

Andrea Da Poian
Debora Foguel
Marílvia Dansa-Petretski
Olga Tavares Machado
Ana Paula Abreu-Fialho

Bioquímica I





Fundação

CECIERJ

Consórcio **cederj**

Centro de Educação Superior a Distância do Estado do Rio de Janeiro

Bioquímica I

Volume 2 - Módulo 1
5ª edição revisada

Andrea Da Poian

Debora Foguel

Marília Dansa-Petretski

Olga Tavares Machado

Ana Paula Abreu-Fialho



SECRETARIA DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA



Ministério
da Educação



Apoio:



Fundação Cecierj / Consórcio Cederj

Rua Visconde de Niterói, 1364 – Mangueira – Rio de Janeiro, RJ – CEP 20943-001

Tel.: (21) 2334-1569 Fax: (21) 2568-0725

Presidente

Masako Oya Masuda

Vice-presidente

Mirian Crapez

Coordenação do Curso de Biologia

UENF - Milton Kanashiro

UFRJ - Ricardo Iglesias Rios

UERJ - Celly Saba

Material Didático

ELABORAÇÃO DE CONTEÚDO

Andrea Da Poian

Debora Foguel

Marílvia Dansa-Petretski

Olga Tavares Machado

Ana Paula Abreu-Fialho

COORDENAÇÃO DE DESENVOLVIMENTO INSTRUCIONAL

Cristine Costa Barreto

DESENVOLVIMENTO INSTRUCIONAL E REVISÃO

Ana Paula Abreu-Fialho

Jose Meyohas

COORDENAÇÃO DE AVALIAÇÃO DO MATERIAL DIDÁTICO

Débora Barreiros

Departamento de Produção

EDITORA

Tereza Queiroz

REVISÃO TIPOGRÁFICA

Cristina Freixinho

Diana Castellani

Elaine Bayma

Patrícia Paula

COORDENAÇÃO DE PRODUÇÃO

Jorge Moura

PROGRAMAÇÃO VISUAL

Alexandre d'Oliveira

Katy Araujo

ILUSTRAÇÃO

Jefferson Caçador

CAPA

Jefferson Caçador

PRODUÇÃO GRÁFICA

Oséias Ferraz

Patricia Seabra

Copyright © 2005, Fundação Cecierj / Consórcio Cederj

Nenhuma parte deste material poderá ser reproduzida, transmitida e gravada, por qualquer meio eletrônico, mecânico, por fotocópia e outros, sem a prévia autorização, por escrito, da Fundação.

D111b

Da Poian, Andrea.

Bioquímica I. v. 2 / Andrea Da Poian; Debora Foguel; Marílvia Dansa-Petretski; Olga Tavares Machado; Ana Paula Abreu-Fialho. – 5.ed. rev. – Rio de Janeiro: Fundação CECIERJ, 2010.
252p.; 19 x 26,5 cm.

ISBN: 978-85-7648-667-1

1. Proteínas. I. Foguel, Debora. II. Dansa-Petretski, Marílvia. III. Machado, Olga Tavares. IV. Abreu-Fialho, Ana Paula. V. Título.

CDD: 572

2010/1

Governo do Estado do Rio de Janeiro

Governador
Sérgio Cabral Filho

Secretário de Estado de Ciência e Tecnologia
Alexandre Cardoso

Universidades Consorciadas

**UENF - UNIVERSIDADE ESTADUAL DO
NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**
Reitor: Almy Junior Cordeiro de Carvalho

**UERJ - UNIVERSIDADE DO ESTADO DO
RIO DE JANEIRO**
Reitor: Ricardo Vieiralves

UFF - UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
Reitor: Roberto de Souza Salles

**UFRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO DE JANEIRO**
Reitor: Aloísio Teixeira

**UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DO RIO DE JANEIRO**
Reitor: Ricardo Motta Miranda

**UNIRIO - UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO
DO RIO DE JANEIRO**
Reitora: Malvina Tania Tuttman

SUMÁRIO

Aula 11 – Proteínas 1 – uma introdução _____	7
Aula 12 – Proteínas 2 – Você sabe o que é estrutura secundária de uma proteína? _____	33
Aula 13 – Proteínas 3 – Agora, sim: as proteínas “no espaço”! _____	51
Aula 14 – Proteínas 4 – Como as proteínas adquirem as suas estruturas terciárias (ou quaternárias)? _____	69
Aula 15 – Você já ouviu falar em proteínas fibrosas? _____	87
Aula 16 – Proteínas 6: proteínas globulares – a maioria delas _____	103
Aula 17 – Quando as proteínas se tornam mais... – parte I: os agregados supramoleculares _____	129
Aula 18 – Quando as proteínas se tornam mais... – parte II os vírus _____	147
Aula 19 – Sobre as famosas enzimas – parte I: uma introdução _____	167
Aula 20 – Sobre as famosas enzimas – parte II: Já ouviu falar em sítio ativo? _____	183
Aula 21 – Cinética enzimática: partindo da prática para a teoria _____	207
Aula 22 – Você realmente sabe o que são vitaminas? _____	227
Referências _____	247

Proteínas 1 – uma introdução

AULA

11

Meta da aula

Introduzir o conceito de níveis organizacionais das proteínas, apresentando o que é a estrutura primária desses compostos e sua importância.

objetivos

Esperamos que, ao final desta aula, você seja capaz de:



1 identificar ligações peptídicas;



2 descrever a formação de pontes dissulfeto;



3 identificar a importância da seqüência primária para a função de uma proteína.

INTRODUÇÃO

As proteínas são os principais constituintes celulares, com grande importância na manutenção da vida, por desempenharem diversas funções. Conheça algumas:

- A contração dos nossos músculos, que proporciona nossos movimentos, acontece pela atuação de algumas proteínas, sendo as principais a actina e a miosina.
- O processo de transporte e utilização de oxigênio e gás carbônico realizado pelo nosso organismo tem participação das proteínas hemoglobina e mioglobina (mais adiante, na Aula 16, teremos um capítulo especial dedicado a essas duas proteínas, que são completamente adaptadas ao transporte desses gases de uma maneira belíssima!).
- A defesa do nosso organismo contra invasores é garantida pelos anticorpos, que também são proteínas.
- A fotossíntese, realizada pelos seres autotróficos, ocorre devido à presença de pigmentos que ficam ligados às proteínas.
- Penas, chifres, venenos de serpentes, cabelos, unhas e diversas estruturas animais são compostos por proteínas.
- As enzimas, que estão envolvidas em quase todas as reações metabólicas celulares, também são proteínas. Elas participam de uma enormidade de funções no nosso organismo; por exemplo, a quebra da glicose, a utilização de lipídios como fonte de energia, a formação de ATP, (nossa moeda energética), a síntese de colesterol, de lipídios, de glicogênio e de muitas outras moléculas.

Na Aula 8, você viu que essas moléculas tão fundamentais à vida são formadas pelos aminoácidos. Agora você vai dar um passo à frente e aprender como as proteínas se organizam no espaço. Vamos lá?

Aprendendo mais sobre as proteínas...

Você sabia que o nome proteína vem do grego “proteios”, que quer dizer primeiro, mais importante? Sabia que 80% do peso dos nossos músculos desidratados são atribuídos às proteínas? Quer saber mais ainda sobre esses compostos? Visite <http://www.qmc.ufsc.br/qmcweb/artigos/proteinas.html>.

NÍVEIS ORGANIZACIONAIS DAS PROTEÍNAS

As proteínas podem ser descritas considerando diferentes níveis de organização. Elas possuem estruturas primária, secundária, terciária e quaternária.

Resumidamente, dizemos que:

- estrutura primária: é a seqüência linear dos aminoácidos da proteína;
- estrutura secundária: é a maneira como esses aminoácidos se organizam no espaço. Os elementos de estrutura secundária mais comuns são as α hélices (lê-se alfa-hélices), as fitas β (lê-se fitas-beta) e as voltas.
- estrutura terciária: é a maneira como a proteína se organiza no espaço tridimensional, isto é, é o movimento, a organização das α hélices, fitas β e voltas no espaço tridimensional;
- estrutura quaternária: é quando a proteína tem mais de uma **SUBUNIDADE**, isto é, forma dímeros (duas subunidades associadas); trímeros (três subunidades associadas); tetrâmeros (quatro subunidades associadas) e oligômeros (mais de quatro subunidades associadas).

Você vai aprender nesta disciplina sobre cada um desses níveis de organização. Na aula de hoje, vamos aprofundar os conhecimentos sobre a estrutura primária.

1º nível: estrutura primária

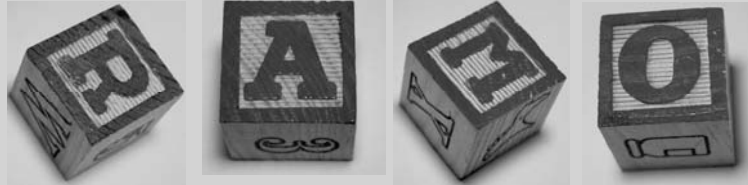
A estrutura primária de uma proteína é, simplesmente, sua seqüência de aminoácidos. Em outras palavras, é a ordem na qual aparecem os aminoácidos em uma dada proteína (difícil de imaginar? Leia o box Formando proteínas, logo adiante). Essa estrutura apresenta apenas uma dimensão, já que ela só diz respeito à ordem em que estão dispostos os aminoácidos.

A estrutura primária de uma proteína pode também ser chamada de seqüência primária. Para entender o que é esta seqüência primária, é necessário saber o que é e como se forma uma ligação peptídica.

SUBUNIDADE

Subunidade de uma proteína é uma cadeia (seqüência) de aminoácidos que interage com outra(s) cadeia(s) (seja(m) ela(s) igual(is) ou diferente(s)) para formar a estrutura da proteína em nível quaternário.

Formando proteínas



Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/598140> Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/516821> Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/598119> Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/598121>

Formar uma proteína pode ser analogicamente comparado a formar uma palavra. Calma, calma, você já vai entender!

Imagine que você queira escrever a palavra AMOR. Você precisa, para isso, de quatro letras: A, M, O e R, dispostas nesta ordem. Se você quiser escrever ROMA, você precisa das mesmas quatro letras, mas agora em uma ordem diferente. Neste exemplo, cada letra é a unidade formadora de uma palavra e, dependendo da ordem em que forem dispostas, dão origem a uma palavra diferente.

Com os aminoácidos e as proteínas acontece algo semelhante: os aminoácidos (“letras”) são as unidades formadoras dessas macromoléculas (“palavras”). Assim, colocando um aminoácido em seguida do outro (e unindo-os por uma ligação química, que você verá como se forma a seguir), formamos uma proteína, assim como colocando uma letra ao lado da outra podemos formar palavras. A ordem em que os aminoácidos são ligados uns aos outros e quantos são utilizados para constituir uma proteína é importante porque permite a enorme diversidade existente dessas macromoléculas. Assim como podemos formar um número gigantesco de palavras com apenas 24 letras, podemos formar um número também muito alto de proteínas com apenas 20 aminoácidos!

O QUE É E COMO SE FORMA UMA LIGAÇÃO PEPTÍDICA?

Para que se forme uma seqüência linear de aminoácidos (a estrutura primária de uma proteína), é necessário que um aminoácido se ligue quimicamente a outro. Quando esta reação (aminoácido + aminoácido) acontece, dizemos que se formou uma ligação peptídica.

A ligação peptídica é uma ligação covalente que se estabelece entre a carboxila (COO^-) de um aminoácido e o grupo amino (NH_3^+) do aminoácido adjacente. Quando esta ligação se forma, há perda de uma molécula de água. Veja:

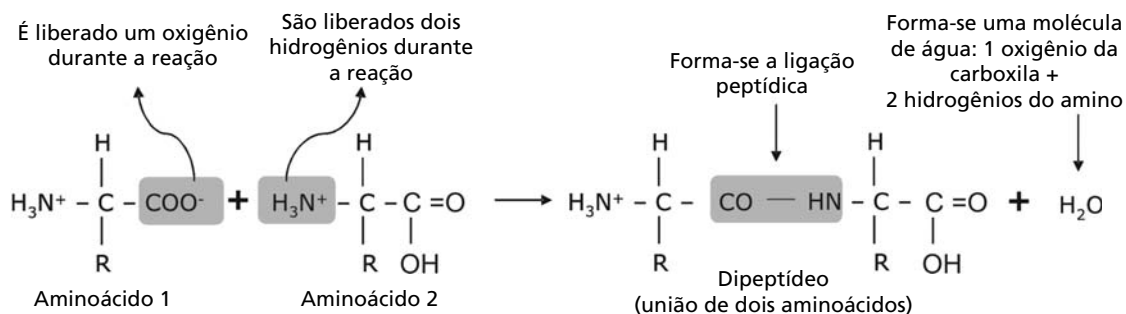


Figura 11.1: A formação de uma ligação peptídica acontece pela saída de um oxigênio da carboxila de um aminoácido e de dois hidrogênios ao grupo amino de um segundo aminoácido. Um dipeptídeo e uma molécula de água são os produtos desta reação.

Então, quando acontece uma ligação peptídica entre dois aminoácidos, um dipeptídeo é formado. É interessante ressaltar que a ligação peptídica forma um dipolo elétrico. Isto ocorre porque o oxigênio atrai a nuvem eletrônica e assume um caráter parcialmente negativo; conseqüentemente, o nitrogênio assume um caráter parcialmente positivo em um mecanismo parecido com aquele que você viu para a formação do dipolo eletrônico da molécula de água (se tiver dúvida, vale a pena voltar à Aula 3 e dar uma olhada na seção “Como é uma molécula de água?”). Assim, um dipeptídeo apresenta um dipolo elétrico.

Outra característica da ligação peptídica é que sempre que acontece este tipo de ligação, há saída de uma molécula de água. Além disso, é possível formar uma proteína com número variado de aminoácidos. Ao dipeptídeo que você viu se formar na **Figura 11.1**, é possível adicionar mais aminoácidos, formando tripeptídeos, polipeptídeos e, finalmente, as proteínas, que podem ter um número variado de **RESÍDUOS DE AMINOÁCIDOS**.

RESÍDUOS DE AMINOÁCIDOS

Chamamos resíduos de aminoácidos os aminoácidos que estão formando um peptídeo ou uma proteína. Este termo, “resíduos”, indica que, nas proteínas, os aminoácidos não se apresentam exatamente como são quando estão livres, já que, conforme vimos, há perda de uma molécula de água a cada ligação peptídica que se forma.



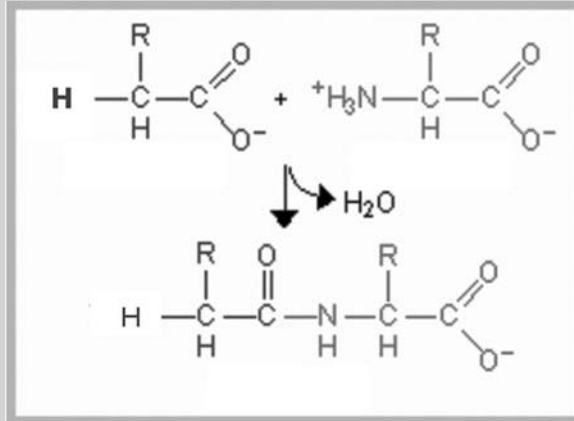
ATIVIDADE



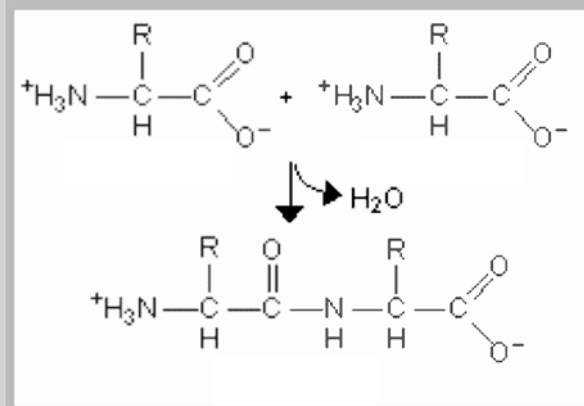
1. Caracterizando ligações peptídicas

Parte I: A seguir, você vê duas possíveis reações químicas. Dentre elas, identifique, circulando a letra correspondente, aquela(s) que não é (são) ligação(ões) peptídica(s). Justifique sua resposta.

a.



b.



Parte II – Resposta: Quantas moléculas de água são perdidas na formação de um pentapeptídeo?

RESPOSTA COMENTADA

Se você marcou a opção b como aquela que representa uma ligação peptídica, acertou! Nesta opção, há dois aminoácidos que se ligam pelo grupamento carboxila de um ao grupamento amino de outro, com a perda de uma molécula de água. Esta é a definição de ligação peptídica, inclusive!

Na letra a, repare na estrutura representada à esquerda. Não é um aminoácido, pois não tem o grupamento amino na sua estrutura. Portanto, não é possível que esteja acontecendo uma ligação peptídica!

Na parte II, perguntamos quantas moléculas de água se perdem na formação de um pentapeptídeo. Para calcular isso, você poderia ter tentado fazer um pentapeptídeo e contar o número de moléculas de H_2O liberadas ou, simplesmente, pensar assim: na formação de um dipeptídeo, acontece uma ligação peptídica e se forma uma molécula de água; de um tripeptídeo, duas ligações e duas águas. O número de moléculas de água é sempre igual ao número de ligações e o número de ligações é sempre igual ao número de aminoácidos menos 1! Logo, para formar um pentapeptídeo, ocorrem quatro ligações peptídicas.

A seqüência primária de uma proteína, portanto, é a união de vários aminoácidos por ligações peptídicas. No entanto, estas não são os únicos tipos de interação envolvidos na formação da estrutura primária de uma proteína...

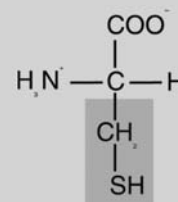
AS PONTES DE ENXOFRE (OU PONTES DISSULFETO)

Além das ligações peptídicas que formam a seqüência primária (cadeia) de uma proteína, outras interações podem ocorrer também entre os aminoácidos dessa cadeia.

Conforme você viu na Aula 8, a **CISTEÍNA** é um aminoácido que possui um átomo de enxofre na extremidade de seu grupamento R.

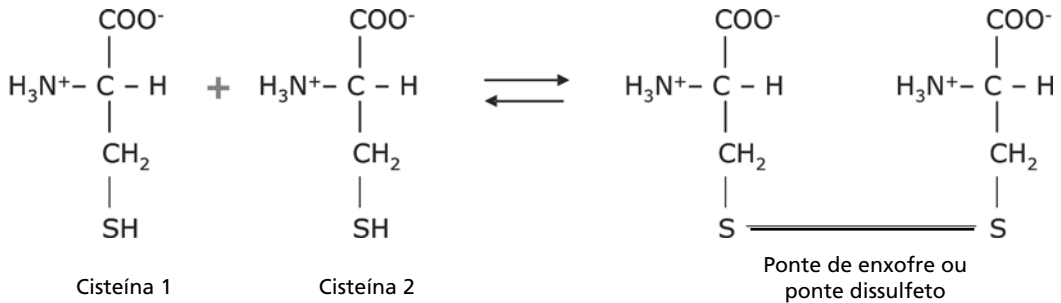
CISTEÍNA

Só para você relembrar a estrutura da cisteína:



Cisteína

A presença deste enxofre na cisteína serve como uma espécie de “tomada”, já que dois enxofres, quando se aproximam, podem formar uma ponte de enxofre ou ponte dissulfeto. Duas cisteínas unidas por uma ponte de enxofre formam o que chamamos de cistina. Veja a **Figura 11.4**:



Ou simplesmente...

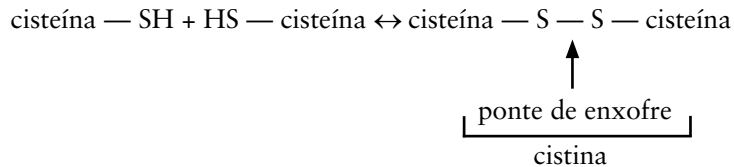
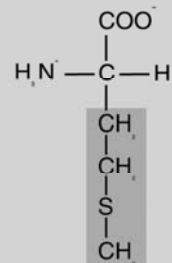


Figura 11.2: A formação de uma ponte de enxofre se dá pela interação entre os enxofres de duas cisteínas e a saída de dois átomos de hidrogênio. O composto formado (cisteína + cisteína) é chamado cistina.



E a metionina?

A cisteína e a metionina são os dois únicos aminoácidos que possuem enxofre em sua constituição. Na cisteína, este átomo está na extremidade do grupamento R, disponível para interagir com outros grupamentos sulfeto (SH). Na metionina, embora haja enxofre, este não ocupa a posição terminal do grupamento R, e não pode, por causa disso, formar pontes de enxofre com outra metionina ou cisteína.



Metionina

Quer ver como estas pontes de enxofre acontecem em uma proteína de nosso organismo? Na **Figura 11.3**, você vê a seqüência primária da insulina. A insulina é um hormônio cuja principal função é participar na regulação do nosso metabolismo energético. Ela apresenta duas cadeias peptídicas: a cadeia A e a cadeia B. A cadeia A apresenta 21 resíduos de aminoácidos; a cadeia B apresenta 30 resíduos. Estas duas cadeias se conectam por meio de pontes dissulfeto.

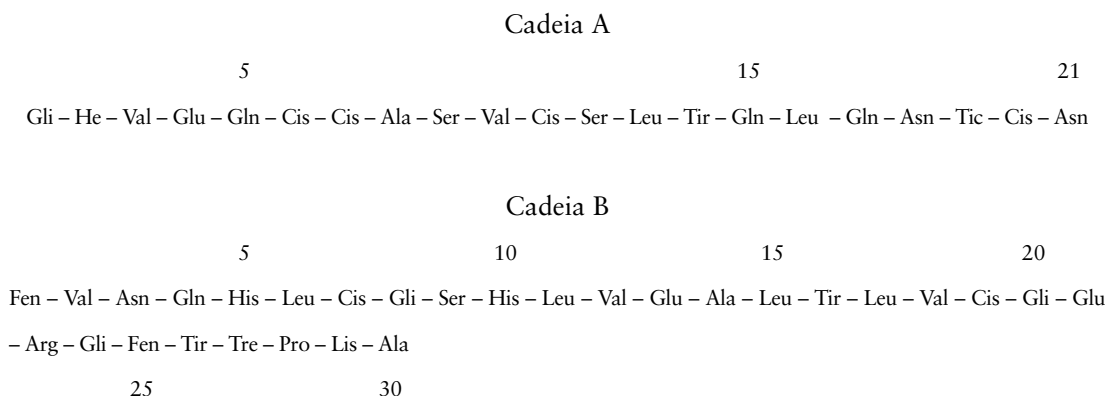


Figura 11.3: Estrutura primária da insulina, um hormônio peptídico envolvido na regulação do nosso metabolismo energético, especialmente no metabolismo de um açúcar, a glicose. A insulina é um hormônio protéico que possui duas cadeias polipeptídicas A e B, que representam sua seqüência primária. Estas duas cadeias são ligadas por pontes dissulfeto entre a cadeia A e B.

