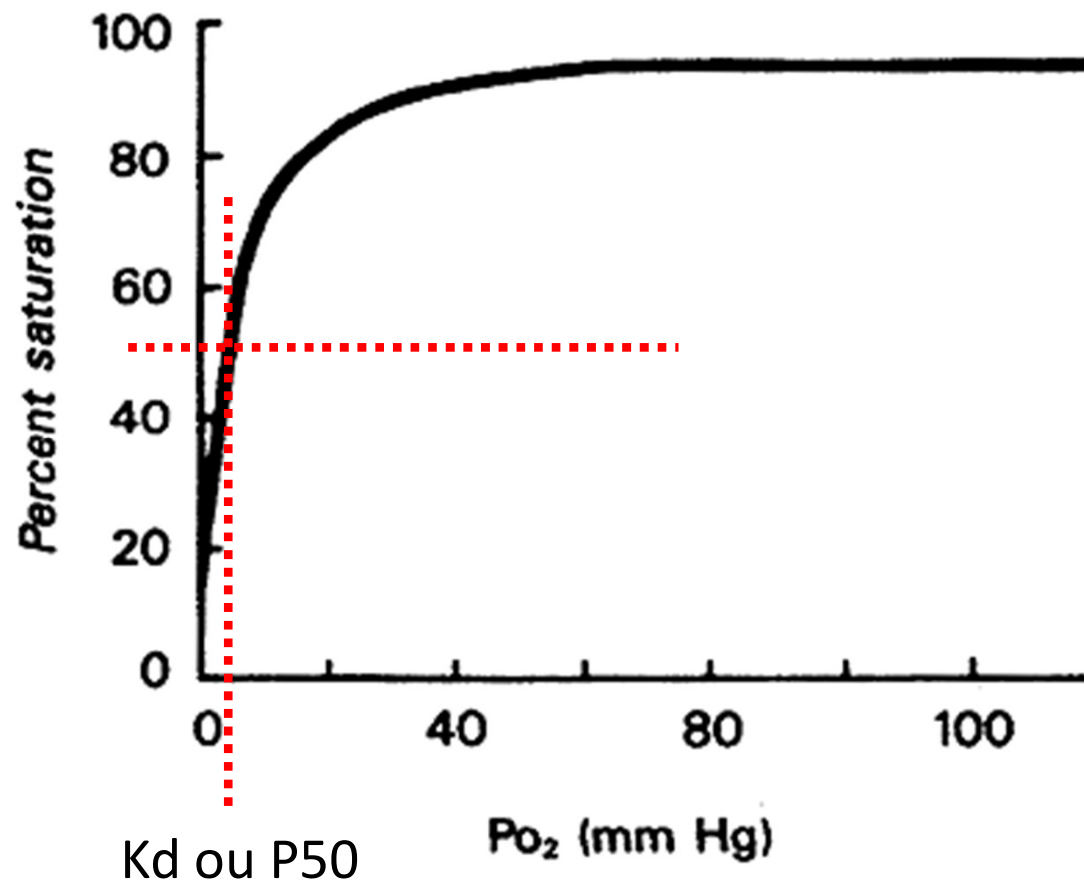
- Conhecendo a hemoglobina e seus ligantes

2. **Ligação entre oxigênio e hemoglobina**

3. Dishemoglobinas e Hemoglobinopatias

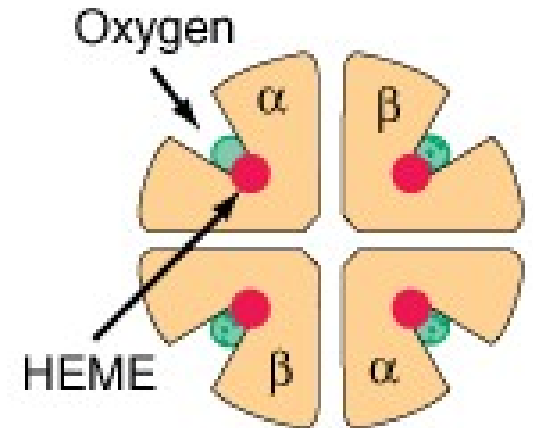
Já estudamos a ligação de O_2 a uma globina monomérica

A mioglobina tem exatamente este perfil de saturação em resposta ao aumento de [ligante]



A ligação do O_2 à hemoglobina tem um perfil mais “sofisticado”

❖ Se os 4 sítios de ligação estiverem desocupados, a primeira ligação de O_2 ocorre com menor afinidade ($\uparrow P_{50}$)



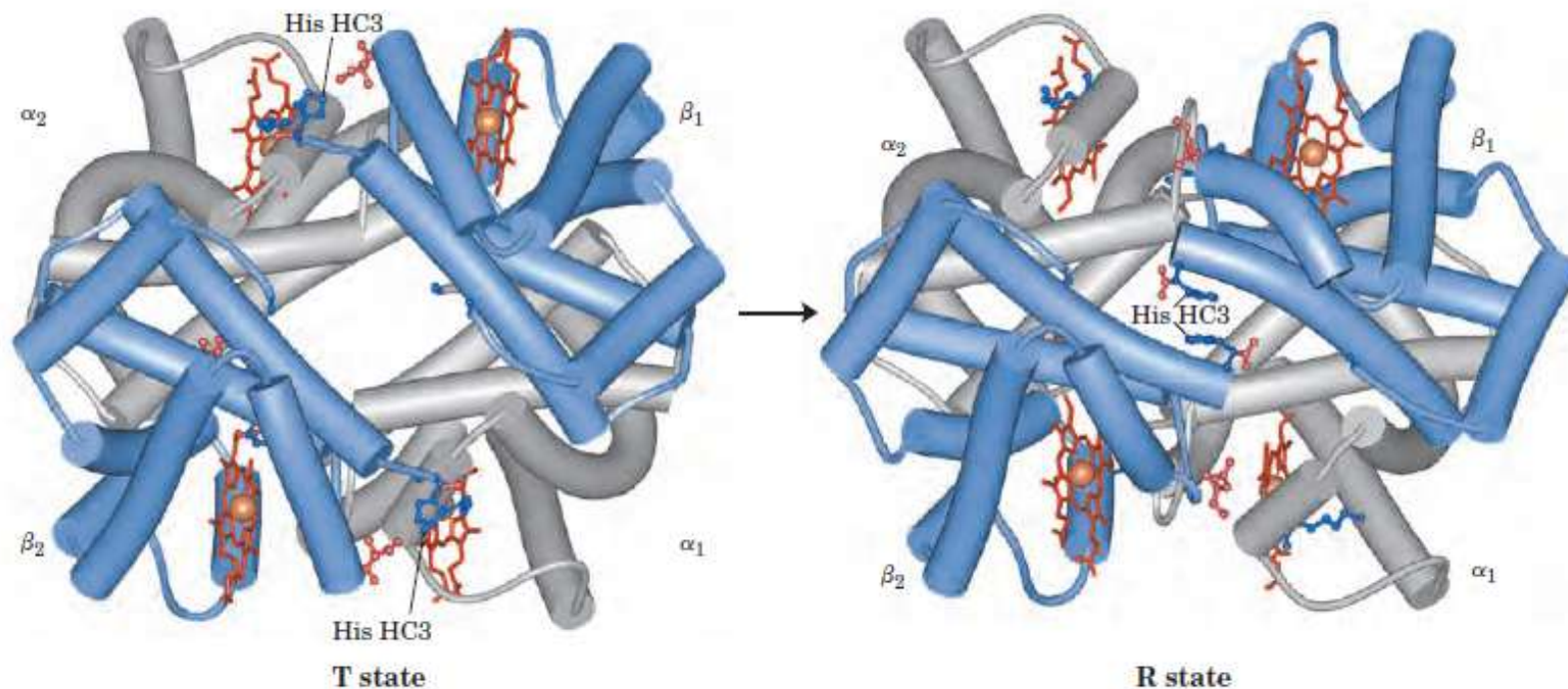
❖ A ligação do O_2 aos demais sítios desocupados ocorrerá com maior afinidade ($\downarrow P_{50}$)

Essa característica de ligação é chamada “**cooperativa**”

- Ocorre somente em proteínas com subunidades

Por que a ligação O_2 -hemoglobina é cooperativa?