ATIVIDADE



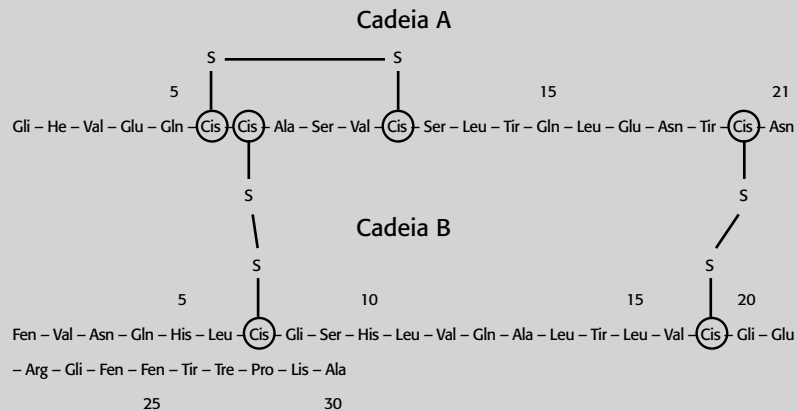
2. Estabelecendo pontes dissulfeto

Está achando esquisito uma atividade no meio da seqüência do texto? Sentiu falta das pontes dissulfeto ligando a cadeia A e B da insulina na **Figura 11.3**? Estabelecer estas pontes é exatamente a sua tarefa, dividida em duas etapas:

- a. identifique (circulando), na **Figura 11.3**, quais resíduos de aminoácido da cadeia A e B poderiam formar pontes dissulfeto para unir estas duas cadeias;
- b. mostre como se forma uma ponte de enxofre entre dois resíduos de aminoácidos.

RESPOSTA COMENTADA

Fazer uma atividade é a melhor maneira de fixar um conceito. Você aprendeu nesta seção da aula que pontes dissulfeto se formam apenas entre resíduos de cisteína. Sendo assim, possíveis candidatos são:



De fato, a maior parte desses resíduos participam da união entre as duas cadeias, como você pode ver pelas linhas que os unem (representando as pontes). Observe que há pontes de enxofre que unem as cadeias A e B – as **pontes intercadeias**; além dessas, existem também **pontes de enxofre intracadeia** que, no caso da insulina, acontecem **dentro da cadeia A**.

Estas pontes se formam entre os grupamentos SH de duas cisteínas, com a saída dos hidrogênios, como você viu na **Figura 11.2**, à qual você pode retornar para tirar qualquer dúvida. Tenha em mente que, independente de acontecerem intra ou intercadeias, as pontes dissulfeto são elementos de estrutura primária.

Nas Aulas 13 e 14, você verá como as pontes dissulfeto são importantes na manutenção da estrutura terciária das proteínas.

Por enquanto, que tal saber um pouco mais sobre o que faz com que tenhamos tantas proteínas diferentes na natureza?

DIVERSIDADE DAS PROTEÍNAS

As proteínas possuem tamanhos variados. Existe uma proteína no melão que impede a quebra de outras proteínas (o que é feito por

enzimas chamadas proteinases). Este inibidor de proteinase III do melão, por exemplo, possui apenas 30 aminoácidos. O citocromo c humano, que participa do processo de respiração celular (que você vai relembrar e aprender mais a respeito na disciplina Bioquímica II) possui 104 aminoácidos. Já a **RNA POLIMERASE** de um vírus de bactéria (bacteriófago), chamado T7, possui 883 aminoácidos. Está achando muito? A titina humana, uma proteína que ajuda a arranjar as fibras musculares, contém 26.926 resíduos de aminoácidos, sendo, de fato, uma proteína gigante!

RNA POLIMERASE

Enzima que participa da síntese do RNA nos seres vivos.



Obviamente, quanto maior uma proteína, mais complicada é a sua montagem ou enovelamento, conforme veremos nas aulas seguintes.

Mas o tamanho não é o único fator que influencia a tamanha diversidade de proteínas que encontramos na natureza. A composição de aminoácidos destas proteínas (para saber mais, veja o box Composto diferentes proteínas), bem como a ordem em que eles se apresentam ligados, também é um determinante.

Composto diferentes proteínas

Embora existam 20 aminoácidos diferentes constituindo proteínas (conforme você aprendeu na Aula 8), os estudos têm mostrado que alguns deles são mais abundantes nas diversas proteínas, sendo os mais comuns a leucina, a alanina, a glicina, a valina e o ácido glutâmico. Os mais raros, por sua vez, são triptofano, cisteína, metionina e histidina. Será que você saberia dizer por que estes aminoácidos são mais raros?

Você viu, na Aula 8, que há uma classificação dos aminoácidos que os dividem em essenciais ou não essenciais à dieta. Dizer que um aminoácido é essencial significa que nossas células não "sabem" sintetizar estes aminoácidos (isto é, não temos as enzimas necessárias para sua síntese) e, por isso, precisamos encontrá-los na nossa dieta. Este é o caso do triptofano, da histidina e da metionina, por exemplo. Se as proteínas que comemos têm baixo conteúdo destes aminoácidos, já que não são muito abundantes, precisamos tomar cuidado para que eles não nos falem na dieta para não causar um desequilíbrio nutricional.

Este assunto é tão importante que merece uma seção só para explicá-lo. Veja a seguir!

VOCÊ SABE O QUE DETERMINA A SEQÜÊNCIA DE UMA PROTEÍNA?

Falando agora sobre a ordem em que os aminoácidos se unem para formar uma proteína, você saberia explicar como ela é determinada?

Uma proteína é o produto da tradução de uma informação contida no nosso código genético. Este código genético está contido no DNA, uma seqüência de nucleotídeos que está confinada no núcleo de nossas células.

A informação contida na seqüência de nucleotídeos da molécula de DNA origina uma fita de RNA (RNA mensageiro – RNA_m) que carrega a informação genética para o citoplasma, onde ela pode ser traduzida em proteínas. Resumindo, temos que:

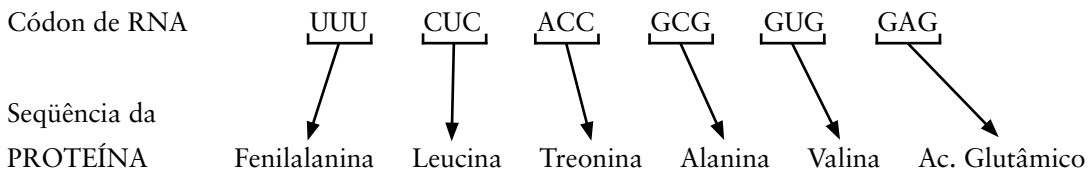
seqüência de DNA → seqüência de RNA → seqüência da proteína.

A relação entre os nucleotídeos do DNA e os aminoácidos é chamada código genético, que constitui a base da vida e da evolução das espécies em nosso planeta.

Em torno de 1960, estabeleceu-se que cada aminoácido na seqüência primária de uma proteína era resultado da leitura de um códon do RNA. Um códon de RNA é um trio de nucleotídeos que, durante o processo da **TRADUÇÃO**, é decodificado em um aminoácido. Sendo assim, observe:

TRADUÇÃO

Leitura de um RNA mensageiro por um ribossoma para síntese de uma proteína. Este processo acontece no citoplasma da célula e é o que dá origem a uma proteína recém-sintetizada.



Cada trio de bases do RNAm representa um aminoácido da seqüência primária de uma proteína. Assim, a seqüência de bases do RNA (que vem da seqüência de bases do DNA – o código genético) é responsável pela seqüência de aminoácidos de uma proteína. Uma proteína é produto da tradução de um gene. Em outras palavras, todo pedaço do DNA que é capaz de, quando transcrito em um RNA_m, ser traduzido em uma proteína, é chamado gene.

O DNA é um ácido nucléico enorme, que contém muitos milhares de genes; esse milhares de genes, por sua vez, dão origem a milhares de proteínas – e aqui está o motivo da enorme diversidade delas. Como se não bastasse, ainda há possibilidade de acontecerem mudanças na seqüência do DNA, que podem acarretar graves conseqüências para um organismo... Veja mais sobre o assunto no boxe **Mutação: o que é e o que causa?**.

Mutação: o que é e o que causa?

Mutação é qualquer alteração na seqüência de bases do DNA, quer seja por retirada de um nucleotídeo ou substituição por outro diferente. Uma mutação no DNA pode acarretar em alterações da seqüência primária da proteína e a conseqüente perda de função desta.

Muitas vezes, ouvimos falar de algumas substâncias que são mutagênicas e estão presentes no nosso dia-a-dia. Esse é o caso do benzantraceno, que está presente no cigarro.

A própria radiação ultravioleta (UV) é um agente mutagênico; daí, os médicos recomendarem a exposição ao sol em horários nos quais esta radiação não é tão forte como, por exemplo, no início e no fim do dia.

A luz UV é capaz de alterar as bases do nosso DNA, promovendo mudanças irreversíveis. Este DNA mudado dará origem ao RNA que carregará a informação errada, resultando em uma proteína alterada. Se essa proteína for responsável por alguma reação envolvida no nosso ciclo celular, pode acontecer de este ciclo ficar descontrolado e a célula começar a se dividir sem controle, levando ao câncer.



Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/369103>

SEQÜÊNCIA PRIMÁRIA E FUNÇÃO DA PROTEÍNA

A função de uma proteína depende de sua *seqüência primária*. Qualquer mudança desta seqüência gera uma proteína diferente que pode até perder sua função biológica.

Usando o exemplo da insulina (**Figura 11.3** e Atividade 3), se houvesse a substituição da cisteína 7 da cadeia A por outro aminoácido qualquer, não se formaria aquela ponte intercadeia e, certamente, a insulina resultante não seria a mesma.

Falando em insulina, você sabia que este hormônio é sintetizado contendo 84 aminoácidos e secretado na corrente sanguínea com apenas

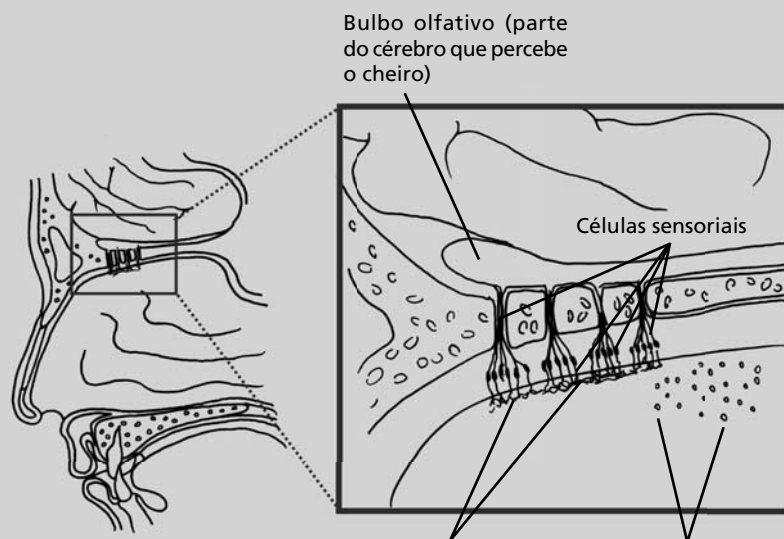
51? Entenda o porquê disso logo depois de fazer a atividade a seguir, que é fundamental para você entender a relação entre seqüência primária e função de uma proteína!

ATIVIDADE



3. Relacionando função e seqüência primária de uma proteína

O sistema olfativo é um dos sensores que temos para perceber o meio externo. O nosso sistema olfativo funciona da seguinte maneira: existem, ao longo do epitélio da nossa cavidade nasal, células sensoriais que produzem proteínas capazes de interagir com moléculas de cheiro presentes no ar. Isso é que faz com que a gente sinta o cheiro das coisas! Estas proteínas são chamadas de receptores de odor e as moléculas de cheiro, odorantes.



Perfil anatômico de um ser humano, destacando a parte sensível a odores da cavidade nasal

Epitélio da cavidade nasal, onde estão as células sensoriais que produzem os receptores de odor

Odorantes (que entram na cavidade nasal com o ar)

SEQÜÊNCIA DE AMINOÁCIDOS APRESENTADA

É possível representar os aminoácidos por dois códigos de letras. Em um deles são utilizadas três letras (exemplo: ARG = arginina); em outro é utilizada uma letra apenas para representar cada aminoácido (exemplo: M = metonina). Este último código está expresso nesta atividade.

A interação entre um odorante e um receptor de cheiro é bastante específica, ou seja, cada receptor é capaz de perceber com maior afinidade um determinado odorante. Pequenas alterações no receptor fazem com que ele perca esta afinidade pelo odorante. Analise as informações a seguir, especialmente as SEQÜÊNCIAS DE AMINOÁCIDOS APRESENTADAS (cada letra representa um aminoácido diferente). Unindo as informações da sua análise com o que você acabou de ler no enunciado desta questão, proponha uma hipótese para explicar a diferença do odorante reconhecido pela proteína receptora de cheiro apresentada no Quadro 1 e a apresentada no Quadro 2.

1

Animal: Camundongo
 Molécula: Proteína receptora de cheiro I7-I₂₀₆
 Pedaco da seqüência de aminoácidos constituintes de I7-I₂₀₆:
 (...) NLSCTDMSTA ELTDFILAIF ILLGPLSVTG (...)
 Odorante reconhecido: octanal

2

Animal: Camundongo
 Molécula: Proteína receptora de cheiro I7-V₂₀₆
 Pedaco da seqüência de aminoácidos constituintes de I7-V₂₀₆:
 (...) NLSCTDMSTA ELTDFVLAIF ILLGPLSVTG (...)
 Odorante reconhecido: heptanal

RESPOSTA COMENTADA

Como você viu no enunciado da questão, a sensação de cheiro é percebida por nós pela interação que acontece entre moléculas de cheiro presentes no ar e proteínas receptoras para esses odorantes, presentes na cavidade nasal. Pequenas modificações na proteína receptora de odor fazem com que esta proteína possa ou não detectar um determinado cheiro. Analisando a seqüência primária dos receptores apresentados no Quadro 1 e no 2, você deve ter percebido que há um resíduo de aminoácido diferente entre eles:

1

Pedaco da seqüência de aminoácidos constituintes de I7-I₂₀₆:
 (...) NLSCTDMSTA ELTDFILAIF ILLGPLSVTG (...)
 ↑
 Odorante reconhecido: octanal

2

Pedaco da seqüência de aminoácidos constituintes de I7-V₂₀₆:
 (...) NLSCTDMSTA ELTDFVLAIF ILLGPLSVTG (...)
 ↑
 Odorante reconhecido: heptanal

Esta única diferença na seqüência primária foi responsável pela mudança da capacidade do receptor reconhecer o odorante (no Quadro 1, o receptor reconhece o octanal e, no 2, o heptanal). Em qualquer dos casos, essa modificação de um aminoácido não fez com que esta proteína passasse a exercer uma função completamente diferente – ela continua sendo um receptor de cheiro. No entanto, o cheiro que ela era capaz de reconhecer com uma isoleucina em sua estrutura (I) mudou quando esse aminoácido foi trocado por uma valina (V).

A importância da seqüência primária para a função de uma proteína é enorme, como você pôde verificar nesta atividade. Os dados apresentados não são fictícios: eles foram publicados, em 1998, em uma revista científica internacional de grande prestígio, como parte de um esforço dos pesquisadores em elucidar o funcionamento do nosso olfato!

MODIFICAÇÕES PÓS-TRADUCIONAIS

As mudanças que ocorrem nas proteínas, dentro das células, após sua síntese são ditas mudanças pós-traducionais, pois tradução é como se chama o processo de síntese de uma proteína a partir da seqüência do RNA.

Muitas proteínas são modificadas após sua síntese. Por exemplo, alguns resíduos podem ser removidos para produzir uma proteína madura, como é o caso da insulina (**Figura 11.4**).

Esta proteína é sintetizada como um precursor com 110 resíduos. Existe um pedaço da seqüência primária que é chamado peptídeo-sinal, responsável por direcionar a insulina para as vesículas secretórias do pâncreas, de onde ela poderá ser lançada na corrente sanguínea e participar da regulação do metabolismo de nosso organismo (você vai aprender isso em Bioquímica II). Depois de direcionar a insulina, esse peptídeo-sinal (que possui 24 aminoácidos) não tem mais função, sendo eliminado da seqüência. Formam-se, em seguida, as pontes dissulfeto entre as cisteínas da cadeia A e da cadeia B, como você já viu nesta aula na **Figura 11.3**. O peptídeo C (constituído por 35 aminoácidos), outro pedaço da cadeia que fica sem função após a ligação da cadeia A com a B, também é clivado (cortado); fica pronta a insulina madura, que é

a que circula no nosso sangue após uma refeição. Dos 110 resíduos de aminoácidos do precursor (pré-pró-insulina), a forma madura da proteína conta com apenas 51 resíduos.

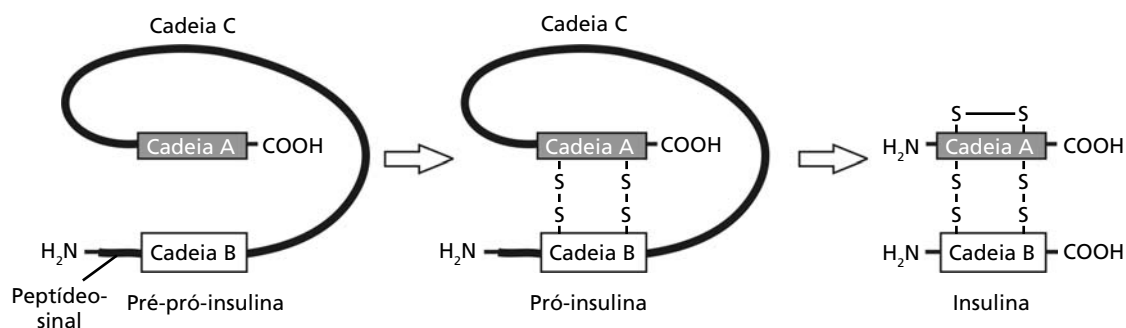


Figura 11.4: Modificações pós-traducionais da insulina.

Além deste tipo de modificação (remoção de pedaços da cadeia), as proteínas também podem receber adição de carboidratos, fosfatos, dentre outros, em posições específicas, após sua síntese. Estes grupos muitas vezes são essenciais para o funcionamento da proteína.

Resumindo, podemos dizer que há diversos mecanismos de gerar diversidade de proteínas. Mas... se uma proteína funciona bem em um organismo desempenhando um determinado papel, não é interessante que, evolutivamente, essa proteína não sofra muitas modificações? Esse é o nosso próximo assunto!

O QUE SÃO PROTEÍNAS HOMÓLOGAS?

Dizemos que proteínas homólogas são aquelas que se relacionam evolutivamente. Em geral, realizam a mesma função em espécies diferentes. Um exemplo é o citocromo c, uma proteína que possui aproximadamente 100 aminoácidos, contém ferro e participa da transferência de elétrons na membrana das mitocôndrias das células eucarióticas. Em Bioquímica II, você verá mais detalhes sobre a função desta proteína. No momento, podemos adiantar que esta proteína tem sido usada para se estabelecer relações filogenéticas (relação de parentesco) entre os seres vivos. Como assim?

Se imaginarmos que proteínas homólogas devem desempenhar funções muito parecidas nas espécies em que elas se encontram, podemos concluir que sua seqüência primária não pode variar muito. Ou, pelo

menos, não pode haver trocas dos aminoácidos que estejam mais estreitamente relacionados com a função específica da proteína, pois tal função está intimamente ligada a sua seqüência de aminoácidos.

No caso de citocromo c, os aminoácidos diretamente relacionados ao transporte de elétrons não podem jamais ser substituídos por outros; caso contrário, o transporte ficaria prejudicado e a proteína perderia a capacidade de atuar como transportadora. Por outro lado, existem regiões da proteína que não estão diretamente ligadas ao transporte de elétrons e que, se sofressem alterações, não causariam perda de função.

Desta forma, se ao longo do curso evolutivo esta proteína acumulou mutações nas regiões que permitam mudanças sem perda ou comprometimento da função (veja o boxe Um pouco mais sobre proteínas homólogas), poderíamos esperar que duas espécies distantes filogeneticamente apresentassem mais diferenças em suas seqüências primárias do que espécies mais próximas evolutivamente. E foi exatamente isso que os estudos revelaram! Só para você ter uma idéia, existem 48 diferenças de seqüência primária entre o citocromo c de cavalo e o de fungos, duas espécies que estão completamente separadas na árvore evolutiva. Entretanto, apenas duas diferenças de seqüência primária foram encontradas entre o citocromo c de pato e de galinha, o que é óbvio, pois são espécies bem próximas filogeneticamente.

Assim, é possível construir-se uma árvore evolutiva, comparando a seqüência primária de uma proteína que está presente em todas as espécies eucarióticas, como é o caso do citocromo c.

Um pouco mais sobre proteínas homólogas



Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/399249>



Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/296835>



Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/652536>



Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/180838>



Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/573781>

Para entender proteínas homólogas, vamos ao seguinte exemplo: nas fotos apresentadas, você vê um carro, uma bicicleta, um patinete, um caminhão. Precisamos comprovar que todos eles são meios de transporte. Se escolhêssemos como critério o motor, certamente erraríamos, pois diríamos que o patinete e a bicicleta, por não terem motor, não são meios de transporte. Então, para podermos classificar tais objetos nesta categoria, precisamos escolher algo comum a todos, como, por exemplo, ter rodas. É assim que se faz para dizer se uma espécie é mais próxima ou mais distante da outra. Primeiro, precisamos escolher uma proteína comum a todas elas (normalmente uma enzima) e depois determinar a seqüência primária desta para saber quem é mais próxima evolutivamente de quem.

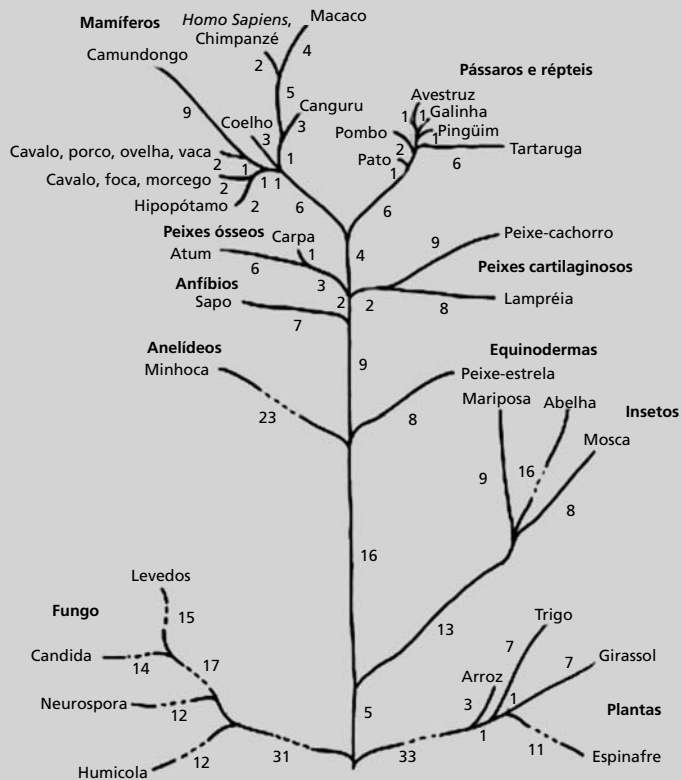


Figura 11.5: Árvore evolutiva dos eucariontes construída em função das diferenças existentes entre os aminoácidos do citocromo c nas diversas espécies. Os números representam os aminoácidos diferentes em relação ao ancestral.

No caso das fotos apresentadas, poderíamos dizer que, em função do número de rodas, o carro e o caminhão constituiriam um grupo, ao passo que a bicicleta e o patinete formariam outro grupo.

A escolha da proteína para usar de referencial na construção de uma árvore filogenética é bastante importante. Existem proteínas bastante conservadas, que apresentam seqüência primária muito parecida nas diversas espécies. É o caso de uma proteína chamada **HISTONA H4**. A histona H4 da ervilha e da vaca apresentam diferenças em apenas duas posições de aminoácidos dos seus 102 resíduos. Tal fato é surpreendente, se levarmos em conta que estas espécies já divergiram há mais de 1,2 milhão de anos!

Essa baixa taxa de variação entre organismos tão divergentes significa que o gene que codifica a histona H4 é muito intolerante a mutações. Se estas ocorrem, geram histonas incapazes de se ligar ao DNA e, portanto, sem função.

A evolução não aceita alteração no gene que codifica as histonas, mas aceita melhor as mutações no gene do citocromo c. Podemos concluir, então, que a taxa de mutação de uma determinada proteína depende da extensão em que a mudança afeta a sua função. Afinal, como você já aprendeu, a seqüência primária está diretamente relacionada à função de uma proteína.

HISTONA H4

Proteína que liga e empacota DNA em eucariotos.

Genômica e Proteômica: definições e aplicações

No ano de 2001, foi divulgado pela televisão e pelos jornais, o término do seqüenciamento do genoma (seqüência de genes do DNA) humano. Além deste, que certamente foi o mais extenso e complicado genoma já seqüenciado, outros também o foram, tais como os genomas de bactérias (*Escherichia coli*, *Synechocystis sp.*, *Haemophilus influenza*), de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) e o de um pequeno verme (*Caenorhabditis elegans*).

No Brasil, também tivemos nosso início na era da genômica com uma importante contribuição neste campo: o seqüenciamento do genoma da *Xylella fastidiosa*, um fitopatógeno responsável pela doença do amarelinho que destrói grande parte das laranjas (veja o quadro a seguir, com informações sobre alguns organismos que tiveram seu genoma seqüenciado).

Organismo	Tamanho do Genoma (milhões de bases)	Interesse biológico
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0,8	Causa pneumonia
<i>Treponema palidum</i>	1,1	Causa sífilis
<i>Borrelia burgdorferi</i>	1,3	Causa doença de Lyme
<i>Helicobacter pylori</i>	1,7	Causa úlcera gástrica
<i>Haemophilus influenza</i>	1,8	Causa meningite
<i>Escherichia coli</i>	4,6	Algumas linhagens podem ser patogênicas
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12,1	Eucariota unicelular
<i>Caenorhabditis elegans</i>	97	Verme multicelular usado em estudos de Biologia celular
<i>Xylela fastidiosa</i>	2,7	Fitopatógeno. Ataca plantações de laranja
<i>Homo sapiens sapiens</i>	3 bilhões de pares de bases	Somos nós!

O conhecimento do genoma das espécies impõe novos desafios aos cientistas, como o de conhecer as proteínas que são, de fato, expressas pelos organismos. Os pesquisadores cunharam o termo *proteoma*, em paralelo ao termo *genoma*, com o intuito de descrever o repertório de proteínas que são, de fato, codificadas pelo DNA de um organismo. Para se conhecer este repertório, é importante isolar essas proteínas, conhecer seu tamanho e, muitas vezes, determinar sua seqüência primária de aminoácidos. Desta forma, é possível saber, exatamente, de que proteína estamos tratando e investigar a participação dela em quadros de doença, inflamação etc.

Quer saber mais sobre esse assunto que está tão em voga no mundo da pesquisa? Visite os sites:

http://biodados.icb.ufmg.br/sebio/proteomics_ciencia_hoje.pdf

<http://educar.sc.usp.br/licenciatura/2001/genoma/Projetogenoma.html>

ATIVIDADE FINAL

Relações de parentesco?

Imagine que você seja orientador de um estagiário que acabou de entrar no ensino superior e no seu grupo de pesquisa. Esse estagiário foi conversar com você sobre um projeto que buscará estabelecer relações filogenéticas entre espécies, baseando-se em seqüências primárias de proteínas expressas por essas espécies.

Ele lhe mostrou os seguintes grupos de seqüências:

Grupo 1

Humano nlhg1fgrkp gqapgytya

Pato nlhg1fgrkt gqaegfsytd

Grupo 2

Humano sasfepapen kcekcgqcnt

Pato sgtfgprpgn kvektaqcht

a. Analisando as seqüências dos dois grupos e levando em consideração que os fragmentos representados expressam o grau de semelhança entre as seqüências completas, qual você recomendaria ao seu estagiário para usar na análise filogenética dos grupos?

b. Imagine que seu estagiário, a partir da informação que você deu (na letra a desta atividade) para a escolha da proteína para usar na pesquisa, tenha selecionado mais cinco seqüências de organismos diversos para estabelecer relação evolutiva entre as espécies. Que tipo de análise ele deve fazer nessas seqüências para estabelecer essas relações? O que ele deve buscar nas seqüências, para saber qual organismo é evolutivamente mais próximo de um ou de outro?

RESPOSTA COMENTADA

a. Como você viu na aula, a variação da seqüência de uma proteína ao longo do tempo (e das espécies), permite estabelecer relação entre organismos diferentes. Embora precise haver alguma variação, a proteína tem de existir e manter sua função em todas as espécies a serem relacionadas, o que implica em que a variação também não seja muito grande. Nas seqüências apresentadas pelo estagiário, o primeiro grupo mostra algumas modificações quando comparamos os dois organismos e o segundo grupo apresenta seqüências muito diferentes. Diante dessas duas opções, o estagiário deve escolher as seqüências do grupo 1, cujos fragmentos apresentados diferem em apenas 2 aminoácidos.

b. Para analisar as seqüências na busca de relações evolutivas entre as espécies, é preciso tentar encontrar o grau de identidade entre elas. Grau de identidade é uma expressão bastante utilizada pelos cientistas dessa área, e se refere a quanto a seqüência de uma proteína é idêntica à de outra. Quanto maior o grau de identidade, mais próximas as espécies são evolutivamente!

RESUMO

As proteínas apresentam quatro possíveis níveis de organização das suas estruturas: o primário (seqüência de aminoácidos), o secundário (formação de estruturas organizadas espacialmente), o terciário (estrutura tridimensional) e o quaternário (associação de subunidades de uma proteína).

No nível primário, temos a seqüência de aminoácidos, formada pela união de um aminoácido a outro por uma ligação peptídica. Uma ligação peptídica é a ligação entre o grupamento amino de um aminoácido ao grupamento carboxila de outro, com a saída de uma molécula de água. Além da ligação peptídica que forma a seqüência primária, pode haver pontes de enxofre na estrutura primária, originadas pela ligação de dois resíduos de cisteína.

A enorme diversidade das proteínas se deve às diferentes composições e tamanhos que elas podem apresentar, bem como às modificações pós-traducionais que elas podem sofrer.

A seqüência primária de uma proteína é determinada pela seqüência de bases do DNA, e é responsável pela função da proteína. Alterações de determinados aminoácidos em uma proteína (geradas por mutações no DNA) podem acarretar perda da função desta, ao passo que alterações em outros sítios da proteína podem não ser nocivas; ao contrário, são boas medidas para estabelecer relações filogenéticas entre as espécies.

Proteínas 2 – Você sabe o que é estrutura secundária de uma proteína?

AULA

12

Meta da aula

Apresentar o que é a estrutura secundária de uma proteína e seus elementos característicos.

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de caracterizar os três elementos que formam a estrutura secundária de uma proteína:



1 as α -hélices;

2 as folhas β ;

3 as voltas.

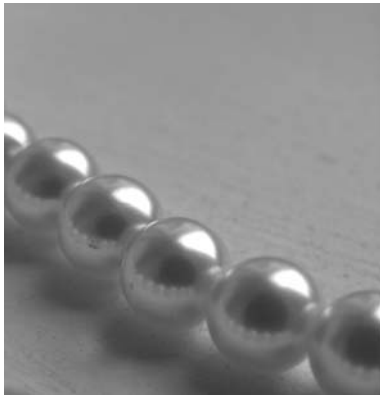
Pré-requisitos

Para fazer um bom aproveitamento desta aula, é importante você relembrar o que são e como se formam as pontes de hidrogênio, conceito apresentado na Aula 3. Além disso, seria interessante ter à mão a Aula 8, para que você possa consultar as estruturas de alguns aminoácidos.

INTRODUÇÃO

Na aula passada, você viu que as proteínas têm quatro níveis organizacionais e começou estudando o primeiro nível: a estrutura primária.

A estrutura primária de uma proteína é sua seqüência de aminoácidos. Esta seqüência primária pode ser comparada a um colar de contas esticado: cada conta seria um aminoácido e o colar, a proteína.



Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/314788>



Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/258629>

Figura 12.1: A seqüência primária de uma proteína pode ser analogicamente comparada a um colar de contas, no qual cada conta representa um aminoácido e o colar, a proteína inteira.

Mantenha esta imagem do colar na cabeça: para esticá-lo, é necessário que você segure as duas extremidades e puxe-as de forma que o colar fique como uma linha reta. Você está gastando energia para isso. Essa conformação do colar (esticado como uma linha) não é, necessariamente, a que ele assumiria se você não o estivesse segurando. Se você o lançar em cima de uma mesa, verá que ele, provavelmente, assumirá uma forma mais irregular. Isso acontece porque, em cima da mesa, não há nada impondo energia para mantê-lo esticado.

Na natureza, as moléculas se comportam mais ou menos como o colar em cima da mesa: elas tendem a assumir a conformação que requer menos energia para ser sustentada. Assim como o colar não se mantém esticado em cima da mesa naturalmente quando você o lança sobre ela de qualquer maneira (porque precisaria de energia para isso), as proteínas também não se mantêm esticadas na natureza. Quando elas começam a assumir formas no espaço – as quais favorecem uma configuração que gasta menor energia para ser mantida –, temos a estrutura secundária dessas proteínas. Esse é o assunto da aula de hoje.

ESTRUTURA SECUNDÁRIA

A estrutura secundária de uma proteína diz respeito ao arranjo local dos aminoácidos no espaço, isto é, a como uma determinada seqüência se organiza no espaço.

Os elementos mais importantes da estrutura secundária são: as α -hélices, as folhas β e as dobras (ou voltas). As α -hélices e folhas β foram previstas por **LINUS PAULING** e Robert Corey, em 1951.

Veja o que são esses elementos e por que somente essas poucas maneiras de organização estão presentes nas proteínas.

LINUS PAULING (1901-1994)

Poucos estudantes de Química, atualmente, têm idéia da importância de Linus Pauling. Ele começou a se interessar por Química com 15 anos, ainda no Ensino Médio, o qual nunca concluiu por causa da disciplina História Americana. Na ciência, recebeu diversos prêmios, e foi intitulado membro mais jovem da Academia Nacional de Ciências (dos EUA) com apenas 32 anos.

As obras de Linus Pauling são consideradas as mais citadas na literatura química. Este pesquisador ganhou, em 1955, o prêmio Nobel de Química “por suas pesquisas sobre a natureza das ligações químicas e sua aplicação na elucidação da estrutura



Fonte: Oregon State University

de substâncias complexas”, como as proteínas. Além disso, Pauling era militante contra as guerras mundiais, os testes de bombas atômicas e o desenvolvimento de armas nucleares. Ele ganhou o prêmio Nobel da Paz em 1962 por essas ações. Há muito mais o que se dizer sobre Linus Pauling e, por isso, recomendamos que você visite o *site* do canal de cultura da química da Universidade de São Paulo, no endereço http://lqes.iqm.unicamp.br/canal_cientifico/lqes_cultural/lqes_cultural_cultura_quimica5-1.html. Você não vai se arrepender: a vida desse cientista é realmente uma lição!

AS α -HÉLICES

Certamente você já viu uma espiral como, por exemplo, o fio do telefone ou a espiral de um caderno. Uma estrutura semelhante a essa pode acontecer em uma proteína pelas interações entre aminoácidos, e é chamada de α -hélice (Figura 12.2).

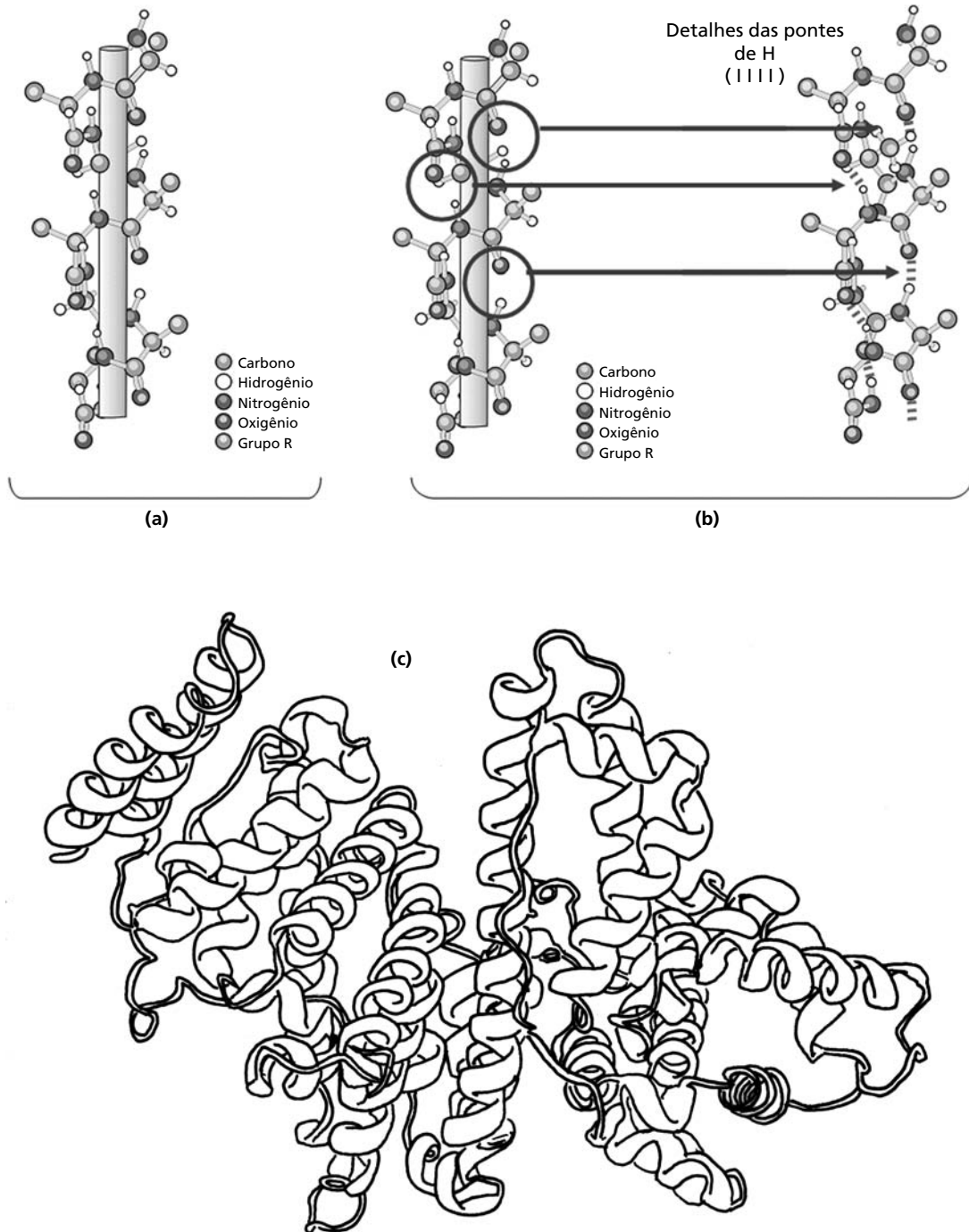


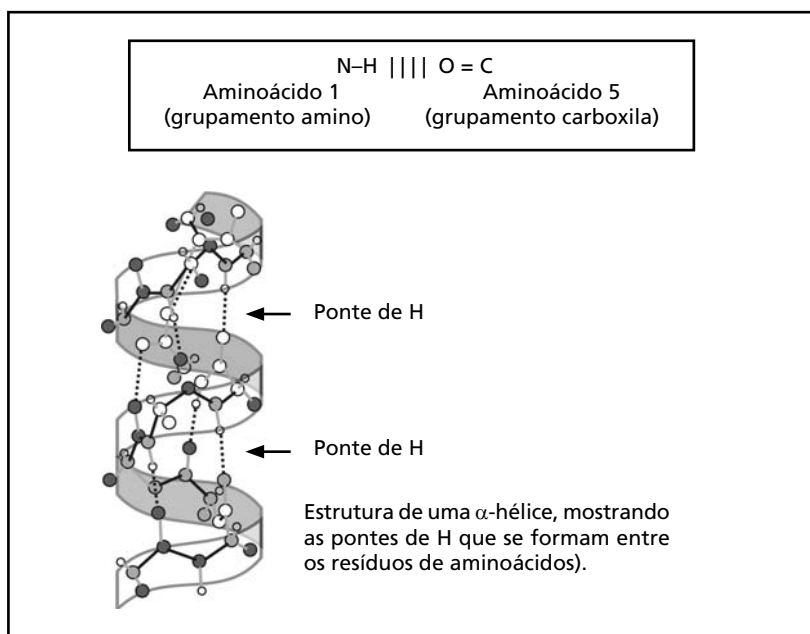
Figura 12.2: Esquema das α -hélices. Pense em um bastão imaginário como um eixo ao redor do qual você enrolasse um colar de contas. Dependendo da espessura do bastão, para circundá-lo seriam necessárias mais ou menos contas. Podemos fazer uma analogia entre as α -hélices e o colar: a seqüência primária da proteína (colar de contas) se enrola ao redor de um eixo imaginário de tal forma que, para dar uma volta ao redor deste eixo, são necessários 3,6 aminoácidos (contas). Esta estrutura é estabilizada por pontes de H (b) e interações de Van der Waals. Em (c), você vê a estrutura de uma proteína do nosso plasma sanguíneo que possui apenas α -hélices: como elementos da estrutura secundária: a albumina.

Em uma α -hélice, cada volta da espiral possui, em média, 3,6 resíduos de aminoácidos (isto é, três aminoácidos e 60% de um quarto aminoácido), o que ocupa 5,4 Å. Isso significa que um aminoácido (por exemplo, na posição 1) em uma α -hélice fará pontes de H com outro cerca de quatro posições à sua frente (no exemplo, com o aminoácido na posição 5).

Na espiral, os grupamentos R dos aminoácidos ficam voltados para o exterior, já que muitos deles são volumosos e, por esta razão, dificilmente se ajustariam ao interior da hélice.

As α -hélices são altamente estáveis devido à presença de um grande número de pontes de hidrogênio (representadas na **Figura 12.2** e no quadro a seguir por |||) que se formam entre o hidrogênio do grupamento amino de um resíduo de aminoácido e o oxigênio do grupamento carboxila de outro resíduo, situado quatro posições à frente:

Quadro 12.1: Estabilização das α -hélices por pontes de hidrogênio formadas entre o grupamento amino de um aminoácido e o grupamento carboxila de outro quatro posições à frente.



As pontes de H se formam naturalmente, pois há interação entre as nuvens eletrônicas daqueles átomos de hidrogênio e oxigênio de que falamos. Uma espécie de “malha invisível” se forma ao redor da espiral, fazendo com que a hélice mantenha esta conformação.

ANGSTRÖM (Å)

Angström é uma unidade de medida que equivale a 10^{-10}m . Para você dimensionar melhor:

$$1\text{mm} = 10^{-3}\text{m}$$

$$1\mu\text{m} = 10^{-6}\text{m}$$

$$1\text{nm} = 10^{-9}\text{m}$$

$$1\text{Å} = 10^{-10}\text{m}$$

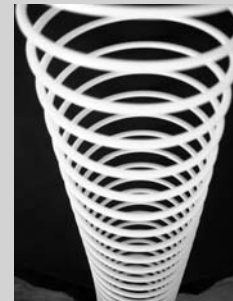
INTERAÇÕES (OU CONTATOS) DE VAN DER WAALS

São interações fracas que se estabelecem entre dois átomos que se aproximam muito um do outro. Cada átomo apresenta uma nuvem de elétrons que influencia o átomo vizinho, atraindo-o ou repelindo-o.

A manutenção da estrutura da hélice é garantida, ainda, pelas interações de **VAN DER WAALS** que acontecem em seu interior, fazendo com que esta região seja bastante empacotada (veja o boxe a seguir).

O que significa empacotadas?

Para entender melhor este conceito de “como empacotar uma proteína em uma α -hélice”, imagine uma mola. Uma mola é uma espiral, e possui estrutura análoga à da hélice. Se tivéssemos no interior dessa mola forças capazes de fazer com que o diâmetro dela diminuísse, o que você veria seria um fenômeno parecido com o que as forças de van der Waals proporcionam à α -hélice!



Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/651534>

Agora pense um pouco mais: você já aprendeu que, na constituição de proteínas, pode haver vinte aminoácidos diferentes. Essas diferenças estão nas suas estruturas e se refletem nas propriedades químicas que apresentam (hidrofobicidade x afinidade pela água, caráter básico x caráter ácido etc). Será que, em uma seqüência primária, todos os aminoácidos se comportam da mesma maneira, isto é, será que todos eles formam α -hélices, por exemplo?

A arrumação dos aminoácidos nas hélices

A resposta para a pergunta anterior é **NÃO!** Vamos entender o porquê?

Se aminoácidos com grupamentos R volumosos, como a asparagina, serina e treonina aparecem lado a lado na seqüência primária de uma determinada proteína, dificultam a organização em hélice. Por outro lado, como vimos na Aula 8, que apresentou os aminoácidos, existem alguns que são carregados positiva ou negativamente em pH neutro (relembre as características dos aminoácidos no boxe a seguir). Ter isso em mente é importante para entender o que vem logo em seguida.

Relembrando características dos aminoácidos

Os vinte aminoácidos constituintes de proteínas			
Aminoácidos apolares	Aminoácidos aromáticos	Aminoácidos polares sem carga	Aminoácidos polares carregados
Glicina Alanina Valina Leucina Isoleucina ProlinaMetionina	Fenilalanina Tirosina Triptofano	Serina Treonina Cisteína Asparagina Glutamina	Lisina (+) Arginina (+) Histidina (+) Aspartato (-) Glutamato (-)

Lembra-se de como se formam pontes de hidrogênio nas α -hélices? Então, agora, analise a seqüência de aminoácidos a seguir. O que você acha que aconteceria com ela? Será que ela seria uma boa formadora de α -hélice?

Posição 1 2 3 4 5 6 7
Resíduo serina – aspartato – leucina – alanina – valina – glutamato – treonina

A seqüência anterior é uma boa formadora de hélice?

() Sim () Não

A resposta é não.

A explicação para isto é que a serina (posição 1) tenderia a formar uma ponte de hidrogênio com a valina (posição 5), que é o quarto aminoácido



Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/264245>

à sua frente na *seqüência primária*. Até aí, tudo bem! Entretanto, o ácido aspártico (posição 2), que é um resíduo que em pH neutro se encontra carregado negativamente, deveria formar uma ponte de hidrogênio com o ácido glutâmico (posição 6), quatro posições à sua frente, também carregado negativamente. Será que este encontro seria favorecido?

Você aprendeu que cargas de mesmo sinal tendem a se repelir. Logo, o ácido aspártico (negativo) não é capaz de interagir com o ácido glutâmico (também negativo), desestabilizando a hélice, fazendo com que ela se desmonte.

E se pensarmos nesta mesma seqüência sendo que, no lugar de termos um ácido glutâmico (posição 6), tivermos uma lisina ou arginina,

ambos aminoácidos carregados positivamente em pH neutro? Será que esta seqüência formaria uma α -hélice? A resposta é sim!!!! O encontro do ácido aspártico (negativo) com um resíduo de lisina (positivo) fortalece a α -hélice, já que forma um par iônico.

O mesmo raciocínio pode ser empregado no que se refere aos aminoácidos aromáticos e apolares, como o triptofano, a tirosina e a fenilalanina. Se eles se encontram separados na seqüência por um intervalo de três aminoácidos (ou seja, quatro posições à frente), podem formar contatos chamados de interação hidrofóbica, já que vão tender a ficarem juntos e longe da água. A interação hidrofóbica entre esses aminoácidos fortalece a α -hélice. Veja o exemplo:

Posição	1	2	3	4	5	6
Resíduo	...isoleucina	- serina	- alanina	- treonina	- leucina	- lisina

A isoleucina (posição 1), bastante apolar, faria interação hidrofóbica com a leucina, também apolar, que está quatro posições a sua frente, fortalecendo a hélice.