Há dois estados conformacionais da proteína, um tem menor afinidade de ligação ao O_2 do que o outro

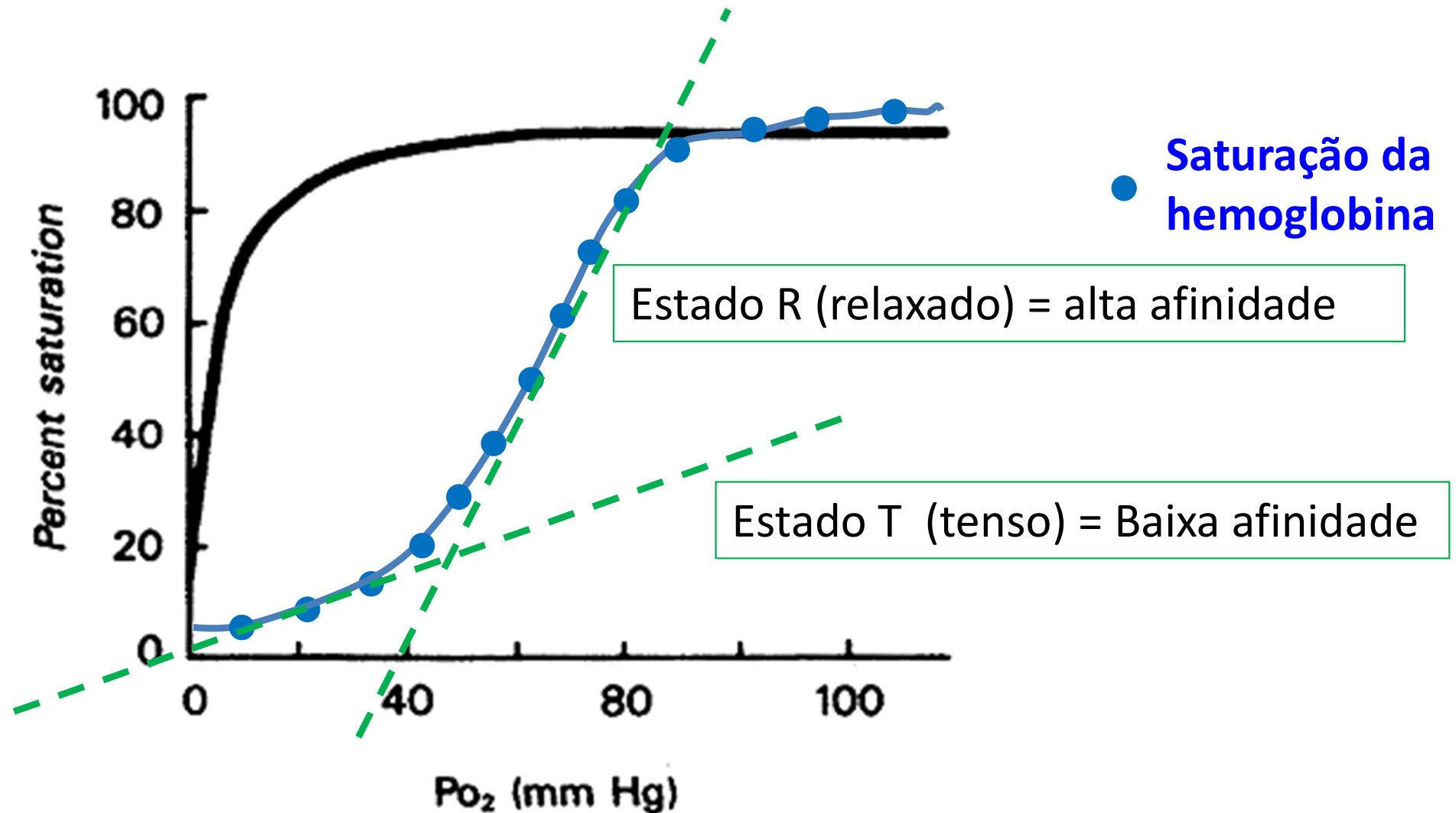


Menor afinidade pelo O_2

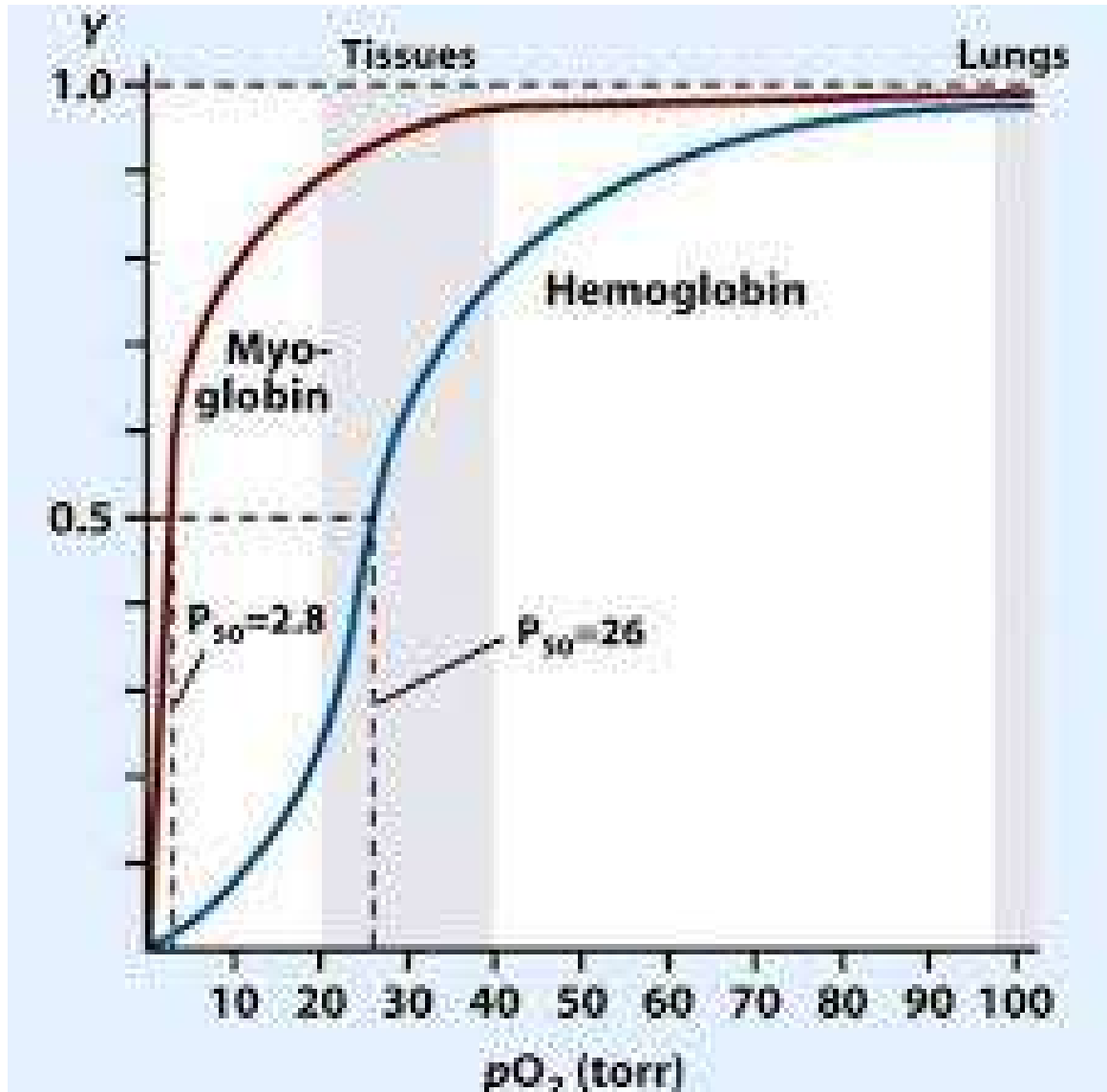
Maior afinidade pelo O_2

A ocupação de um dos quatro grupamentos heme pelo O_2 causa a transição do estado T para o R

A relação entre Saturação da Hb e PO_2 reflete a ligação cooperativa entre O_2 e proteína



Comparação das afinidades de ligação (P_{50}) entre mioglobina- O_2 e hemoglobina- O_2



$$\theta = \frac{(PO_2)^n}{(P_{50})^n + (PO_2)^n}$$

n é o *coeficiente de Hill*

$n = 1$ = hipérbole

$n > 1$ – cooperação positiva

$n < 1$ – cooperação negativa

n da Hb é 3

Sumário

1. Introdução

- Conhecendo a hemoglobina e seus ligantes

2. Ligação entre oxigênio e hemoglobina

3. **Dishemoglobinas e Hemoglobinopatias**

Dishemoglobinas e variantes genéticas da hemoglobina

Dishemoglobinas

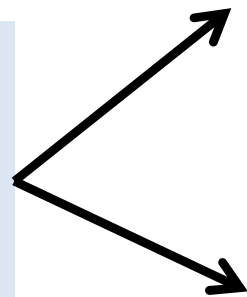
Condição geralmente adquirida (tóxica)



Alterações bioquímicas da Hb

- Carboxi-hemoglobina
- Meta-hemoglobina
- Sulfa-hemoglobina

Variantes genéticas da Hb



Não patológicas

- Sem fenótipo
- Pequenas alterações de hemograma

Hemoglobinopatias

- Talassemias (expressão dos genes)
- Variantes estruturais

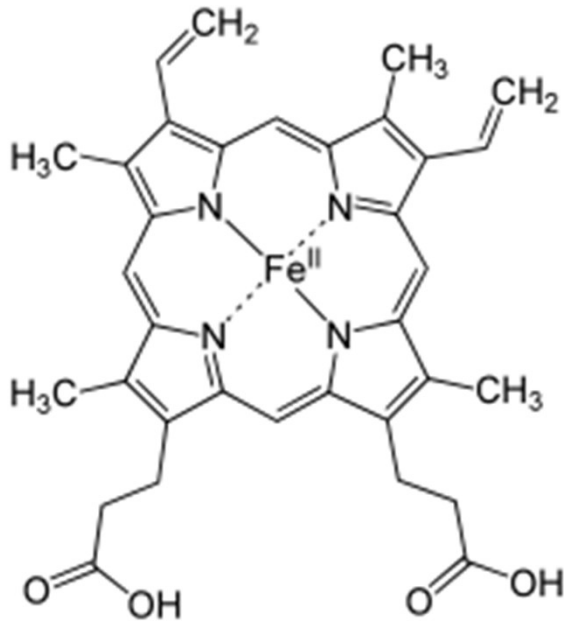
Dishemoglobinas

Alterações bioquímicas da Hb

- Carboxi-hemoglobina
- Meta-hemoglobina
- Sulfa-hemoglobina

Geralmente adquiridas e afetam o transporte de O_2

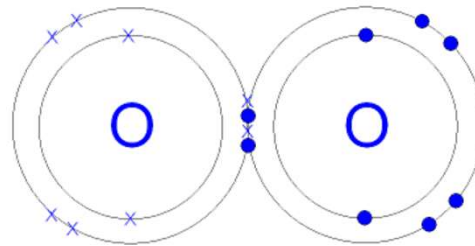
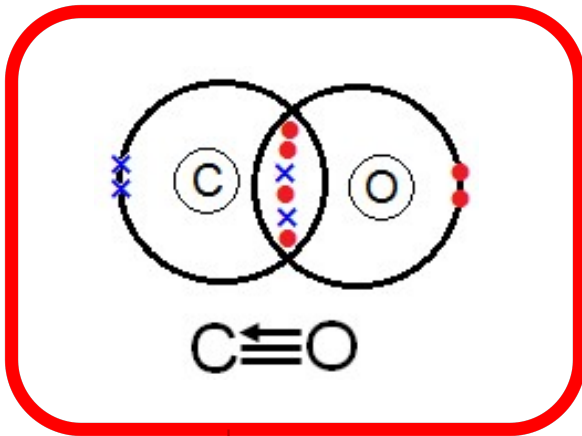
Heme
Contendo Fe^{2+} que liga O_2



- Monóxido de carbono (CO) se liga ao Fe^{2+}
- Agentes oxidantes (alterações congénicas e intoxicações) oxidam o Fe^{2+} em Fe^{3+}
- Sulfatos (SO_4^{2-}) devido a intoxicações ou metabolismo de bactérias