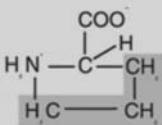
Uma pergunta que você pode estar se fazendo neste momento é: será que existem aminoácidos que não participam da formação de uma α -hélice?

Os resíduos prolina e glicina são os piores formadores de α -hélice. Por quê? Por causa das suas estruturas.

A **PROLINA** é má formadora de α -hélice porque possui seu átomo de nitrogênio como parte de um anel, o que impossibilita que a ligação N-C α gire para formar uma espiral. Além disso, por causa de características químicas da estrutura da prolina, o nitrogênio da prolina envolvido neste anel não dispõe de hidrogênios para formar as pontes de hidrogênio necessárias à formação de uma hélice. Dessa forma, é muito raro encontrar prolinas no meio de uma α -hélice.

Outro aminoácido que também não funciona bem na formação de α -hélices é a glicina. A glicina é uma má formadora de α -hélice devido à sua grande flexibilidade. Por ser um aminoácido pequeno (o menor deles), a glicina apresenta grande mobilidade no espaço, o que desestabiliza tanto α -hélices quanto folhas- β (que você verá o que são em seguida).

**RELEMBRE A
ESTRUTURA DA
PROLINA**



Somente as estruturas conhecidas como voltas permitem que as glicinas se movimentem mais livremente, e é aí que podemos encontrar uma concentração grande deste aminoácido.

Resumindo, podemos dizer que são quatro os fatores que facilitam ou dificultam a formação de uma α -hélice:

1. a repulsão ou a atração eletrônica entre resíduos carregados positiva e/ou negativamente;
2. o tamanho das cadeias laterais de resíduos vizinhos;
3. as interações entre resíduos hidrofóbicos separados entre si três ou quatro aminoácidos de distância na seqüência primária (interações hidrofóbicas);
4. a presença de prolinas e glicinas.

ATIVIDADE



1. Caracterizando α -hélices

Considere os quatro tópicos que você leu no parágrafo anterior sobre fatores que facilitam ou dificultam a formação de α -hélices. A partir deles, analise a seqüência a seguir:

leucina-histidina-valina-fenilalanina-alanina

Agora, responda: esta seqüência pode formar uma α -hélice? Por quê? Justifique com base nos quatro itens discriminados no box de atenção antes desta atividade e consulte o box Relembrando características dos aminoácidos.

RESPOSTA COMENTADA

Se você concluiu que a seqüência apresentada é uma boa formadora de α -hélice, acertou! Você provavelmente deve ter justificado essa resposta assim:

1. Não há cargas de mesmo sinal se repelindo nesta seqüência.
2. Não há dois aminoácidos volumosos próximos para desestabilizar a hélice.
3. Leucina e fenilalanina vão formar interação hidrofóbica que fortalece a hélice.
4. Não há prolinas e glicinas na cadeia.

AS FITAS β

As folhas β são a segunda maneira de os aminoácidos da seqüência primária de uma proteína se organizarem no espaço. As folhas β formam estruturas semelhantes a um ziguezague, semelhantes às pregas de uma saia de colegial ou a um leque. As fitas são como tiras que você cortasse do leque, perpendicularmente à orientação de suas tiras. O conjunto dos ziguezagues formado com dois ou mais cortes deste equivale a uma folha β .

E como se formam as fitas β em uma proteína para que, em seguida, possamos ter uma folha β ?

Os aminoácidos de uma cadeia polipeptídica, como você bem sabe, têm características químicas variadas. Estas características fazem com que a seqüência primária da proteína não seja linear no espaço (lembre do exemplo do colar de contas, que, quando solto em cima da mesa, tende a assumir uma conformação não-linear). Em alguns casos, as características dos aminoácidos fazem com que eles se organizem na forma de uma α -hélice, como você viu na seção anterior desta aula. Em outros casos, eles podem promover uma dobra na cadeia polipeptídica, colocando lado a lado e alinhados dois ou mais pedaços da proteína. Difícil de visualizar? Veja a **Figura 12.3**:

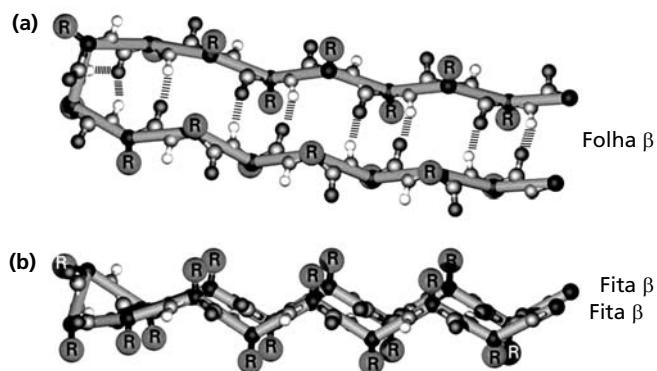


Figura 12.3: Semelhança entre as fitas β e o ziguezague das dobras de um leque ou das pregas de uma saia de colegial. Em (a) você vê a folha β de cima. Repare que duas partes da cadeia polipeptídica estão ligadas por pontes de H, e que os grupamentos laterais (esferas com R) estão para cima ou para baixo do plano da cadeia principal, onde se encontram os carbonos α (esferas pretas). Em (b) você vê as fitas β lateralmente, e poderá perceber com facilidade o ziguezague desta estrutura, semelhante a um leque ou a uma saia de colegial.

As fitas β , assim como a folha β , são estabilizadas por pontes de H, que proporcionam a esta estrutura bastante estabilidade e um certo grau de rigidez. O padrão de formação de pontes de hidrogênio das folhas β é completamente diferente do padrão observado nas α -hélices.

Para que se forme uma folha β , é necessário que se estabeleçam contatos entre as fitas β , ou seja, as pontes de hidrogênio fazem com que duas fitas β formem uma folha β . Como ficam os grupamentos R dos aminoácidos nas folhas β ? Eles ficam voltados para cima ou para baixo do plano em que corre a folha β , conforme você pode ver na **Figura 12.3**. Esta maneira de se posicionar permite que grupamentos volumosos não interfiram com a organização das folhas β .

Existem dois tipos de fitas β : as paralelas e as antiparalelas (**Figura 12.4**). Toda vez que uma proteína se dobrar de forma que a extremidade carboxila esteja orientada no mesmo sentido da extremidade amino, teremos uma fita β paralela; quando amino-terminal e carboxi-terminal estiverem em sentidos opostos (seguindo-se o “fio” da proteína), estaremos diante de uma fita β antiparalela.

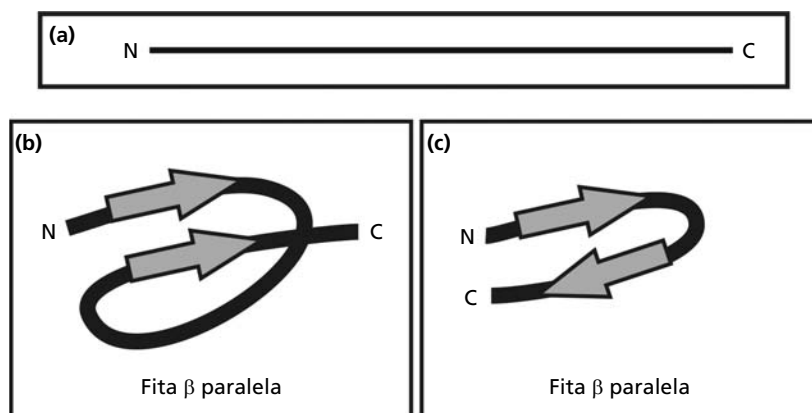


Figura 12.4: Esquema de formação das fitas β paralelas e antiparalelas. Imagine a seqüência primária de uma proteína (representada em a) sofrendo dobras por causa das propriedades químicas dos seus aminoácidos. Se duas partes da seqüência se alinharem, é possível que se forme uma fita β (setas em b e c). Se a fita se formar entre um pedaço da proteína e outro que está no mesmo sentido da extremidade amino da proteína (N), teremos uma fita β paralela; caso se forme entre dois pedaços em orientações de sentido opostas, a fita β será chamada de antiparalela.

Um ponto importantíssimo no que diz respeito às folhas β é que elas podem ser formadas por fitas que estão muito distantes na seqüência primária da proteína, separadas por hélices ou voltas (Figura 12.5). Não se preocupe, pois sobre estas últimas você aprenderá ainda nesta aula, mais adiante.

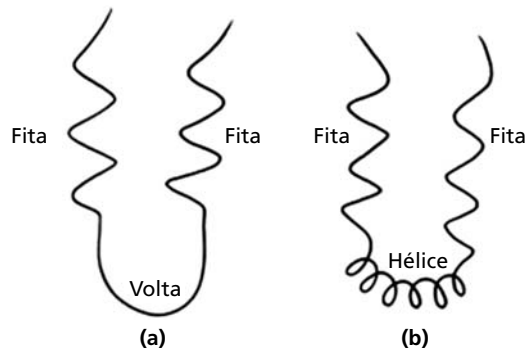
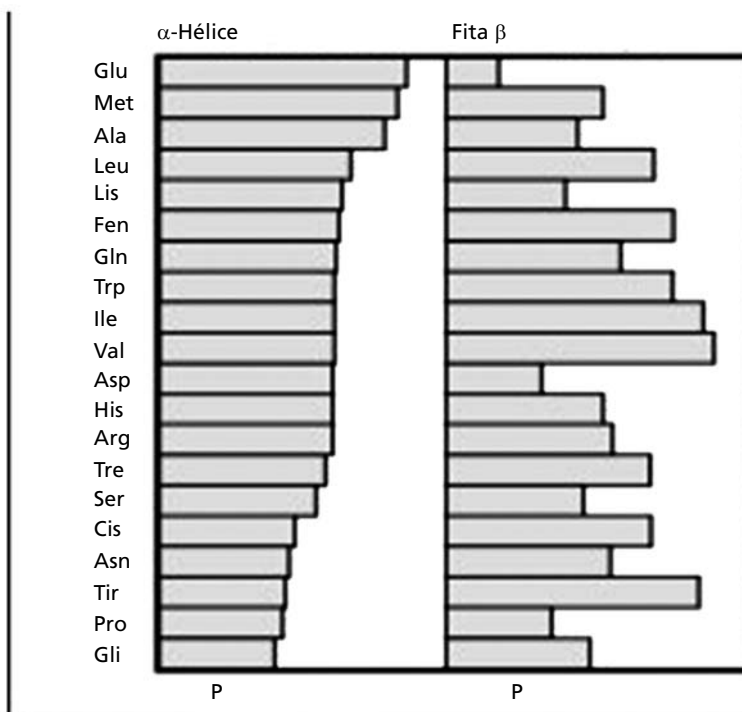


Figura 12.5: Estruturas como as fitas/folhas β podem aproximar regiões distantes de uma proteína, como os aminoácidos de uma extremidade (amino - N-terminal) e de outra (carboxila - C-terminal).

Assim como nos perguntamos para as α -hélices: será que qualquer aminoácido fica bem acomodado numa folha β ? Obviamente, quando as fitas β que formam uma folha β estão muito próximas, a presença de grupamentos R muito volumosos dificulta essa aproximação.

Peter Chou e Gerald Fasman, analisando a composição secundária de diversas proteínas, elaboraram, em 1978, uma tabela com a propensão de cada resíduo para formar uma α -hélice ou folha β (veja o Quadro 12.2). Quanto maior o valor de P (probabilidade), maior a propensão daquele resíduo para formar uma dada estrutura secundária. Esta tabela pôde auxiliar os pesquisadores na previsão da estrutura secundária de uma determinada seqüência desconhecida.

Quadro 12.2: Probabilidade de um dado aminoácido ser encontrado nos dois principais tipos de estrutura secundária. Quanto maior a barra cinza, maior a probabilidade de acharmos o resíduo formando as estruturas



Caso em que as folhas β "fazem diferença" no mundo visível!

A fibroína da seda é uma proteína produzida por insetos e aracnídeos e que está presente na formação dos casulos, teias, ninhos etc. A fibroína da seda da mariposa *Bombyx mori*, por exemplo, é constituída de folhas β antiparalelas possuindo uma repetição de seis aminoácidos ao longo de sua estrutura primária. São eles: Gli-Ser-Gli-Ala-Gli-Ala.

Nas folhas β da fibroína, as fitas β se empilham de modo que os grupamentos R dos resíduos de glicina de uma fita se encaixam perfeitamente na fita β adjacente. Do mesmo modo, os grupos R das serinas ou alaninas se encaixam na fita β adjacente formando uma estrutura bem empilhada e empacotada. A resistência das teias e sedas se deve a esta organização das folhas β , conforme você vai ver com mais detalhes na Aula 15.



Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/700563>

As folhas β , portanto, podem acontecer entre diversos resíduos de aminoácidos de uma seqüência primária. Sua ocorrência é importante por proporcionar à proteína uma estrutura mais resistente; dependendo da função desta proteína, isso pode ser fundamental.

ATIVIDADE

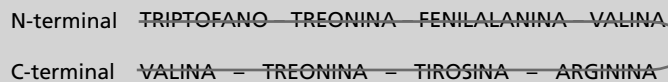


2. Caracterizando folhas β

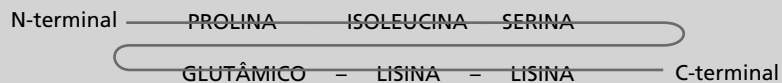
Você aprendeu que as fitas β são formadas pela ligação entre dois trechos distantes da seqüência da proteína.

A seguir, você verá dois pequenos trechos de uma proteína que, após esta começar a assumir uma conformação tridimensional, ficaram lado a lado.

Trecho 1



Trecho 2



Perguntas:

a. Qual desses dois trechos não forma uma fita β ? Justifique sua resposta.

b. Que tipo de ligação é necessário que aconteça para que se forme uma fita (ou folha) β ?

c. No trecho que forma fita β , quais são as orientações destas fitas (paralelas ou antiparalelas)?

RESPOSTA COMENTADA

Se você consultou o **Quadro 12.1**, viu que somente o trecho 1 é que pode constituir uma fita β . Isso porque, nele, estão presentes aminoácidos com alta probabilidade de participar deste tipo de estrutura. O trecho 2 é constituído por aminoácidos que têm baixa propensão para assumir conformação de fita β . Os aminoácidos do trecho 1, pareados como mostrado no enunciado da questão, formarão uma fita β pelo estabelecimento de pontes de H, que deve ter sido sua resposta para a letra b. Só para complementar, essas pontes são formadas entre o oxigênio do grupamento carboxila de um aminoácido com o hidrogênio do grupamento amino de outro aminoácido, localizado paralelamente ao primeiro.

Quanto à orientação das fitas (letra c), devemos levar em conta as posições do C-terminal e do N-terminal da proteína em questão. Como N-terminal e C-terminal do trecho 1 estão em sentidos opostos (se seguirmos o “fio” – seqüência primária – da proteína), esta fita β é antiparalela.

AS VOLTAS

As *voltas* conectam diferentes segmentos das proteínas, podendo mudar a direção da cadeia. Podem estar presentes (1) entre duas α -hélices, (2) conectando uma α -hélice a uma fita β ou vice-versa, ou, ainda, (3) conectando duas fitas β para a formação de uma folha β antiparalela. Neste último caso, são ditas voltas β (**Figura 12.6**).

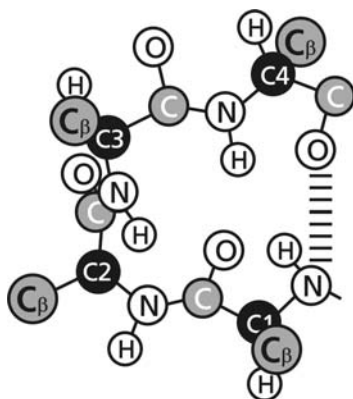


Figura 12.6: As voltas β , formadas por quatro aminoácidos. Na figura, cada esfera preta representa o carbono α de um aminoácido. O grupamento amino do primeiro se liga, por ponte de hidrogênio, ao grupamento carboxila do último (N ||| O), formando a volta.

As voltas β são formadas por quatro aminoácidos que se mantêm formando uma espécie de estrutura em semicírculo, em que o primeiro resíduo da *volta* faz uma ponte de hidrogênio com o quarto resíduo da *volta*. Os dois resíduos centrais não mantêm nenhum contato específico.

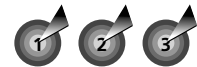
Será que também existem resíduos que se apresentam com mais frequência nas *voltas*? Mais uma vez, a resposta é positiva! Prolinas e glicinas são ótimas formadoras de voltas, exatamente pelos mesmos motivos que fazem desses dois aminoácidos maus formadores de α -hélices.

IMINOÁCIDO

Um iminoácido é um aminoácido que possui seu nitrogênio (do grupamento amino) formando um ciclo.

A glicina, por ser muito flexível e pequena, fica bem acomodada nessas *voltas*. A prolina, por ser um **IMINOÁCIDO**, assume uma conformação propícia para este tipo de estrutura.

ATIVIDADE FINAL



Estrutura secundária de uma proteína

A estrutura secundária de uma proteína é constituída por α -hélices, folhas β e voltas. Analise a seqüência a seguir, de uma proteína hipotética (os números na frente das linhas indicam a posição do primeiro aminoácido daquela linha na seqüência total):

- 1 leucina-histidina-valina-fenilalanina-alanina-
- 6 -prolina-glicina-alanina-prolina-valina-
- 11 -treonina-tirosina-arginina-prolina-glicina-
- 16 -serina-glicina-valina-fenilalanina-treonina-
- 21 -triptofano

a. Identifique possíveis sítios (regiões) de formação de voltas β (escreva na linha a seguir os números dos aminoácidos envolvidos na volta β).

b. Identifique a região na qual esta proteína assumirá uma conformação α -hélice.

c. Há possibilidade de formação de fita β ? Entre quais aminoácidos?

RESPOSTA COMENTADA

Esta atividade oferece um grau de dificuldade maior do que as outras por ser mais integradora e abordar todos os elementos que constituem a estrutura secundária de uma proteína. Além disso, ela mostra uma seqüência partida em cinco linhas para você visualizar por inteiro e identificar regiões de volta, hélice e fita β . É, não era simples, mas, certamente, muito valiosa para a sua aprendizagem!

Pedimos que você identificasse as possíveis voltas β primeiro pois elas eram as mais fáceis. Você aprendeu na aula que as voltas β são formadas entre quatro aminoácidos, especialmente glicinas e prolinas. A primeira volta é formada pelos aminoácidos 6, 7, 8 e 9; a segunda, entre os resíduos 14, 15, 16 e 17. Estes dois grupos de aminoácidos são majoritariamente constituídos por glicinas e prolinas.

Em seguida, você deve ter identificado a α -hélice, constituída pelos primeiros cinco aminoácidos. Entre eles não há cargas contrárias se repelindo, aminoácidos volumosos em conflito, glicinas e prolinas, boas condições para a formação da α -hélice.

Com a formação da segunda volta (entre os resíduos 14-17), os aminoácidos valina-treonina-tirosina-arginina (10-13) e valina-fenilalanina-treonina-tritopfano (18-21) se aproximam. Estes aminoácidos têm grande propensão a formar fita β quando se encontram pareados, como é o caso. Assim, estes resíduos se associam por pontes de H e formam uma fita β .

RESUMO

A estrutura secundária de uma proteína é a organização espacial dos seus aminoácidos em três estruturas: α -hélices, folhas β e voltas.

As α -hélices se formam pelo “enovelamento” da seqüência primária ao redor de um eixo imaginário, simulando uma estrutura semelhante a uma espiral de caderno. Esta estrutura é estabilizada por pontes de H e por interações de Van de Waals. As folhas β são também arranjos espaciais que a seqüência primária pode tomar. Sua maior característica é o fato de unir regiões bastante distantes de uma proteína, formando uma espécie de ziguezague semelhante a um leque ou a uma saia de colegial. Quando dois pedaços da proteína se ligam por pontes de H formando “uma tira do leque”, dizemos que se formou uma fita β . Quando várias fitas β se associam (formando uma estrutura semelhante ao leque inteiro), temos as folhas β .

O terceiro arranjo espacial é chamado de voltas. As voltas são torções na seqüência primária, que também podem ser estabilizadas por ponte de H. No caso das voltas β , temos sempre quatro aminoácidos envolvidos, e o primeiro se liga ao quarto por uma ponte de hidrogênio.

Todas essas três estruturas estabilizam a estrutura terciária de uma proteína, importante para que ela execute sua função no organismo/natureza.

INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

Você aprendeu hoje, isoladamente, como uma proteína pode começar a se organizar no espaço. Na próxima aula, você verá como estas conformações (α -hélices, folhas β e voltas) fazem uma proteína se “arrumar” no espaço, imaginando todos esses elementos ao mesmo tempo em uma cadeia polipeptídica. Até lá!

Proteínas 3 – Agora, sim: as proteínas “no espaço”!

Metas da aula

Apresentar as estruturas terciária e quaternária de proteínas, as forças que mantêm essas estruturas e as técnicas utilizadas para desvendá-las.

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- 1 relacionar as interações moleculares e a manutenção das estruturas – terciária e quaternária;
- 2 identificar técnicas para determinação da estrutura terciária de uma proteína;
- 3 diferenciar estrutura terciária e quaternária de proteínas;
- 4 identificar um grupamento prostético associado a uma proteína.

Pré-requisitos

Para acompanhar esta aula, você precisa ter em mente o que são as α -hélices, as folhas β e as voltas, temas abordados na aula passada, sobre estrutura secundária das proteínas.

INTRODUÇÃO

Os cientistas estimam que o homem sintetize cerca de 100 mil proteínas diferentes em seu organismo. Estas moléculas, como você já sabe, são responsáveis por funções vitais do nosso corpo, como geração de energia, contração muscular (incluindo o músculo cardíaco), entre outras.

Algumas doenças são causadas por disfunções de determinadas proteínas, quer seja excesso, falta ou mau funcionamento. Um exemplo é o mal de Alzheimer, causado pelo acúmulo de uma proteína específica (proteína β -amilóide) no cérebro.



Figura 13.1: O mal de Alzheimer é uma doença que afeta a atividade dos neurônios (neurodegenerativa) e que acomete, principalmente, indivíduos de idade mais avançada. Esta doença é causada pelo acúmulo de uma proteína (proteína β -amilóide) no cérebro do indivíduo, prejudicando a manutenção de informações recentes, ou seja, causando perda de memória.

Conhecer a estrutura das proteínas é fundamental para que a Ciência possa trabalhar no desenvolvimento de drogas específicas contra certas patologias. Uma droga que se ligue à proteína β -amilóide, por exemplo, poderia favorecer sua degradação ou impedir seu acúmulo, prevenindo a manifestação do mal de Alzheimer.

Nesta aula, você continuará aprendendo sobre a estrutura das proteínas, só que agora verá como elas se organizam no espaço (de maneira tridimensional).

A ESTRUTURA TERCIÁRIA DE UMA PROTEÍNA

O arranjo tridimensional das α -hélices, folhas β e voltas no espaço é conhecido como estrutura terciária da proteína (**Figura 13.2**). Para melhor entendermos isto, imagine um cadarço de sapato. Esticado, ele equivale à seqüência primária; quando você faz a primeira dobra para começar o laço, equivaleria à estrutura secundária. Para amarrar o seu sapato, é preciso que o seu cadarço se dobre sobre si mesmo mais de uma vez, até formar o laço. É mais ou menos isto o que acontece com as proteínas. Os elementos de estrutura secundária (hélices, fitas e voltas) vão se dobrando e se organizando no espaço até que a proteína atinge sua conformação final. É então que ela assume sua função, a qual pode ser, por exemplo:

- a defesa do organismo, como é o caso dos anticorpos;
- a regulação da expressão gênica, ativando ou reprimindo genes de determinadas proteínas;
- a catálise (aceleração) de uma reação – função das enzimas;
- o capsídeo (cobertura) de uma partícula viral, como é o caso de algumas proteínas estruturais.

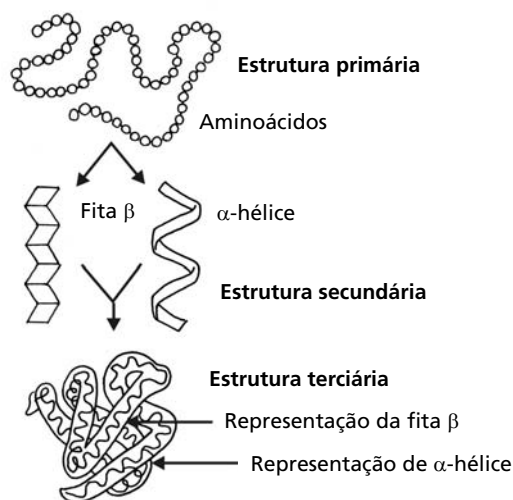


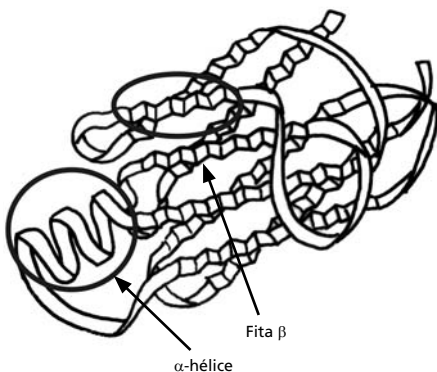
Figura 13.2: Os três primeiros níveis organizacionais de uma proteína. A seqüência de aminoácidos (estrutura primária) pode assumir conformações de α -hélice e de fitas ou folhas β , o que caracteriza a estrutura secundária. Quando as α -hélices e as fitas/folhas β se organizam no espaço e assumem uma conformação tridimensional, temos a estrutura terciária de uma proteína.

Mas você sabe como essa estrutura é mantida?

FORÇAS QUE MANTÊM A ESTRUTURA TERCIÁRIA DAS PROTEÍNAS

Por diversos estudos, hoje sabemos que a estrutura terciária das proteínas é mantida por pontes de hidrogênio, interações apolares, interações iônicas, e as forças de van der Waals todas entre as cadeias laterais dos resíduos de aminoácidos. Além dessas, a estrutura terciária é mantida também pelas pontes de enxofre que se formam quando duas cisteínas se aproximam no espaço (Figura 13.3).

Estrutura terciária – organização espacial das α -hélices e das fitas- β



Detalhe das forças que mantêm a estrutura terciária

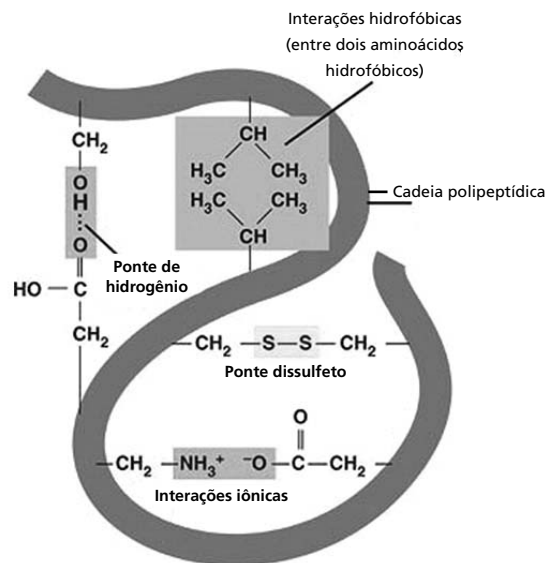
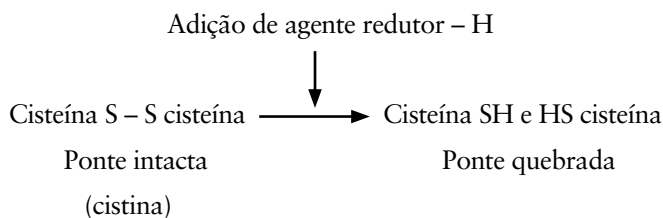


Figura 13.3: Forças que mantêm a estrutura terciária de uma proteína. As α -hélices e as fitas β de uma proteína se organizam em um arranjo espacial mantido por diversas interações, como você pode ver na figura. Estas interações são as responsáveis pela manutenção da estrutura terciária de uma proteína.

De todas essas interações, a mais forte é, sem dúvida, a ponte de enxofre, já que é a única que envolve uma ligação covalente.

Para quebrá-la, é necessário que se adicione à proteína um agente redutor de pontes de enxofre. Este agente, que pode ser o ditioneitol (DTT), o β mercaptoetanol, a glutatona etc., funciona desfazendo a ponte dissulfeto ao doar hidrogênios para cada uma das cisteínas. Veja:



Uma ponte dissulfeto pode unir duas cisteínas bastante distantes na seqüência primária, auxiliando o arranjo tridimensional da proteína. Desfazer uma ponte dissulfeto com um agente redutor é desestabilizar a estrutura terciária de uma proteína, expondo regiões que estavam voltadas para o interior da proteína por algum motivo, o qual você descobrirá logo após realizar a Atividade 1.

ATIVIDADE



1. Mantendo as proteínas no espaço!

Até agora, você aprendeu três níveis de organização das proteínas. Cada um desses níveis é caracterizado e depende de determinados tipos de ligações e interações entre os aminoácidos para serem mantidos. Relacione o nível de organização protéico ao tipo de interação/ligação que o mantém:

- (1) Estrutura primária
 (2) Estrutura secundária
 (3) Estrutura terciária
- a. () interações entre aminoácidos hidrofóbicos;
 b. () ligações peptídicas;
 c. () pontes de H entre a carboxila de um aminoácido e o hidrogênio de outro;
 d. () interações iônicas;
 e. () interações entre os átomos de enxofre de duas cisteínas.

RESPOSTA COMENTADA

A estrutura primária de uma proteína é mantida por ligações peptídicas entre os resíduos de aminoácidos.

A estrutura secundária acontece por se formarem pontes de H entre o oxigênio da carboxila de um aminoácido e o hidrogênio do grupamento amino de outro e por interações apolares.

A estrutura terciária, por sua vez, é mantida por pontes de hidrogênio, interações apolares, interações iônicas e pontes dissulfeto entre as

cadeias laterais dos resíduos de aminoácidos presentes. A resposta para a atividade, portanto, é:

- a. 2 e 3;*
- b. 1;*
- c. 2 e 3;*
- d. 3;*
- e. 3.*

Essas são as mesmas forças que mantêm a estrutura quaternária de uma proteína, só que não acontecem mais em uma só cadeia, e sim em mais de uma. Mas isso você vai ver daqui a pouco...

DISTRIBUIÇÃO DOS AMINOÁCIDOS NA PROTEÍNA SEGUNDO SUA NATUREZA QUÍMICA

Um aspecto importante quando analisamos a estrutura terciária das diversas proteínas é que há uma tendência de se encontrarem aminoácidos apolares no seu interior, enquanto os aminoácidos polares podem ser encontrados na superfície da proteína. Pense um pouco: você vê alguma razão para que tal fato ocorra?

A tendência que os aminoácidos apolares apresentam de se esconder dentro da proteína está relacionada ao fato de que no interior de muitas dessas moléculas existem poucas moléculas de água ou quase nenhuma. Os aminoácidos apolares, portanto, se situam com frequência no interior das proteínas para evitar o contato com a água, uma vez que eles não conseguem interagir com esta molécula.

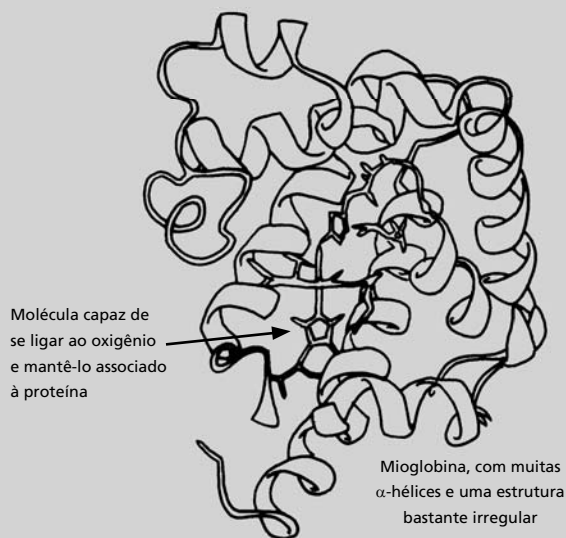
O mesmo não ocorre com os aminoácidos polares, que interagem com a água formando pontes de H e, por isso, podem se localizar em regiões mais expostas à água, na superfície das proteínas.

COMO DESCOBRIR A ESTRUTURA DE UMA PROTEÍNA?

Cada proteína apresenta uma estrutura terciária que lhe é característica. Todas as **MIOGLOBINAS** da espécie humana, por exemplo, apresentam a mesma estrutura terciária.

MIOGLOBINAS

São proteínas presentes nas células musculares, capazes de transportar/armazenar oxigênio unicamente para as células nas quais residem. As mioglobinas são capazes de desempenhar esta função porque, associada à sua estrutura, há uma molécula capaz de se ligar ao oxigênio, a mesma molécula que encontramos na hemoglobina, possibilitando o transporte desse gás no nosso sangue.



Mas como é possível desvendar e conhecer a estrutura terciária de uma proteína?

A estrutura terciária de uma proteína pode ser obtida pela utilização de dois métodos: difração de raios X e ressonância magnética nuclear. Estas técnicas nos permitem conhecer os detalhes da estrutura das proteínas, de forma a saber quais partes da proteína estão mais próximas e quais partes estão mais afastadas. É quase como tentar entender como se enrola um novelo de lã!

Ambas as técnicas são bastante sofisticadas, e o que fazem, em última análise, é fornecer um “retrato” microscópico da proteína. Este “retrato” é então decifrado por especialistas nestas técnicas que, com a ajuda de computadores, acabam gerando uma imagem tridimensional, refinada e precisa, dos contatos entre os átomos na proteína.

Conheça essas técnicas a seguir!

CRISTALOGRAFIA DE RAIOS X

Para se desvendar a estrutura de uma proteína por esta técnica, é necessário obter uma imagem do padrão de difração (espalhamento) de raios X desta proteína. Só que, para poder fazer este experimento, você precisa, primeiro, obter o **CRISTAL** desta proteína.

CRISTAL

O cristal a que nos referimos assemelha-se visualmente àquele presente no açúcar cristalizado (também conhecido como açúcar cristal ou açúcar de confeitiro). É uma estrutura formada pela arrumação no espaço de maneira organizada dos átomos da substância que o compõe.

Existem diversas técnicas para se obterem cristais de proteínas, e o conjunto delas é chamado cristalografia. Em geral, é necessário ter a proteína a ser analisada em estado altamente puro e em alta concentração.

Além disso, utilizam-se agentes químicos, como, por exemplo, o polietileno glicol. Um agente como este faz com que a proteína se dissocie de moléculas de água que porventura estejam ao seu redor, facilitando a formação do cristal.

Assim, no cristal, a quantidade de água é reduzida e as moléculas estão perfeitamente ordenadas. Isso é importante para se obter um padrão de difração (espalhamento) de raios X, e você já vai entender o porquê.

Uma vez obtido o cristal, incide-se sobre ele radiação (raios) do tipo X. Os átomos da proteína (no cristal) recebem esta radiação, que se espalha produzindo o que se chama de padrão de difração de raios X.

Fazer a cristalografia de uma proteína é fundamental para se obter um padrão de difração homogêneo. Ou seja, ter um cristal faz com que, independentemente de em que “lado” da sua amostra você vá incidir os raios X, o padrão de difração que você vai ver será sempre o mesmo.

Cada proteína possui um padrão de difração próprio. É como se cada combinação de átomos possuísse uma “impressão digital” própria, cuja análise permite que se conheçam os detalhes daquela molécula. Com a ajuda de computadores e programas específicos, estas “impressões digitais” são decifradas, chegando-se à estrutura final da proteína. Veja, na **Figura 13.4**, a estrutura já conhecida de algumas proteínas:

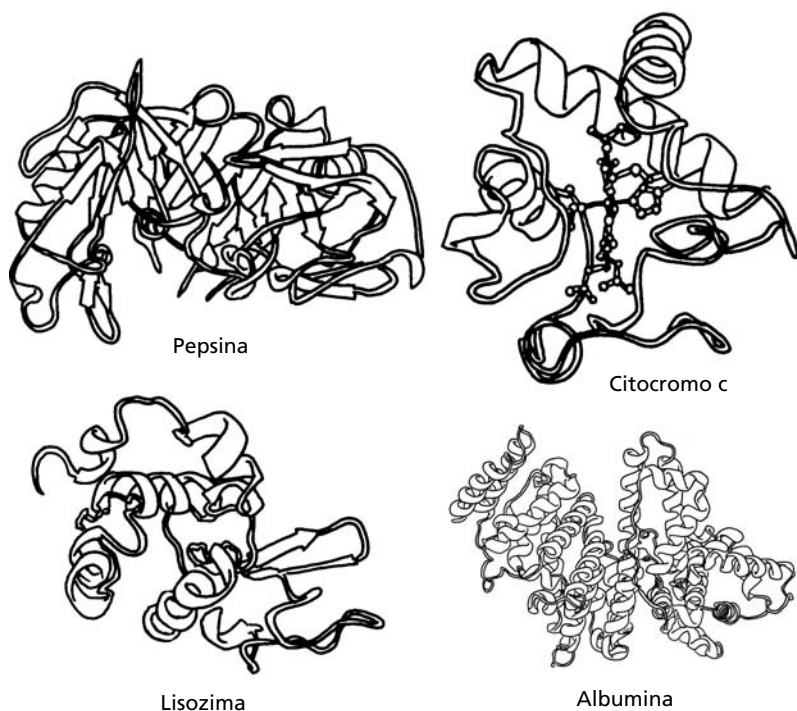


Figura 13.4: Estrutura terciária, já conhecida, de algumas proteínas. Observe, nas quatro, a presença de α -hélices (representadas por espirais) e de fitas β (representadas por setas largas na pepsina e na lisozima), em um arranjo tridimensional. No primeiro quadro, está a pepsina, proteína responsável pela digestão de proteínas no nosso estômago. À direita da pepsina está o citocromo c. Junto com sua estrutura estão representados, no centro, alguns pontos cinza-escuro, que representam uma molécula que fica associada à estrutura do citocromo c. Essa molécula é capaz de doar e receber elétrons com facilidade, o que é importante para a sua função (participar da cadeia transportadora de elétrons, uma via que participa da geração de energia dentro da célula). Já a lisozima é uma proteína presente nas lágrimas, na saliva e em outras secreções, e que atua como defesa contra microorganismos. A albumina, por sua vez, é uma proteína presente em grandes quantidades no nosso sangue, e atua carregando moléculas de um lado para o outro do corpo.

Desvendando uma proteína dos nossos músculos...

Em 1958, John Kendrew, ao analisar os cristais da mioglobina, a primeira proteína a ter sua estrutura cristalográfica determinada, observou espantado que a estrutura desta proteína era bastante complicada, irregular e assimétrica. O que as análises de Kendrew mostraram é que a estrutura da mioglobina faz com que esta proteína apresente em sua superfície reentrâncias, formando cavidades e bolsos.

Hoje, sabemos que esta irregularidade na superfície das proteínas, na verdade, é muito importante, por exemplo, para permitir que elas interajam entre si, ou com outras moléculas da célula, como duas peças de um quebra-cabeça que se encaixam.

RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é outra técnica que permite a elucidação da estrutura das proteínas. Diferentemente da difração de raios X, na RMN a proteína fica em solução e não na forma cristalizada.

A proteína de interesse, em solução, é levada para um equipamento chamado espectrômetro de ressonância. Neste equipamento, a molécula de proteína é colocada sob um campo magnético muito forte. Em seguida, são aplicados **PULSOS DE RADIOFREQUÊNCIA** que são absorvidos pelos núcleos dos átomos presentes na molécula da proteína, excitando-os. Quando esses núcleos retornam ao seu estado basal, isto é, não excitado, eles emitem de volta radiofrequências que são específicas de cada um dos átomos (nas proteínas encontramos sempre carbonos, hidrogênios e oxigênios) e que podem ser medidas.

Existem seqüências de pulsos específicas, que revelam não só qual é o átomo, mas como ele está ligado a outros átomos, por exemplo, por meio de uma ligação covalente. Neste caso, pode-se conhecer o tipo de aminoácido responsável por aquelas frequências. Existem também seqüências de pulsos capazes de revelar os átomos que estão próximos no espaço, mas que não estão unidos por meio de ligação covalente. Estes sinais são oriundos de aminoácidos que estão distantes, na seqüência primária da proteína, mas próximos na estrutura terciária. É analisando estas informações que um pesquisador que trabalha com estrutura de proteínas vai, passo a passo, montando uma espécie de quebra-cabeça molecular. Obviamente a tecnologia trabalha a favor da Ciência, e a ajuda de computadores com programas específicos possibilita a obtenção da estrutura tridimensional da proteína.

Na Ressonância Magnética Nuclear também é necessário que se tenha a proteína de interesse em alta concentração e altamente pura.

No Brasil, existem diversos grupos de pesquisa que se dedicam à determinação da estrutura de proteínas. Em São Paulo e no Rio de Janeiro, existem equipamentos de RMN muito modernos, bem como uma enorme facilidade para determinação de estrutura de proteínas por raios X, mais especificamente em Campinas e São Carlos (veja o boxe a seguir).

PULSOS DE RADIOFREQUÊNCIA

Exposições de uma amostra (no caso do assunto da nossa aula, proteínas) a ondas com o comprimento das ondas de rádio, por tempos curtos. As exposições a estas ondas desencadeiam alterações na organização dos elétrons de um átomo, deixando-o no que chamamos “estado excitado”.

O Brasil e a tecnologia de ponta

Em Campinas (SP) está situado o melhor centro da América Latina para elucidação da estrutura de proteínas: o Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS). Ele entrou em funcionamento em 1997, e possui todos os equipamentos necessários à elucidação da estrutura de proteínas, por diversas técnicas. Lá, é possível cristalizar uma proteína e fazer a difração de raios X e/ ou analisá-la por Ressonância Magnética Nuclear.

Até agora, diversas estruturas já foram elucidadas, incluindo a hexoquinase, uma enzima que participa da primeira etapa para a utilização do açúcar glicose como fonte de energia.

Quer saber mais sobre este centro tão importante? Visite www.lnls.br e navegue à vontade. Lá você encontra, em linguagem bastante acessível, várias informações sobre o funcionamento deste importante pólo tecnológico!



ATIVIDADE



2. Como descobrir a estrutura de uma proteína?

Em toda reunião científica (congresso), há um espaço para que os pesquisadores que ali estão apresentem os trabalhos que estão desenvolvendo, quer oralmente, quer em um painel (pôster).

Dois pesquisadores, um dos Estados Unidos e outro da França, se encontraram em um congresso internacional e descobriram que haviam desvendado a estrutura da mesma proteína. Para que nenhum dos dois perdesse os dados que geraram, eles decidiram publicar o trabalho juntos, somando os dados que tinham obtido. Por sorte, um deles tinha feito experimentos de Ressonância Magnética Nuclear e o outro, cristalografia de raios X.

A seguir, você encontra uma tabela que lista os procedimentos que John Grey (o americano) e Louis Iliet (o francês) seguiram:

	John Grey	Louis Iliet
Procedimentos seguidos		
1	Obtenção da proteína em grande quantidade	Obtenção da proteína em grande quantidade
2	Purificação da proteína	Purificação da proteína
3	Precipitação da proteína com polietileno glicol	Concentração da proteína em solução, de um volume de 300mL para 50µL
4	Manutenção da proteína em uma câmara fria sem agitação	Manutenção da proteína em agitação, em temperatura ambiente
5	Exposição à radiação	Exposição a um campo magnético forte e a pulsos de radiofrequência
6	Obtenção de um perfil de espalhamento da radiação que incidiu na amostra	Obtenção de um perfil de emissão de ondas por parte da amostra
7	Análise deste perfil	Análise deste perfil
8	Elucidação da estrutura	Elucidação da estrutura

Analizando as duas colunas da tabela, qual método foi utilizado por que pesquisador? Justifique sua resposta mencionando as etapas (1 a 8) que lhe permitiram chegar a esta conclusão.

RESPOSTA COMENTADA

Os dois primeiros passos foram seguidos pelos dois pesquisadores. No passo 3, John Grey começa a trabalhar para retirar água associada às moléculas de sua proteína de estudo, o que revela que ele optou por estudar a estrutura desta por cristalografia de raios X. Para confeccionar um cristal, é necessário ter a proteína em alta concentração e fora de solução (isto é, sem estar associada à água). Isso se faz mantendo a amostra em baixa temperatura sem qualquer movimento para que as moléculas possam se organizar na forma de um cristal. Obtido o cristal, o passo seguinte é expô-lo a raios X para observar o padrão de difração que o cristal originará. A análise deste padrão é que revela a estrutura da proteína.

Louis, por sua vez, elucidou a estrutura de sua proteína por RMN. Ele obteve uma amostra bastante concentrada, que foi mantida em solução, característica da técnica. Esta amostra foi exposta ao campo magnético, aos pulsos de radiofrequência, sendo excitada e retornando ao seu estado normal em seguida. O perfil dos pulsos emitidos pela amostra ao retornar ao estado inicial (não excitado) foi analisado por Louis que, assim, também obteve a estrutura da proteína!

Agora que você já aprendeu o que é e como é mantida a estrutura terciária de uma proteína, além de descobrir como desvendá-la, podemos dar mais um passo no estudo destas moléculas.

Na Aula 11 apresentamos você aos quatro níveis de organização das proteínas. Até agora, você aprendeu três deles. Vamos ao quarto?

A ESTRUTURA QUATERNÁRIA DE UMA PROTEÍNA

Pense no funcionamento de uma máquina. Independentemente de qual tenha sido sua escolha, certamente esta máquina conta com mais de uma peça para seu funcionamento. Algumas dessas peças, inclusive, se repetem. Em um carro, por exemplo, não basta termos um pneu para que ele se movimente. Precisamos dos quatro!

Existem proteínas que não concentram em uma única seqüência de aminoácidos tudo o que precisam para exercer sua função. Às vezes, é necessário que haja aquela mesma seqüência duplicada, ou mesmo que haja uma outra seqüência que, organizada espacialmente, se associe à primeira. Neste contexto, cada seqüência desta proteína que será montada é chamada de subunidade.

Uma proteína apresenta nível de organização quaternário quando possui mais de uma subunidade. Se a proteína tiver duas subunidades, é chamada dímero; se três, trímero; se quatro, tetrâmero; cinco, pentâmero, e assim por diante. Quando usamos o termo oligômero, queremos dizer que a proteína tem várias subunidades.

Mas, antes de seguir, pense um minutinho: você acha que todas as proteínas alcançam o nível de organização quaternário?