Quem é o gás monóxido de carbono que gera a carboxi-Hb?

- Agente redutor fraco, reage com O_2 (agente oxidante forte) e tem afinidade com metais de transição
- Polar: carbono parcialmente negativo se liga fortemente ao Fe^{2+} do heme



Meia vida de 3-4 horas ($2 CO + O_2 \rightarrow 2 CO_2$)

<http://noticias.uol.com.br/cotidiano/ultimas-noticias/2012/12/19/casal-morreu-intoxicado-com-monoxido-de-carbono-enquanto-namorava-em-carro-diz-policia-do-rio.htm>

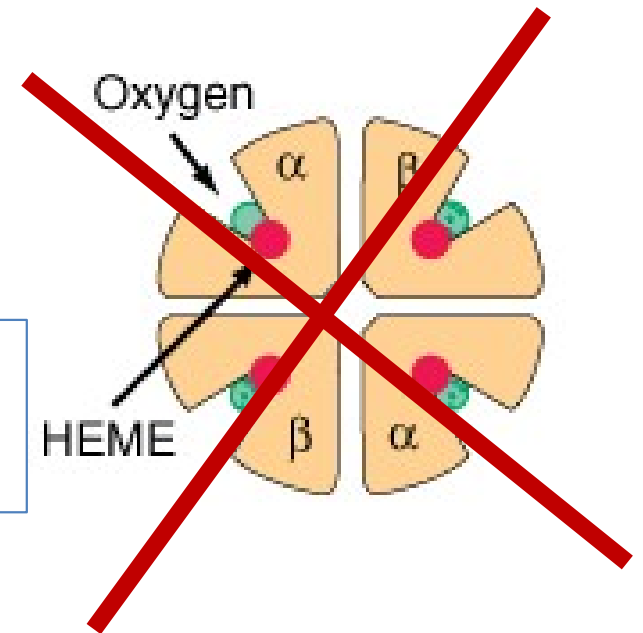
Intoxicação por Monóxido de Carbono (CO)

Formação de **carboxi- Hb** é de importância fisiopatológica

~4000 pessoas morrem ao ano nos EUA devido a intoxicação por CO

- CO na atmosfera
- 0,05 PPM em regiões remotas e preservada
- 3-4 PPM em megalópoles poluídas