A verdade é que não. Muitas proteínas se apresentam na forma monomérica, isto é, com apenas uma subunidade. A mioglobina, que usamos como exemplo no início desta aula, é uma proteína monomérica. Já a hemoglobina, proteína responsável pelo transporte do oxigênio no sangue (função bastante similar à da mioglobina, mas em outro tecido), possui quatro subunidades:

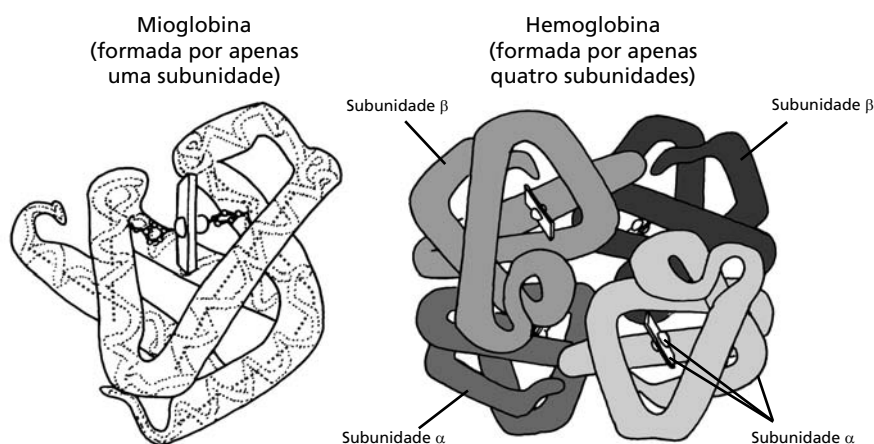
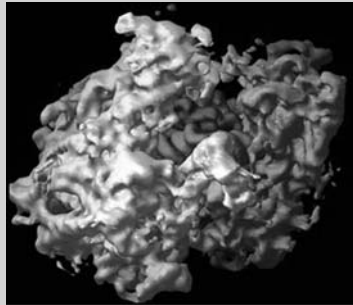


Figura 13.5: Estruturas esquemáticas da mioglobina e da hemoglobina. A mioglobina, por ser formada por apenas uma subunidade, não possui estrutura quaternária. Já a hemoglobina é um tetrâmero, ou seja, uma proteína composta pela união de quatro subunidades (duas subunidades α e duas β).

HEXOQUINASE

Enzima que participa da primeira etapa da quebra da glicose, processo que acontece para que a célula obtenha energia desta molécula.

Proteínas oligoméricas podem possuir subunidades idênticas, como no caso da **HEXOQUINASE**, ou *subunidades distintas*, como no caso da hemoglobina que apresenta cadeias α e β (que são “pedaços” da hemoglobina que circula no nosso sangue – se quiser saber mais exemplos de oligômeros, veja o boxe Com quantas subunidades se faz um ribossomo?).



Com quantas subunidades se faz um ribossomo?

Um bom exemplo de oligômero é o ribossomo, estrutura da célula que realiza a tradução das proteínas. Os ribossomos são formados por cerca de 50 cadeias polipeptídicas distintas que se associam às moléculas de um RNA característico, encontrado somente nesta estrutura (e, por isso, chamado RNA ribossomal).

A estrutura deste grande complexo foi completamente desvendada em 2000 por pesquisadores da Universidade de Yale (Thomas Steitz e Peter Moore), utilizando a técnica de cristalografia de raios X.

Na Aula 17, onde falaremos de estruturas virais e de fibras amilóides você verá outros exemplos de oligômeros e de estrutura quaternária.

Mas volte à **Figura 13.5** e a observe com um pouco mais de atenção. Se você reparar, há uma estrutura representada no meio da cadeia da mioglobina e no centro de cada uma das subunidades da hemoglobina.

Esta estrutura não é um elemento protéico, isto é, não é um aminoácido e não faz parte da seqüência primária da proteína. Sobre este elemento “estranho” às estruturas representadas você aprenderá na próxima seção, logo após realizar a Atividade 4!



ATIVIDADE



3. Como explicar?

O pesquisador João Souza, após diversos procedimentos, obteve uma amostra pura da proteína de seu interesse de estudo, a XYZ. Ao verificar a seqüência da proteína pura, deparou-se com duas seqüências diferentes. João se esforçou mais na purificação, acreditando que poderia ter alguma outra proteína contaminando sua amostra, mas todos os resultados davam sempre os mesmos: duas seqüências diferentes na amostra.

Em um congresso, João teve a oportunidade de conversar com um grande especialista da área, que já havia, alguns anos antes, trabalhado com a proteína XYZ. Este especialista disse a João que ele não tinha com o que se preocupar, pois sua amostra continha apenas a proteína XYZ, mesmo. João, obviamente, ficou intrigado e, na mesma hora, perguntou: "Por que há duas seqüências, então?"

Que explicação você daria a João no lugar do especialista, levando em consideração os dois níveis de organização das proteínas que aprendeu nesta aula?

RESPOSTA COMENTADA

João se empenhou em obter uma amostra pura de sua proteína, mas sempre a conseguia com duas seqüências diferentes. Um especialista garantiu a ele que a segunda seqüência não se referia a uma contaminação. A explicação para isso? João está diante de uma proteína que possui estrutura quaternária, e não terciária apenas. Se a proteína XYZ apresentasse estrutura terciária, João certamente teria em mãos uma amostra com contaminação por outra proteína. Como o especialista garantiu que não há nenhuma proteína além da XYZ na amostra de João, ele só pode estar diante de uma proteína com estrutura quaternária e, mais ainda, com pelo menos duas subunidades, as quais apresentam seqüências diferentes (o que nem sempre acontece em proteínas com estrutura quaternária).

No caso específico da proteína XYZ e com as informações que tivemos, não podemos saber quantas subunidades a proteína tem de fato (se é dímero, trímero etc.). O que podemos garantir é que ela possui, no mínimo, duas subunidades, e que elas são distintas.

OUTROS GRUPAMENTOS NAS PROTEÍNAS

Assim como você viu nas representações esquemáticas da hemoglobina e da mioglobina, muitas proteínas possuem grupamentos não-protéicos aderidos. Na hemoglobina, o grupamento que você viu ligado a cada uma das quatro subunidades é o heme (você verá o grupamento heme com mais detalhes na Aula 16).

Outros exemplos de proteínas que possuem grupamentos não-protéicos são as proteínas do complexo coletor de luz, que estão envolvidas na fotossíntese. Essas proteínas possuem pigmentos aderidos a elas, tais como a clorofila. Há ainda as proteínas que, para exercer corretamente suas funções, precisam ter vitaminas associadas à sua estrutura.

Os grupamentos não-protéicos têm papel relevante em grande parte das funções das proteínas e, conseqüentemente, se faltar um desses grupamentos a proteína perde sua função. Um exemplo pode ser visto no caso de uma dieta desbalanceada, na qual nos falta alguma vitamina. As proteínas que possuem esta vitamina como parte de sua estrutura, e que dela dependem para realizar sua função, ficarão prejudicadas. Em aulas mais à frente, você verá como agem e quais são as vitaminas, para que você compreenda melhor toda essa história.

CONCLUSÃO

Considerando a enorme quantidade de proteínas que temos em nosso organismo e as diversas funções que estas desempenham, qualquer estudo sobre estas moléculas parece pouco em relação à sua importância para a vida.

Conhecer a estrutura das proteínas é fundamental para que possamos pensar em maneiras de contornar doenças causadas por disfunções destas moléculas no nosso corpo. O princípio farmacológico disso se baseia no fato de que estas moléculas apresentam grande associação entre a estrutura que têm e a função que realizam. Assim, quanto mais soubermos sobre estas moléculas, melhor!



ATIVIDADE FINAL

Um estranho (bastante útil) no ninho...

A mucina é uma proteína, e é também conhecida como proteína do muco. Uma característica das mucinas é que essas proteínas são altamente glicosiladas, ou seja, possuem uma grande quantidade de carboidratos associada à sua estrutura. Esses açúcares fazem com que essa proteína seja mais difícil de ser atacada por proteases (enzimas que quebram outras proteínas).

Ela está presente em diversas partes do corpo, por fazer parte da constituição das mucosas (membranas que recobrem as paredes internas de algumas cavidades do nosso corpo). Uma dessas mucosas é a do estômago.

Considerando que o estômago é um órgão rico em pepsina, uma enzima que quebra outras proteínas, qual é a vantagem de se ter a mucina recobrindo a parede deste órgão? O que fornece essa possibilidade às mucinas?

RESPOSTA COMENTADA

O suco gástrico (secreção que é liberada na cavidade estomacal por estímulo alimentar) é rico em ácido clorídrico (HCl) e uma protease, a pepsina. O ácido tem duas funções: exterminar microorganismos que venham junto com a alimentação e desfazer a estrutura das proteínas que chegam no estômago (você aprenderá mais sobre esse processo daqui a algumas aulas). A pepsina é capaz de quebrar outras proteínas em peptídeos menores, que serão quebrados em aminoácidos mais adiante no processo de digestão.

Um risco de se ter ácido e protease em uma cavidade dentro do corpo é o de que esses dois componentes podem destruir as células que compõem o tecido da parede da própria cavidade. Qual a estratégia para evitar isso? Recobrir a cavidade com algo que não possa ser destruído por essas substâncias – e aqui entram as mucinas!

As mucinas podem “defender” o tecido da digestão pela pepsina e da acidez do HCl por causa da sua estrutura, que tem uma grande quantidade de carboidratos associada à parte protéica. Esses carboidratos (açúcares) são os grupamentos prostéticos da mucina e, sem eles, ela não poderia desempenhar sua função.

RESUMO

A estrutura terciária de uma proteína é a maneira como estas moléculas se organizam no espaço. Ela é proporcionada e mantida por diversos tipos de interação que acontecem entre as cadeias laterais dos aminoácidos que fazem parte da seqüência primária da molécula. A mais forte destas interações é a ponte dissulfeto, por ter um caráter covalente.

Conhecer a estrutura das proteínas é importante por causa da enorme gama de funções que estas moléculas exercem nos organismos. Maneiras de se fazer isso é utilizar as técnicas de cristalografia de raios X e Ressonância Magnética Nuclear. Na primeira, incidimos raios X sobre um cristal formado pela proteína pura e em alta concentração. O padrão de espalhamento dos raios X após a incidência no cristal, ao ser analisado, revela a estrutura da proteína. Já na segunda técnica, a amostra da proteína, em solução, é exposta a um forte campo magnético, e sofre a ação de pulsos de radiofreqüência, ficando no estado excitado; ao retornarem para o estado inicial, os átomos da molécula emitem novos pulsos de radiofreqüência, que revelam suas identidades e a que outros átomos estão ligados.

Para algumas proteínas, além da estrutura terciária existe um quarto nível organizacional: a estrutura quaternária. Esta é definida pela união de subunidades que, ligadas umas às outras, possibilitam que a proteína exerça corretamente sua função. Um exemplo é a hemoglobina, que possui quatro subunidades.

Falando em hemoglobina, esta serve de exemplo também para mostrar que há possibilidade de encontrarmos outras moléculas não-protéicas associadas às proteínas. A presença destes grupamentos também é relacionada à função que a proteína exerce, e sua retirada pode fazer com que a proteína perca sua funcionalidade.

Proteínas 4 – Como as proteínas adquirem as suas estruturas terciárias (ou quaternárias)?



AULA 14

Meta da aula

Apresentar como acontece o enovelamento protéico e as proteínas que auxiliam este processo.

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

-  analisar o experimento de Anfinsen sobre enovelamento protéico;
-  caracterizar o processo de enovelamento protéico assistido.

Pré-requisitos

Para acompanhar esta aula, é fundamental ter claro o conceito de estrutura terciária de uma proteína, que vimos na Aula 13. Além disso, é interessante que você reveja, caso não se lembre, o que é mutação (Aula 11) e por que as moléculas na natureza assumem a estrutura de menor energia (Aula 12).

INTRODUÇÃO

Lembra que na aula anterior usamos o exemplo de um cadarço de sapato amarrado para mostrar como seria a estrutura terciária de uma proteína? Pois bem, continuemos usando o cadarço por analogia. Concorde que um cadarço não “se amarra” sozinho? Para que ele forme um laço, existe um agente atuando: a sua mão, que dobra o cadarço, passa um lado por cima do outro e o amarra.



Figura 14.1: O dobramento de um laço pode ser uma boa analogia à formação da estrutura terciária de uma proteína.

Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/730972>

E na célula, como acontece? Será que existe uma “mão”, algum elemento que auxilie este processo, ou será que as proteínas se enovelam sozinhas? Caso exista, ou quando for necessário, quem desempenha a função da mão que ajuda as proteínas a se enovelarem?

É sobre como as proteínas adquirem as suas estruturas que você aprenderá na aula de hoje!

ENOVELAMENTO PROTÉICO: O EXPERIMENTO DE ANFINSSEN

Hoje vamos propor uma estratégia diferente para você aprender sobre enovelamento protéico. Você irá, passo a passo, redescobrir este processo, seguindo os procedimentos experimentais que fez Christian Anfinsen (veja o box sobre ele mais adiante) para entender como as proteínas se enovelam dentro de uma célula. Isso será como uma grande atividade. Daremos os passos e, ao final, você terá que chegar a uma conclusão. Vamos lá?!

Primeiras informações

Pesquisador: Christian Anfinsen.

Época: década de 1960.

Pergunta a que queria responder: como as proteínas se enovelam dentro de uma célula?

Proteína que usou para seus estudos: *ribonuclease A*, uma enzima que quebra o RNA em **RIBONUCLEOTÍDEOS**. Esta enzima é um monômero, isto é, possui apenas uma subunidade, com quatro pontes de enxofre que ajudam a manter a sua estrutura terciária mais rígida. Em condições adequadas de pH e na ausência de agentes perturbadores da estrutura de proteínas, a ribonuclease se encontra no **ESTADO NATIVO (N)** e apresenta atividade enzimática.

Quem foi Christian Anfinsen?

Christian Anfinsen tem um currículo científico admirável. Este pesquisador nasceu em 1916 nos Estados Unidos e, com 23 anos, já era Mestre em Química Orgânica. Seu doutorado, no entanto, foi em Bioquímica, concluído em Harvard, onde ele trabalhou durante muitos anos, antes de ir para o NIH (um dos centros de pesquisa em saúde mais respeitados do mundo).

No começo de sua carreira, Anfinsen desenvolveu um método para marcar proteínas recém-sintetizadas. Isso permitiu a outros pesquisadores, pouco tempo depois, descobrir que as proteínas começavam a ser sintetizadas pela extremidade amino, além de conhecer quanto tempo demorava para incorporar cada aminoácido à molécula.



RIBONUCLEOTÍDEOS

São as unidades formadoras do RNA (uracila, citosina, guanina, adenina).

A ribonuclease é capaz de quebrar uma molécula de RNA em seus constituintes menores, isto é, em ribonucleotídeos, destruindo a molécula de RNA original.

ESTADO NATIVO

É o estado natural das proteínas no qual suas estruturas secundária, terciária e quaternária (se houver) se encontram íntegras. Neste estado, elas estão aptas a desempenhar suas funções.

URÉIA E β -MERCAPTOETANOL

São agentes desnaturantes, ou seja, capazes de perturbar o estado nativo das proteínas. Os agentes desnaturantes podem ser de natureza química (pHs ácidos ou básicos extremos, uréia ou β -mercaptoetanol), ou física (temperatura ou pressão). Não se sabe muito bem como a uréia atua. Especula-se que ela possa aumentar a solubilidade em água de alguns trechos da proteína. Já o β -mercaptoetanol funciona reduzindo as pontes dissulfeto e, portanto, separando os resíduos de cisteína que se ligaram desta maneira.

ESTADO DESENOVELADO OU DESNATURADO (D)

É o estado das proteínas quando parte ou a totalidade de sua estrutura foi perdida, por exemplo, pela ação de agentes desnaturantes, como a uréia. Quando são sintetizadas nos ribossomas, as proteínas também se encontram no estado desnaturado e tendem a passar para o estado nativo em curto tempo.

Em seguida, Anfinsen começou a se dedicar ao estudo das relações entre seqüência, estrutura e função de cada proteína. Foi nessa época que ele realizou as descobertas que você está estudando nesta aula, as quais deram a este pesquisador o Prêmio Nobel de Química em 1972. Atualmente, ele continua estudando estrutura de proteínas, agora em parceria com um importante centro de estudos: o MIT (Massachusetts Institute of Technology).

1º passo do experimento

Para começar a estudar a ribonuclease, Anfinsen usou dois agentes que perturbam drasticamente a estrutura dessas moléculas: a **URÉIA** e o **β -MERCAPTOETANOL**.

Ao fazer isso, ele desenovelou a ribonuclease, deixando-a em um estado muito parecido com aquele no qual ela se encontrava quando saiu do ribossoma, após sua síntese dentro da célula, ou seja, o **ESTADO DESENOVELADO** ainda sem estrutura e função (**Figura 14.2**). Neste estado, as proteínas não são capazes de exercer suas funções. Ou seja, desenovelada, a ribonuclease não é capaz de quebrar moléculas de RNA!

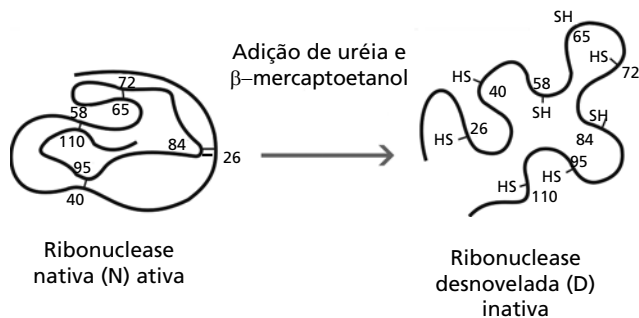


Figura 14.2: Desnaturação de uma proteína. A ribonuclease, proteína utilizada para estudos sobre enovelamento por Christian Anfinsen, foi colocada em um meio com uréia e β -mercaptoetanol. Estas duas moléculas são agentes desnaturantes e fizeram com que a ribonuclease perdesse sua estrutura nativa, assim como sua função.

2º passo do experimento

Qual foi, então, o próximo passo de Anfinsen? Para verificar se a proteína era capaz de se enovelar sozinha novamente, ele precisava retirar de perto dela os agentes perturbadores de estrutura. Em laboratório, um procedimento que pode ser utilizado nestes casos é a diálise.

Na diálise, a proteína é colocada dentro de um saco de diálise, que possui poros muito pequenos. Este é colocado dentro de um compartimento com bastante líquido (um tampão, para que não haja variações de pH no meio), que entra e sai do saco de diálise livremente.

Isto faz com que a proteína seja lavada e que os agentes perturbadores sejam **DILUÍDOS** por todo o líquido do compartimento onde está o saco de diálise (incluindo o interior do saco).

Pense um pouco: por que será que as proteínas não saem do saco de diálise e os agentes perturbadores de estrutura saem?

Os poros do saco de diálise são muito pequenos e conseguem reter dentro dele a proteína; no entanto, os agentes perturbadores são moléculas muito menores do que a ribonuclease. Isso faz com que, na lavagem, somente a uréia e o β -mercaptoetanol passem para fora do saco.

Após várias horas de lavagem e várias trocas de tampão, a uréia e o β -mercaptoetanol já foram tão diluídos que sua concentração é insignificante e podemos considerar que não estão mais em contato com a enzima (**Figura 14.3**).

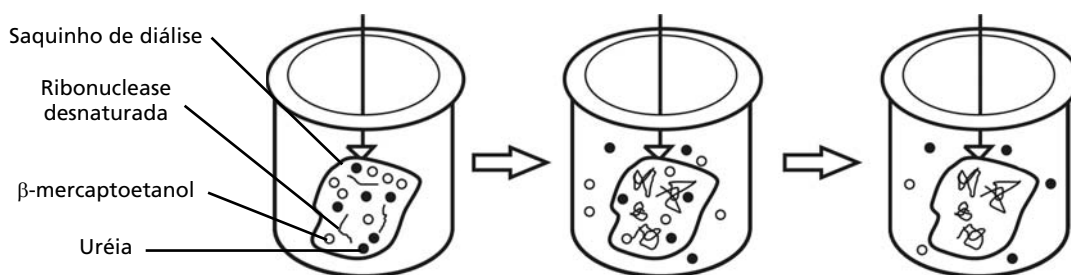


Figura 14.3: Dialisando uma proteína. A ribonuclease foi colocada em um saco de diálise que, em seguida, foi colocado em um recipiente contendo tampão. Os poros do saco de diálise são de tal tamanho que permitem a saída dos agentes perturbadores, mas não da proteína. Depois de muitas horas, os agentes perturbadores passaram para o tampão, e a proteína ficou sozinha no saco de diálise.

Agora que a proteína está sem os agentes perturbadores de estrutura, como será que ela está: enovelada ou desenovelada? Esta pergunta levou Anfinsen ao seu terceiro passo experimental...

DILUIÇÃO

Já fez suco de caju alguma vez? Quando você faz essa ação tão corriqueira nem se dá conta de que está fazendo uma diluição: na garrafa, o suco de caju está concentrado; quando você coloca água, está efetuando a diluição da polpa concentrada. Diluição, portanto, é a ação de diminuir a concentração de alguma coisa, quer de um suco concentrado, quer de um agente perturbador de estrutura!

3º passo do experimento

“Como será que se encontra a ribonuclease?” foi a pergunta que Anfinsen se fez.

Para respondê-la, o pesquisador efetuou um experimento para medir a atividade da ribonuclease que estava dentro do saco de diálise (após a diálise, claro!).

Anfinsen surpreendeu-se, pois observou que ela apresentava atividade quase idêntica à da proteína que não tinha sido tratada com uréia e β -mercaptoetanol.

Agora, faça a Atividade 1, pois ela é fundamental para continuarmos nossa aula!

ATIVIDADE



1. Tirando conclusões a partir de dados experimentais

Até agora, você viu com detalhes os três passos principais do experimento realizado por um importante pesquisador da área do enovelamento protéico. Veja um resumo, só para recapitular:

1º passo: provocou a perda da estrutura terciária da ribonuclease pela ação de agentes desnaturantes;

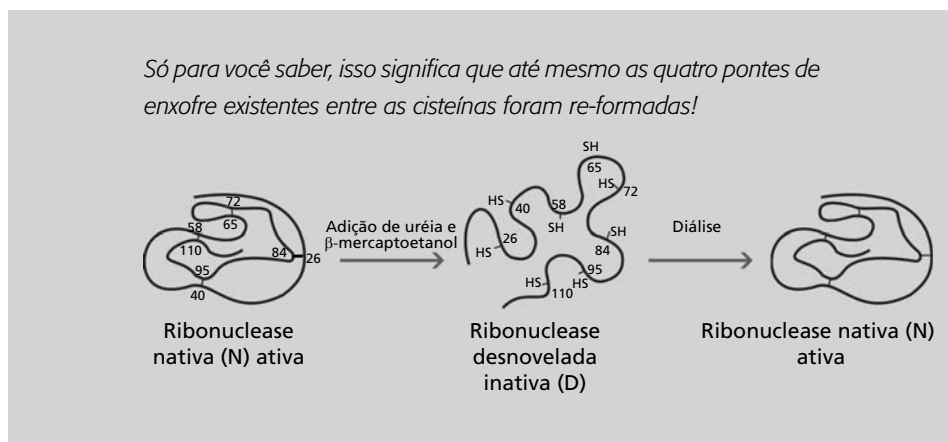
2º passo: efetuou uma diálise para livrar a ribonuclease do contato com os agentes perturbadores de estrutura;

3º passo: mediu a capacidade da ribonuclease (que passou pelos passos 1 e 2) realizar sua função e viu que ela era capaz.

Analizando todos os dados obtidos, a que conclusão você acha que ele chegou sobre o processo de enovelamento protéico?

RESPOSTA COMENTADA

Após estudar o experimento de Anfinsen nas páginas anteriores, você deve ter chegado à mesma conclusão que ele. Se a RNase foi capaz de assumir novamente sua estrutura terciária, ela deve ser capaz de realizar a sua função: quebrar moléculas de RNA em nucleotídeos. Os dados obtidos pelo pesquisador sugerem que a ribonuclease que estava no estado desenovelado se reenovelou sozinha, assumindo sua conformação original (nativa) dotada de função.



Generalizando, poderíamos dizer que as proteínas enovelam-se sozinhas sem a ajuda de nenhum outro fator. No experimento de Anfinsen, nada mais havia dentro do saco de diálise a não ser a própria ribonuclease, o que foi suficiente para que a proteína reassumisse sua conformação nativa e funcional. Voltando ao exemplo do cadarço do sapato, seria como se o cadarço pudesse se amarrar sozinho, sem a ajuda da mão!

Com estes experimentos bastante simples, Anfinsen chegou à seguinte conclusão: é a seqüência primária da proteína que determina sua estrutura terciária. Isso porque, se nada mais havia no saco de diálise além da ribonuclease e isso foi suficiente para ela se reenovelar, a estrutura terciária foi determinada pelas características químicas dos aminoácidos desta proteína, ou seja, sua seqüência primária (**Quadro 14.1**)! Por conseqüência, qualquer alteração na seqüência primária de uma proteína pode comprometer a sua estrutura terciária e, conseqüentemente, sua função.

Quadro 14.1: Determinação da estrutura terciária de uma proteína

Seqüência primária da proteína → Estrutura terciária → Proteína funcional



São características químicas e estruturais dos aminoácidos que fazem com que uns se aproximem ou se afastem de outros. Assim, é na seqüência primária mesmo que mora a "receita" para que uma proteína se organize espacialmente. Esta "receita" é a que origina a estrutura de menor energia, ou seja, a estrutura que será favorecida pela natureza (você viu esta explicação sobre menor energia na Aula 12).

Mas, um tempo depois, se descobriu que nem sempre é da maneira como Anfinsen descreveu que o enovelamento protéico acontece...

ENOVELAMENTO PROTÉICO ASSISTIDO

O experimento que você viu ainda agora foi o primeiro passo importante no estudo do enovelamento protéico. De fato, diversas proteínas se comportam como a ribonuclease e se enovelam sozinhas, especialmente *in vitro* (em um meio experimental).

In vivo, ou seja, dentro de uma célula, milhares de proteínas são sintetizadas a todo tempo. Em uma célula de *ESCHERICHIA COLI*, uma proteína com 100 aminoácidos pode ser sintetizada e montada em 5 segundos a 37°C.

A síntese de proteínas é determinada pela necessidade de “uso” destas moléculas para os processos fisiológicos. Estas proteínas precisam, portanto, ficar “prontas para trabalhar” imediatamente.

Entretanto, algumas proteínas não são capazes de se enovelar sozinhas e precisam de uma “mãozinha”, como o cadarço que precisa de uma mão para amarrá-lo.

Em nossas células, existem algumas proteínas denominadas chaperonas moleculares. A função das chaperonas é interagir com as proteínas que necessitam enovelar-se, auxiliando-as a assumir a conformação nativa. Elas podem ser encontradas em todos os organismos, desde bactérias até o homem.

Existem duas classes de chaperonas moleculares: as proteínas de choque térmico e as chaperoninas. Veja estas duas classes em detalhe a seguir!

Classe 1: Proteínas de choque térmico

As chaperonas desta classe são rapidamente encontradas em células que tenham sido submetidas a um **ESTRESSE TÉRMICO**. É por isto que são chamadas proteínas de choque térmico.

Além desta função, essas proteínas de choque térmico se ligam às regiões hidrofóbicas de outras proteínas que ainda estão desenoveladas, evitando que a proteína se agregue. A agregação ocorre quando proteínas desenoveladas, parcialmente enoveladas ou enoveladas incorretamente interagem umas com as outras, formando uma espécie de aglomerado

ESCHERICHIA COLI

É uma espécie de bactéria, bastante utilizada como modelo experimental por ser de fácil manipulação, replicação e crescimento em laboratório.

ESTRESSE TÉRMICO

É o que ocorre a células, em cultura, expostas a uma temperatura mais elevada em relação àquela que, em geral, elas estão acostumadas a estar e que necessitam para crescer.

dentro da célula (Figura 14.4). Como você pode imaginar, este aglomerado não é desejável, já que a proteína que nele se encontra não pode desempenhar sua função. A agregação de proteínas é um tema muito importante nos dias de hoje, sendo a causa de várias doenças como a da “vaca louca” e a doença de Alzheimer, por exemplo, que serão tratadas em mais detalhes na Aula 17.

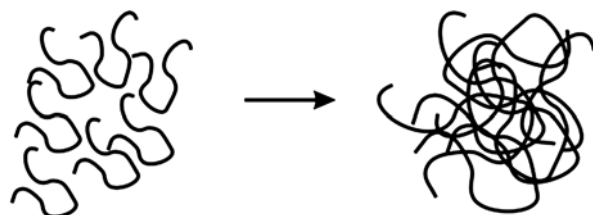


Figura 14.4: Agregação proteica. Diversas cópias de uma mesma proteína recém-sintetizadas e não enoveladas corretamente tendem a formar aglomerados no interior da célula, que são chamados de agregados protéicos. Os agregados são indesejáveis pois estão concentrando diversas cópias de uma proteína, que não está exercendo sua função; além disso, os aglomerados podem atrapalhar fisicamente o bom funcionamento da célula.

Veja, na Figura 14.5, como as chaperonas moleculares auxiliam o enovelamento protéico de algumas proteínas:

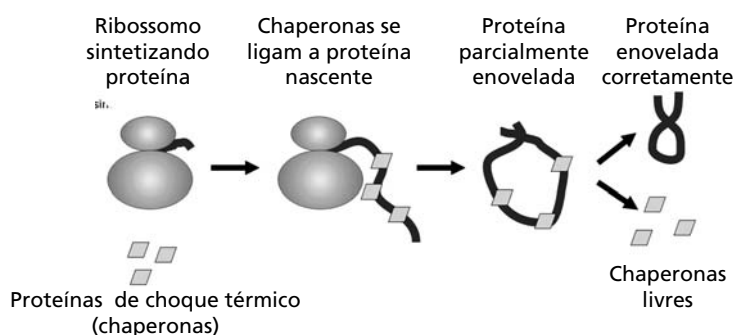


Figura 14.5: Atuação das chaperonas moleculares – proteínas de choque térmico – no enovelamento correto de uma proteína. As chaperonas se ligam a uma cadeia polipeptídica durante a síntese. Quando a seqüência primária já foi toda sintetizada, as chaperonas induzem esta cadeia a um estado parcialmente enovelado; em seguida, se dissociam da proteína recém-sintetizada, que assume sua conformação terciária completamente enovelada.

No citoplasma da célula, enquanto uma proteína está sendo sintetizada associada ao ribossomo, as chaperonas se ligam à cadeia nascente. Uma vez que a síntese se completou e a proteína se soltou do ribossomo, as chaperonas a induzem a um estado parcialmente enovelado. É como se as proteínas precisassem apenas de uma “mãozinha” para adquirir suas estruturas terciárias. Uma vez que a proteína recém-sintetizada chega a este estado parcialmente enovelado, as chaperonas se dissociam da cadeia polipeptídica, que termina seu enovelamento sozinha, adquirindo a sua estrutura funcional (ou seja, corretamente enovelada).

Esta mesma classe de chaperonas também está envolvida na manutenção de determinadas proteínas no estado desenovelado, para que elas possam ser transportadas para o interior das organelas. Neste processo, as chaperonas se grudam às proteínas assim que elas são liberadas dos ribossomas, mantendo-as esticadas e sem estrutura até que elas cheguem à sua organela-alvo onde, então, se enovelam.

Classe 2: Chaperoninas

As chaperoninas (**Figura 14.6**) são proteínas complexas que ajudam no enovelamento das proteínas que não são capazes de se enovelar sozinhas nem com a ajuda das proteínas de choque térmico.



Figura 14.6: Representação de uma chaperonina bastante conhecida, a GroEL. Esta chaperonina é encontrada em bactérias e tem seu mecanismo de atuação completamente descrito.

Elas funcionam como uma espécie de barril que se abre permitindo a entrada do peptídeo desenovelado, fechando-se em seguida. Quando fechada, cria um ambiente livre de água, permitindo que os resíduos de aminoácidos apolares da proteína que será enovelada se encontrem e formem o miolo ou o cerne da estrutura da proteína nativa (Figura 14.7).

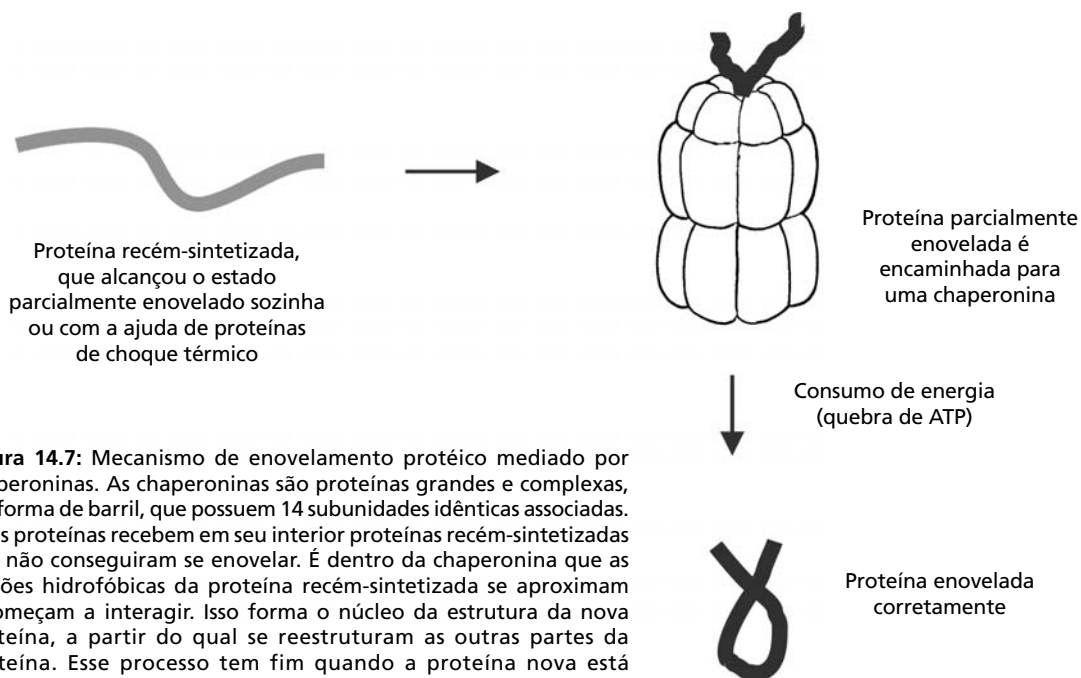


Figura 14.7: Mecanismo de enovelamento proteico mediado por chaperoninas. As chaperoninas são proteínas grandes e complexas, em forma de barril, que possuem 14 subunidades idênticas associadas. Estas proteínas recebem em seu interior proteínas recém-sintetizadas que não conseguiram se enovelar. É dentro da chaperonina que as regiões hidrofóbicas da proteína recém-sintetizada se aproximam e começam a interagir. Isso forma o núcleo da estrutura da nova proteína, a partir do qual se reestruturam as outras partes da proteína. Esse processo tem fim quando a proteína nova está completamente enovelada.

ATIVIDADE



2. Como acontece?

Um cientista está diante do seguinte impasse:

Uma enzima sintetizada em seu laboratório apresentou uma atividade (capacidade de catalisar uma reação) muito baixa em relação à enzima *in vivo*. As duas enzimas foram analisadas e apresentaram exatamente a mesma composição de aminoácidos.

a. Com base no que você estudou até agora nesta aula, qual é uma possível explicação para a diferença de atividade entre a enzima sintetizada em laboratório e a *in vivo*?

b. Quais seriam duas possíveis estratégias para resolver o problema da falta de atividade da enzima? Como o cientista poderia proceder para fazer com que a proteína sintetizada em laboratório tivesse atividade normal? Descreva os mecanismos bioquímicos envolvidos em cada uma delas.

RESPOSTAS COMENTADAS

a. Você já aprendeu que a seqüência primária é que determina a estrutura da proteína e, conseqüentemente, sua função. Considerando que a seqüência das duas proteínas (a sintetizada em laboratório e a in vivo) é exatamente a mesma, provavelmente a falta de atividade se deve a um enovelamento incorreto da proteína sintetizada no laboratório. Este enovelamento incorreto deve estar relacionado ao fato de que a proteína em questão não é capaz de se enovelar sozinha, precisando do auxílio de chaperonas e/ou chaperoninas para fazê-lo.

b. Se o problema de atividade é derivado de um enovelamento incorreto, duas estratégias para resolver isso podem ser sintetizar a proteína (1) na presença de chaperonas ou (2) de chaperoninas. No primeiro caso, as chaperonas se ligam à proteína enquanto ela está sendo sintetizada e auxiliam na formação de ligações que conferem à proteína um enovelamento parcial correto, que é concluído quando estas chaperonas se desligam da cadeia polipeptídica em estruturação. No segundo, a proteína recém-sintetizada é abrigada no interior da chaperonina, onde regiões hidrofóbicas entram em contato e formam o núcleo da proteína em formação. A partir deste núcleo, todo o resto da proteína se estrutura, e ela adquire sua conformação nativa correta.

Na classe das chaperoninas, encontramos as proteínas denominadas dissulfeto isomerase. Elas ajudam a formar as pontes de enxofre de proteínas que estão se enovelando e que possuem estas pontes na sua conformação nativa (Figura 14.8).

No caso da ribonuclease que vimos na primeira parte desta aula, há quatro pontes de enxofre, e estas se formam sozinhas, conforme Anfinsen nos mostrou em seus experimentos. Entretanto, nem todas as proteínas são capazes de fazer (ou refazer) as suas pontes dissulfeto como a ribonuclease. Muitas delas precisam da proteína dissulfeto isomerase para que os pares de cisteína corretos se encontrem e formem as pontes.

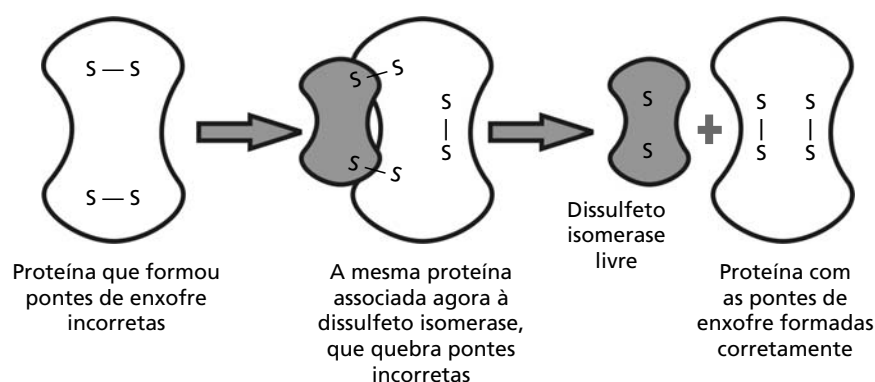


Figura 14.8: Esquema do mecanismo de ação da enzima dissulfeto isomerase. Observe que ela é capaz de desfazer as pontes de enxofre erradas ao fazer pontes de enxofre com a proteína de interesse. Desta forma, a dissulfeto isomerase deixa livre as cisteínas que devem fazer as pontes de enxofre corretas, presentes na proteína nativa.

Outra proteína dentro da classe das chaperoninas é a peptidil prolil isomerase. Esta chaperonina especializou-se na conversão de um isômero (veja o box “O que são isômeros?”) da ligação peptídica da prolina em outro; estes isômeros podem existir na forma cis ou trans. Falando grego? Calma, você já vai entender!

O que são isômeros?

Isômeros são moléculas que possuem a mesma fórmula molecular (isto é, a mesma quantidade de cada átomo que as compõem), mas que apresentam pequenas diferenças na organização destes átomos.

Você aprendeu na Aula 8 que os aminoácidos constituintes de proteínas são sempre na forma L, lembra? Esse L vem de levógero (derivado de “lado esquerdo”). Um aminoácido L é um estereoisômero de um aminoácido D (destrógero, “lado direito”).

Agora, você precisa saber o que significa *isomeria cis-trans*. Cis e trans são os nomes que se dão a moléculas que são isômeras de acordo com um plano de referência. Assim, moléculas cis tendem a apresentar seus grupamentos voltados para o mesmo lado do plano e moléculas trans, grupamentos voltados para lados opostos. Você entenderá melhor ainda quando vir a **Figura 14.9**, que vem logo a seguir.

Os resíduos de prolina (chamados de prolil) podem existir apresentando uma pequena variação na sua estrutura. Veja a **Figura 14.9**:

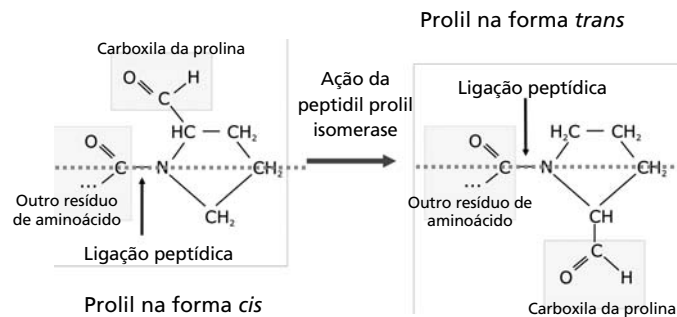


Figura 14.9: Ação da peptidil prolil isomerase. Esta enzima converte os resíduos de prolil (ou seja, as prolinas que estão compondo uma cadeia de proteína e que, portanto, já fizeram suas ligações peptídicas) da forma cis para a forma trans, que é a forma que favorece a formação das estruturas terciárias. Considere a linha pontilhada como eixo de referência. Agora, imagine se você pudesse – mantendo o eixo de referência – virar o prolil para baixo. A carboxila que estava em cima fica para baixo, e o oposto acontece com os carbonos (CH₂ – que “sobem”). É assim que atua a peptidil prolil isomerase.

Os resíduos de prolina que estão na forma cis não favorecem a formação da estrutura terciária da proteína e precisam ser convertidos na forma trans. Com frequência, este é o passo considerado limitante no enovelamento de proteínas.

Tal conversão é muito lenta, necessitando de uma “ajudinha”. Assim, a prolil isomerase torna mais acelerada esta reação, permitindo que a proteína se enovele rapidamente.

Tão importante quanto é complicado o seu nome...

Existem diversas peptidil prolil isomerases capazes de atuar em qualquer prolil cis ligado a uma cadeia polipeptídica. Existem também enzimas destas muito específicas, como é o caso de uma presente nas moscas, chamada NinaA.



Fonte: www.sxc.hu/photo/462292

A NinaA participa do enovelamento da proteína Opsina, uma proteína de membrana dos olhos da mosca, que é capaz de absorver luz e desencadear a resposta visual. Moscas com mutações na NinaA não são capazes de apresentar uma resposta visual apropriada.

CONCLUSÃO

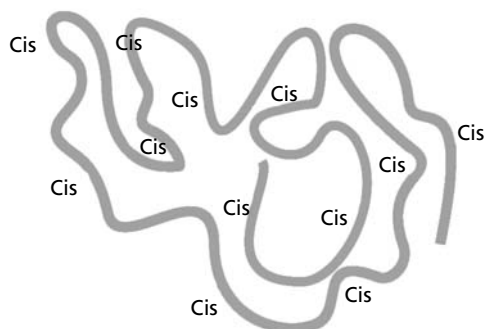
Quando a gente come um bife ou mesmo quando olha para as próprias mãos, onde existem milhares de proteínas, nem imagina a quantidade de processos que a célula teve que fazer para sintetizá-las e montá-las. É o funcionamento perfeito desta linha de montagem que permite o bom funcionamento dos organismos.

ATIVIDADE FINAL

Caracterizando o enovelamento de uma proteína



Um estudante de doutorado está tentando estudar o enovelamento de uma proteína de bactéria que ele havia purificado. Veja um esquema desta proteína:



No entanto, todas as vezes que ele dialisava a proteína para retirar dela os agentes desnaturantes, ele observava que a proteína agregava.

Com base no que você aprendeu até agora nesta aula e nas informações desta atividade (especialmente no esquema da proteína), como você aconselharia o

estudante a evitar a agregação da proteína de estudo? Qual o fundamento científico da sua sugestão?

RESPOSTA COMENTADA

Se você olhar com atenção a estrutura da proteína de estudo do doutorando, verá que esta molécula é bastante rica em resíduos de cisteína que podem formar várias pontes dissulfeto. Já que ele observou que a sua proteína de estudo agrega com facilidade, o estudante poderia dialisar sua amostra (para retirar os agentes redutores) incluindo na solução chaperoninas do tipo dissulfeto isomerase. Por quê? Porque esta enzima é capaz de se ligar a proteínas que formaram pontes dissulfeto incorretas e que, portanto, estão enoveladas incorretamente (o que as faria agregar). A dissulfeto isomerase corrige estas pontes “erradas” e auxilia a formação de pontes de enxofre entre as cisteínas corretas, proporcionando à proteína um enovelamento correto.

RESUMO

O enovelamento protéico é o processo de formação da estrutura terciária de uma proteína. Dependendo da proteína, o enovelamento pode ser espontâneo ou assistido por outras proteínas.

O enovelamento espontâneo foi descoberto por Christian Anfinsen, em um dos experimentos mais conhecidos da história do enovelamento protéico. Este pesquisador descobriu que uma proteína submetida a agentes desnaturantes e, em seguida, retirada da presença destes perdia e recuperava sua estrutura terciária, sendo capaz de executar perfeitamente sua função.

Algumas proteínas, no entanto, necessitam de auxílio de outras proteínas para adquirirem suas estruturas corretas. São duas as classes de proteínas que participam como auxiliares no enovelamento: as chaperonas e as chaperoninas. No grupo das chaperonas, se destacam as proteínas de choque térmico, que se ligam a uma proteína nascente e ajudam a formação da estrutura nativa desta. Já no grupo das chaperoninas, estão proteínas em forma de barril que abrigam em seu interior a porção hidrofóbica da proteína recém-sintetizada, permitindo que estas regiões se aproximem e interajam, formando o núcleo da estrutura terciária.

Também no grupo das chaperoninas, há outras duas proteínas: a dissulfeto isomerase, que corrige pontes dissulfeto formadas incorretamente, e a peptidil prolil isomerase, que converte prolil cis (não favorável à formação da estrutura nativa) em prolil trans (favorável).

INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

De acordo com as estruturas que as proteínas apresentam, elas podem ser divididas em duas categorias: as fibrosas e as globulares. Na aula que vem, você começará a aprender sobre o primeiro grupo, que compreende, por exemplo, a proteína que compõe nossos fios de cabelo... Até lá!

AULA 15

Você já ouviu falar em proteínas fibrosas?

Meta da aula

Apresentar o que são proteínas fibrosas e suas características estruturais.

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de caracterizar as seguintes proteínas fibrosas:

- 1 α -queratina;
- 2 colágeno;
- 3 fibroína da seda.

Pré-requisitos

Vai ser mais fácil estudar esta aula se você voltar à Aula 12 e revisar a formação de hélices. Foque em quais aminoácidos não são bons formadores de hélices e o porquê disso. Veja, nessa mesma aula, o que são fitas β antiparalelas.

INTRODUÇÃO

Há cinco aulas você vem, pouco a pouco, construindo seu conhecimento sobre uma classe de biomoléculas fundamental à existência da vida: as proteínas. Como você já viu, estas moléculas podem apresentar diferentes composições e, por conta disso, as mais variadas estruturas. Entre todas as formas que uma proteína pode assumir, podemos identificar duas grandes categorias: as fibrosas (assunto da aula de hoje) e as globulares (arredondadas, assunto da aula que vem).