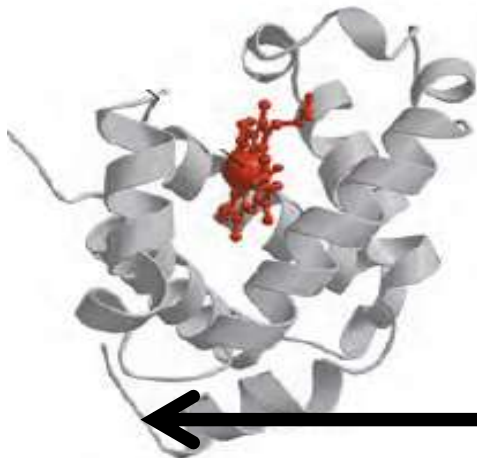
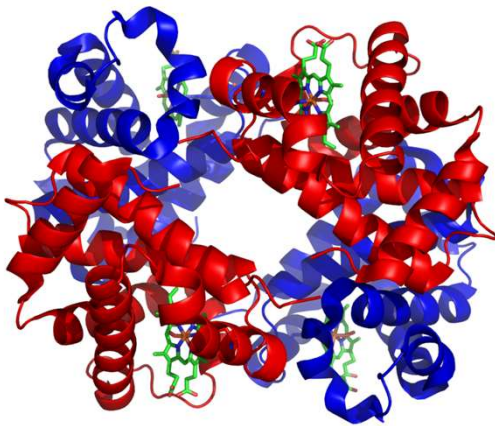
• Se liga aos hemes da hemoglobina com afinidade 250 vezes maior do que o O₂



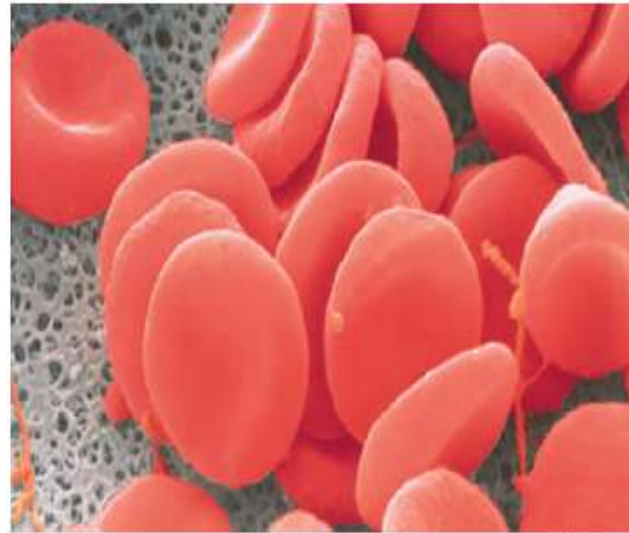
- Indivíduos saudáveis: COHb < 1% do total
- Fumantes: 3 a 8% de COHb

Variantes genéticas: exemplo da hemoglobinopatia mais frequente

Anemia falsiforme: mutação genética (autossômica recessiva e herdada) causa substituição de um único resíduo de aminoácido, levando a alterações estruturais



β subunit of hemoglobin



(a)

2 μ m

Hemoglobina A
($2\alpha 2\beta$, normal)



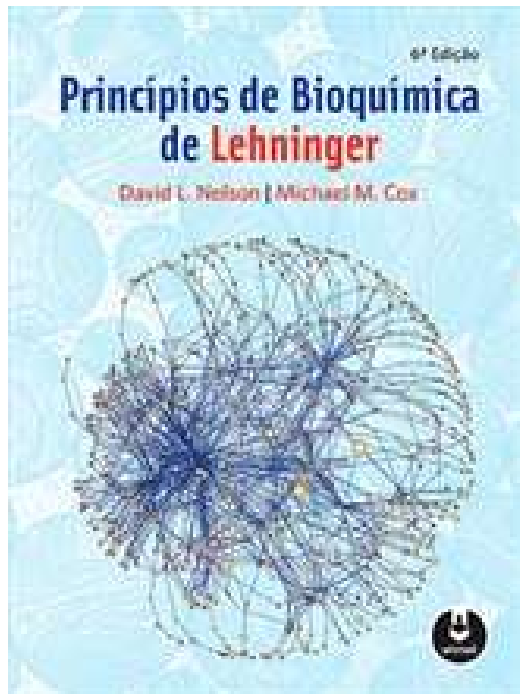
(b)

Hemoglobina S
(anemia falsiforme)

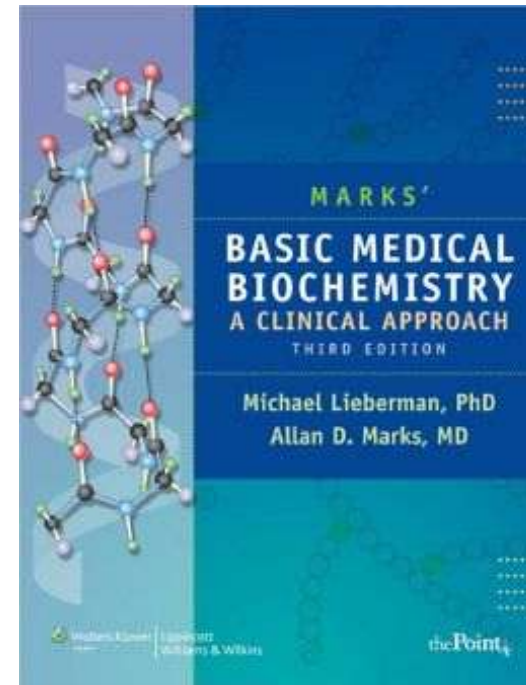
Na sexta posição, a valina é substituída por glutamato

Glutamato tem cadeia lateral com carga negativa, valina não.

Referências



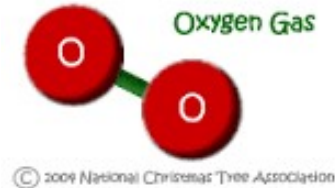
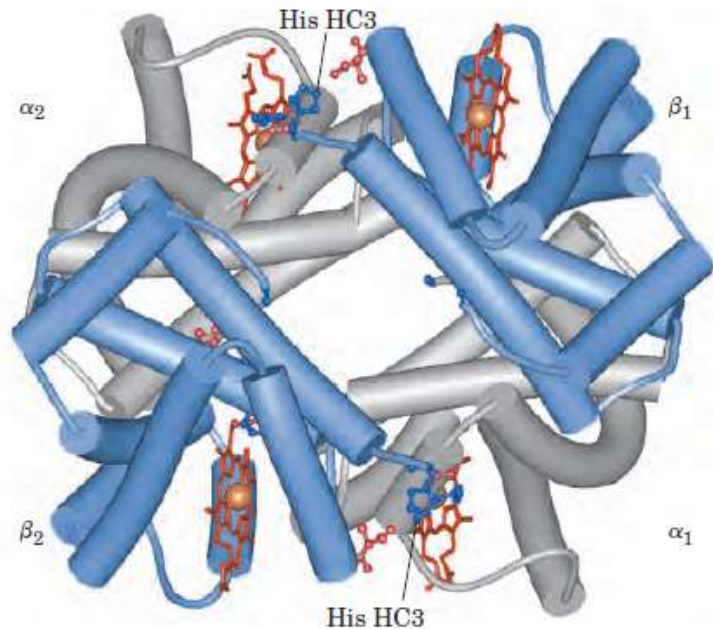
Nelson DL; Cox MM. Princípios de Bioquímica de Lehninger - 6ª Ed, 2014



Lieberman MA, Marks A. Marks' Basic Medical Biochemistry, 5ª Ed, 2012.

Informações adicionais.....

Interação Proteína (hemoglobina)-ligante (oxigênio)



<https://www.youtube.com/watch?v=2v3rae-73jc>

Valores da P_{O_2} e Correspondentes Porcentagens de Saturação da Hemoglobina

P_{O_2} (mmHg)	Saturação (%)
10	25
20	35
25	50
30	60
40	75
50	85
60	90
80	96
100	98