Essa classificação em dois grandes grupos só pode ser feita depois que um grande número de proteínas teve suas estruturas terciárias reveladas, graças à utilização de dois métodos: difração de raios X e ressonância magnética nuclear (que você aprendeu na Aula 13). Essas técnicas, como você já viu, permitem que tiremos “retratos” microscópicos das proteínas revelando sua forma, topologia, reentrâncias etc.

Na aula de hoje, você vai estudar as características estruturais de um destes dois grupos de proteínas, o das proteínas fibrosas. Acredite ou não, pode ser muito mais interessante do que você imagina...

AS PROTEÍNAS FIBROSAS

Antes de mais nada, você sabe o que é uma fibra? Segundo o *Dicionário Houaiss da Língua Portuguesa*; fibra “é qualquer estrutura filamentososa, geralmente sob a forma de feixe, encontrada nos tecidos animais e vegetais ou em algumas substâncias minerais”.

Uma proteína fibrosa, portanto, é uma proteína em forma de filamento, mais comprida do que larga. Uma proteína fibrosa se associa a outras unidades idênticas a ela e forma um feixe. Difícil de visualizar? Pense em um fio qualquer. Se você tivesse diversas unidades desse fio e as agrupasse, colocando um fio paralelo a outro, teria um feixe! Da mesma maneira, há proteínas fibrosas que se organizam de tal maneira que formam feixes. Veja a **Figura 15.1**:

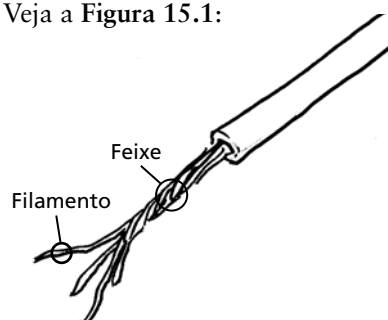


Figura 15.1: Exemplo de filamentos que se associam, formando um feixe ou fibra.

Quer um exemplo real? Que tal descobrir como é a estrutura de um fio de cabelo seu?

O QUE TÊM A VER PROTEÍNA E O MEU CABELO?

Você já deve ter ouvido falar no termo queratina, provavelmente por causa de um tratamento capilar que vem sendo bastante divulgado. Mas você sabe o que é queratina?

A queratina (que daqui para a frente chamaremos α -queratina) é uma proteína fibrosa encontrada nos cabelos e pêlos, nas unhas, na lã, nos chifres, nas garras, nas penas e na maior parte da camada superficial da pele dos animais. Essa proteína apresenta grande resistência, conforme poderíamos imaginar, já que está presente em estruturas tão duras quanto um chifre, por exemplo.

A resistência da α -queratina vem das suas características estruturais: ela é formada por α -hélices que se enrolam umas sobre as outras formando uma super-hélice (Figura 15.2). É exatamente essa super-hélice que faz a α -queratina ser muito forte e resistente.

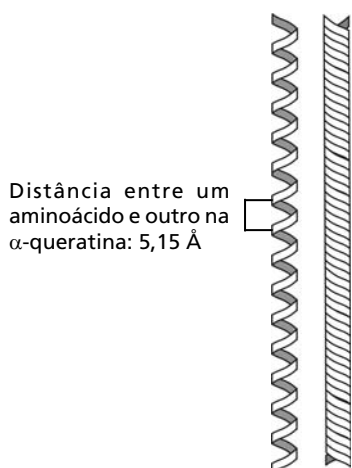


Figura 15.2: A α -queratina é uma proteína fibrosa cuja estrutura é rica em α -hélices com aminoácidos mais próximos uns dos outros do que nas demais proteínas (distância de 0,2 Å menor). Estas α -hélices de um filamento de α -queratina se entrelaçam com as α -hélices de outro filamento, formando um feixe bastante resistente, denominado super-hélice. É a super-hélice que constitui nossos fios de cabelo, nossas unhas, os chifres de alguns animais, a lã de outros.

Diferentemente das α -hélices, as hélices da α -queratina apresentam cada volta com tamanho de 5,15 a 5,2 Å, em vez de 5,4 Å das hélices tradicionais. Isso significa que a estrutura toda é mais compacta, o que lhe confere maior resistência.

Outra característica da estrutura da α -queratina é que as hélices são entrelaçadas de tal maneira que a superfície de cada uma delas, que toca a hélice adjacente, é composta por aminoácidos hidrofóbicos como alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina e fenilalanina (Figura 15.3). Esse contato possibilita a formação de interações hidrofóbicas entre esses aminoácidos, ajudando a estabilizar a estrutura da super-hélice.

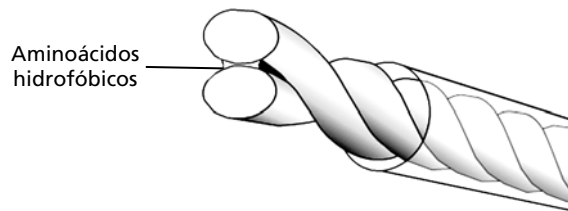


Figura 15.3: Imagem de duas hélices entrelaçadas da α -queratina. As superfícies das hélices que estão em contato são compostas por aminoácidos hidrofóbicos.

Você pode estar se perguntando: “Se os fios de cabelo de todas as pessoas são formados por essa tal de α -queratina, como é que uns têm cabelos enrolados e outros, lisos?” Essa é uma excelente pergunta, cuja resposta vem de um conceito que você aprendeu na primeira aula sobre proteínas: as pontes dissulfeto. Vamos por partes...

As α -queratinas podem apresentar uma grande quantidade de cisteínas e, por isso, serem capazes de formar pontes de enxofre ou pontes dissulfeto. Essa interação é mais uma força envolvida na manutenção da estrutura da super-hélice dessas proteínas e confere à estrutura das queratinas alta resistência.

Como essas interações interferem na forma do cabelo? Muito simples: a maneira como as pontes dissulfeto são formadas (quais resíduos de cisteína estão envolvidos) é que determina. Assim, se tivermos cisteínas pareadas formando pontes de enxofre, o cabelo apresenta aspecto mais liso. Já se são formadas entre resíduos mais afastados, o cabelo assume aspecto ondulado (veja a Figura 15.4). Esse, inclusive, é o princípio do **PERMANENTE** feito por cabeleireiros naquelas que desejam ter cabelos cacheados (veja o boxe Algumas coisas continuam as mesmas, mas os meus cabelos...).

PERMANENTE

Esta definição é para os rapazes (uma vez que todas as moças, provavelmente, sabem do que se trata). Permanente é uma técnica capilar que faz com que cabelos lisos se tornem cacheados. Esse tratamento, embora chamado de permanente, não o é de fato, já que à medida que os cabelos vão crescendo o padrão de pontes de enxofre estabelecido é o natural da pessoa e não o novo, produzido artificialmente no cabeleireiro.

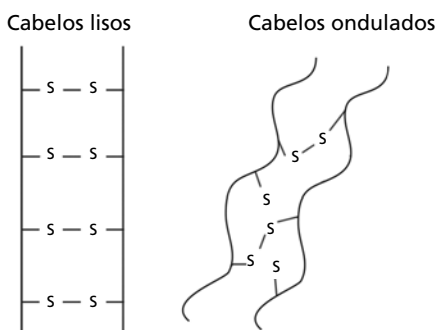
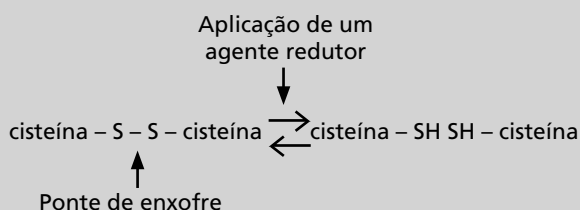


Figura 15.4: Cabelos lisos e cabelos ondulados: uma questão de pontes de enxofre. A proteína que constitui os fios de cabelo – a α -queratina – é bastante rica em cisteínas, as quais formam pontes dissulfeto. Dependendo da maneira como essas pontes dissulfeto forem formadas, teremos cabelos lisos ou ondulados.

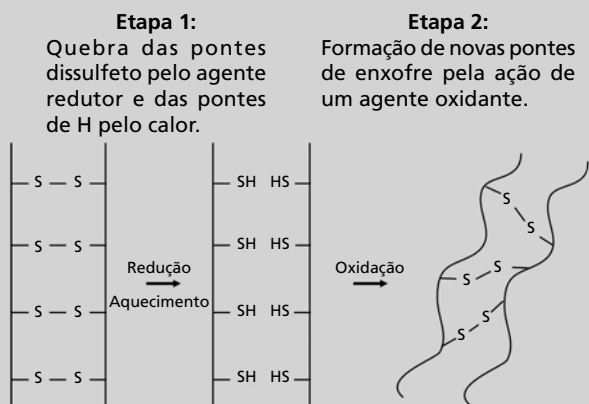
Algumas coisas continuam as mesmas, mas os meus cabelos...

Algumas pessoas que têm cabelos lisos decidem que querem ter cabelos cacheados. A solução para o problema? Ir até um salão de beleza que aplique a técnica do permanente. Como funciona? Veja a seguir: Primeiro, enrolamos os cabelos sobre um molde que lhes dará sua forma ondulada futura. Em seguida, adicionamos um produto que funciona como agente redutor das pontes de enxofre, isto é, o produto reduz as ligações S-S desfazendo-as entre duas cisteínas, deixando-as livres e reduzidas.



Como não são apenas as pontes dissulfeto responsáveis pela estrutura da super-hélice dos fios, o cabelo deve ser aquecido para fazer com que as pontes de hidrogênio existentes entre as duas hélices também sejam rompidas. O agente redutor, associado ao calor, faz com que as hélices se desfaçam.

Depois de um determinado tempo, o produto redutor é removido dos cabelos e um outro produto, agora oxidante, é aplicado. Este produto vai fazer com que novas pontes de enxofre se formem entre as duas hélices da α -queratina. As pontes de enxofre resultantes desse processo não são as mesmas que as anteriores, e os cabelos ficam ondulados (veja a figura a seguir).



A seqüência a seguir resume os passos do processo:

1. Enrolar o cabelo com molde.
2. Adicionar agente redutor das pontes de enxofre para quebrar as pontes S-S das cisteínas.
3. Aquecer o cabelo para romper as pontes de hidrogênio que existem nas hélices.
4. Lavar o cabelo para retirar o agente redutor.
5. Aplicar outro produto, o agente oxidante, que vai permitir que se formem novas pontes de enxofre, diferentes daquelas que foram desfeitas no passo 2. Essas pontes de enxofre darão o aspecto ondulado ao cabelo, já que espiralizam a α -queratina.

Surpreso com o fato de seu cabelo ser composto por uma proteína? Pois saiba que as células da sua pele também são impregnadas por essa mesma molécula. Isso é importante porque a queratina é uma proteína que funciona impermeabilizando a pele para que não percamos água para o ambiente sem necessidade. Para ver se você aprendeu os conceitos relacionados à estrutura dessa proteína tão importante, faça a Atividade 1.

ATIVIDADE



1. O que faço com meu casaco?

Leia o depoimento a seguir:

“Coloquei meu suéter de lã novinho para lavar na máquina e, em seguida, para secar na secadora de roupas. Ele encolheu uns três tamanhos e, agora, serve no meu filho de sete anos, e não mais em mim!”

a. Sabendo que a lã é composta de α -queratina, como você explica o fato de o suéter ter encolhido depois de exposto ao calor (secadora)?

b. As hélices que formam a α -queratina possuem um lado que é formado por aminoácidos apolares (hidrofóbicos) e outro que concentra aminoácidos polares (hidrofílicos). Lembrando que tais hélices formam uma super-hélice e que, portanto, cada hélice faz contato uma com a outra, como podemos explicar essa distribuição de aminoácidos nas hélices da queratina?

RESPOSTAS COMENTADAS

a. Como você viu nesta aula, a estrutura da α -queratina depende basicamente de três tipos de interação: pontes de enxofre, interações hidrofóbicas e pontes de H. As pontes de enxofre só podem ser desfeitas com um agente redutor; as pontes de H, por sua vez, se desfazem com o calor. O que aconteceu com o suéter do nosso amigo é um processo parecido com parte do processo de cachear os cabelos (permanente). Ao colocar na secadora de roupas o suéter molhado, ele o expôs a uma grande quantidade de calor, que desfez as pontes de hidrogênio da lã. Quando o suéter esfriou, as pontes de H se refizeram, mas não na conformação original, unindo partes da α -queratina que estavam mais distantes antes. Resultado: o suéter encolheu!

b. Você viu na Aula 12 que, para se constituir uma hélice, o arranjo dos aminoácidos que compõem a proteína é fundamental. Por exemplo, dois aminoácidos ácidos e negativos próximos desestabilizavam a hélice, pela repulsão entre as suas cargas. Um dos arranjos que favorecia a formação das hélices era aquele em que aminoácidos hidrofóbicos ficavam em contato. Isso porque aminoácidos desse tipo são capazes de fazer interações hidrofóbicas uns com os outros. Essas interações hidrofóbicas são mais uma força de interação que tende a estabilizar a hélice.

No caso da α -queratina, portanto, temos os aminoácidos hidrofóbicos voltados para um mesmo lado da estrutura para que, quando uma hélice for se enovelar em outra (para formar a super-hélice), esse grupo de moléculas fique em contato e possa estabelecer as interações hidrofóbicas. Essas interações, no caso da super-hélice, são fundamentais, pois conferem maior resistência à estrutura, o que é importante para a função que a proteína desempenha (compor cabelos, unhas, chifres etc.).

Outra proteína que possui estrutura fibrosa e de que você pode ter ouvido falar é o colágeno. Veja a seguir.

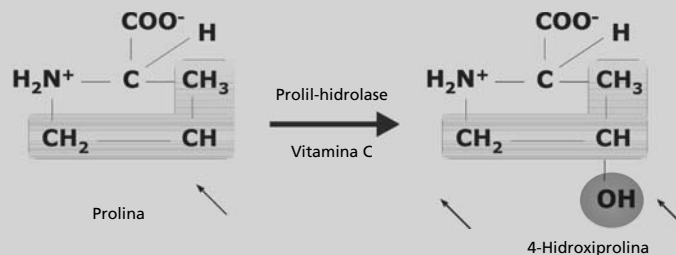
Mais hélices – o colágeno

O colágeno é a proteína mais abundante nos vertebrados. Suas fibras são fortes e insolúveis e ele está presente nos ossos, nos dentes, nas cartilagens, nos tendões, nas veias etc. Cada molécula de colágeno é constituída por três cadeias polipeptídicas na forma de hélice, porém com características diferentes das α -hélices da queratina.

A composição do colágeno é bastante peculiar e gera uma estrutura mais peculiar ainda. Quase um terço dos seus aminoácidos é composto de glicina; de 15% a 30 % são prolinas e 4-hidroxiprolinas (este último aminoácido é bastante incomum nas proteínas. Veja o boxe Um aminoácido diferente...). Está achando alguma coisa esquisita?

Um aminoácido diferente...

Como você viu na Aula 8, a hidroxiprolina origina-se da prolina, quando esta recebe um grupamento OH no carbono da posição 4.



Essa reação é promovida por uma enzima denominada prolil-hidrolase, que necessita de ácido ascórbico (vitamina C) para adicionar esse OH à prolina.

Na aula sobre vitaminas, você verá de que modo o escorbuto, doença relacionada à carência de vitamina C, afeta o colágeno. Aguarde!

Se você se lembra do que aprendeu na Aula 12, sabe que, em geral, as prolinas são más formadoras de α -hélices, por serem aminoácidos com uma estrutura muito rígida e por não possuírem H ligado ao N para fazer ponte de hidrogênio, fator indispensável à formação das α -hélices. No colágeno, entretanto, esses aminoácidos são bons formadores das hélices.

Isso acontece porque as hélices do colágeno são diferentes. Elas assumem uma conformação helicoidal voltada para a esquerda com cerca de três resíduos por volta, e não 3,6 resíduos apresentados pelas α -hélices normalmente. Nessa conformação, o oxigênio da carboxila da prolina fica orientado de tal maneira que permite a formação de uma forte ponte de hidrogênio com o grupamento amino (N--H) da glicina. Três cadeias paralelas se enrolam umas sobre as outras para formar a tripla hélice do colágeno (Figura 15.5).

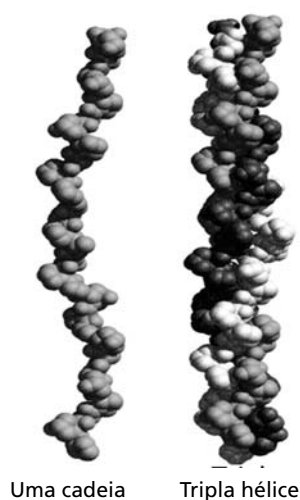


Figura 15.5: Tripla hélice do colágeno. Essa estrutura é diferente das outras α -hélices que você viu na Aula 12 por possuir, em cada volta, três aminoácidos, em vez de 3,6. A estrutura fica mais compacta e, conseqüentemente, mais resistente. Essa diminuição no tamanho da volta de cada hélice permite que um aminoácido como a prolina, que em outras condições não participa da formação de hélices, seja um dos aminoácidos mais abundantes do colágeno.

As três hélices do colágeno se enovelam de tal modo que o centro delas fica ocupado sempre por glicinas, que é o único aminoácido capaz de caber nessa estrutura compacta e apertada. Por essa razão, a cada três resíduos de aminoácidos da seqüência primária do colágeno temos sempre uma glicina (o que faz com que a quantidade de glicinas no colágeno seja tão alta).

Os resíduos de prolina e hidroxiprolina, que são mais volumosos, ficam para fora da tripla hélice e, por serem inflexíveis e rígidos, conferem resistência à molécula do colágeno. A rigidez e a resistência da prolina e da hidroxiprolina são necessárias à função do colágeno, que é formar as cartilagens, os dentes etc. Distúrbios na síntese de colágeno podem acarretar graves doenças. Para saber mais sobre isso, leia o boxe Nem sempre osso é duro de roer...

Nem sempre osso é duro de roer...

Deficiências na síntese de colágeno podem acarretar doenças graves, como é o caso da Osteogenesis imperfecta. Essa doença faz com que seu portador tenha ossos muito frágeis, pois não há colágeno fornecendo a esse tecido a resistência de que ele precisa. Assim, os ossos dessa pessoa podem se quebrar por impactos suaves ou, por vezes, espontaneamente. Podem também entortar, acredite! Para saber mais sobre essa doença, visite o site da Associação Brasileira de Osteogenesis imperfecta em <http://www.aboi.org.br/>.

Outra doença que acontece em decorrência da deficiência de colágeno é a síndrome de Ehlers-Danlos. Essa disfunção é causada por alterações na síntese de colágeno, que podem acontecer em diversos momentos, por exemplo na transcrição ou tradução incorreta do gene, na produção de hidroxiprolina etc. Existem dez tipos diferentes de síndrome de Ehlers-Danlos, e todas elas são caracterizadas pelos mesmos sintomas: alta elasticidade da pele, grande mobilidade das articulações, luxações freqüentes e equimoses (manchas na pele). Não há tratamento para a síndrome, apenas recomendações para se evitar as freqüentes luxações, como o uso de roupas acolchoadas. Se quiser saber mais, visite a página da Merck, em <http://www.manualmerck.net/?url=/artigos/%3Fid%3D295%26cn%3D1561>.

ATIVIDADE



2. Pode? E como?

Analise as informações a seguir (veja Aula 8):

“Aminoácidos essenciais são aqueles que nosso organismo não é capaz de sintetizar e que, por isso, são essenciais à nossa dieta. Os não-essenciais são aqueles para os quais dispomos de vias de síntese.”

Relação de aminoácidos essenciais e não-essenciais

Aminoácidos não-essenciais	Aminoácidos essenciais
Glicina	Leucina
Alanina	Isoleucina
Tirosina	Valina
Serina	Triptofano
Ácido aspártico	Fenilalanina
Ácido glutâmico	Treonina
Asparagina	Metionina
Glutamina	Lisina
Cisteína	Histidina
Prolina	Arginina

a. Com base nas duas informações anteriores e no que acabou de aprender nesta aula sobre colágeno, você acha que uma dieta em que a fonte majoritária de proteína seja gelatina (composta basicamente de colágeno) é suficiente para as necessidades do organismo? Por quê?

b. Observe agora mais duas informações:

Parte da composição do colágeno	
Aminoácido	Percentual
Glicina	35%
Alanina	11%
Prolina e hidroxiprolina	21%

Fonte: Adaptado de *Lehninger Principles of Biochemistry*, 2003.

“A *prolina* é má formadora de α -hélice porque possui seu átomo de nitrogênio como parte de um anel, o que impossibilita que a ligação N-C $_{\alpha}$ gire para formar uma espiral.” (Aula 12)

“A *glicina* é uma má formadora de α -hélice devido à sua grande flexibilidade. Por ser um aminoácido pequeno (o menor deles), a glicina apresenta grande mobilidade no espaço, o que desestabiliza tanto α -hélices quanto folhas β .” (Aula 12)

Considerando as informações da tabela Parte da composição do colágeno e dos trechos retirados da Aula 12, como você explica o fato de a estrutura do colágeno ser composta por uma tripla hélice?

RESPOSTA COMENTADA

a. Se você prestou bastante atenção no que dissemos na aula, deve ter mencionado em sua resposta que a gelatina **NÃO** é uma boa fonte nutricional porque possui em grande maioria aminoácidos não-essenciais (alto teor de glicinas e prolinas). O que nós precisamos ter na dieta são os aminoácidos essenciais, pois, para estes, não possuímos vias de síntese.

b. Na tabela que expomos na letra b desta atividade, mostramos que 67% do colágeno são de alaninas, glicinas e prolinas (ou hidroxiprolinas). Na Aula 12, você viu que os dois últimos aminoácidos não são bons formadores de hélices. No entanto, as hélices do colágeno são diferentes das α -hélices que você aprendeu na Aula 12. As hélices do colágeno possuem, em cada volta, apenas três aminoácidos (em vez de 3,6, como nas α -hélices). Essa diminuição do tamanho da volta faz com que as prolinas sejam posicionadas de tal maneira que o seu grupamento carboxila possa interagir com o grupamento amino de uma glicina, formando uma ponte de H. Por que uma glicina? Porque este é o único aminoácido que “cabe” no interior de uma hélice tão estreita. Você não precisava ter mencionado isso na sua resposta, mas, só para relembrar, a glicina não é uma boa formadora de hélice por ser muito flexível e acabar por desestabilizar a estrutura. No entanto, na hélice de colágeno, o pequeno espaço em que ela se encontra, associado à alta rigidez da prolina e da hidroxiprolina, faz com que suas características não “atrapalhem” a formação da hélice.

Até agora, demos dois exemplos de proteínas fibrosas presentes em vertebrados: a α -queratina e o colágeno. No entanto, essas não são as únicas proteínas fibrosas. Quer um exemplo? Veja a seguir.

O que há em comum entre a teia de uma aranha e a seda de uma roupa?

Talvez você se lembre de que, na Aula 12, já havíamos falado sobre a fibroína da seda. Naquela aula, a fibroína da seda foi mencionada para exemplificar as folhas β . Agora você vai conhecer melhor essa proteína.

A fibroína da seda é produzida por insetos (bicho-da-seda, principalmente) e aranhas. Ela é uma proteína fibrosa que constitui tanto a seda dos tecidos que utilizamos na confecção de roupas quanto a teia de aranhas. Essa proteína é formada, predominantemente, por fitas β antiparalelas. Essa estrutura é formada porque a seqüência primária da fibroína é rica em alanina e glicinas, dois aminoácidos bem pequenos, que permitem um grande empacotamento das fitas β umas contra as outras.

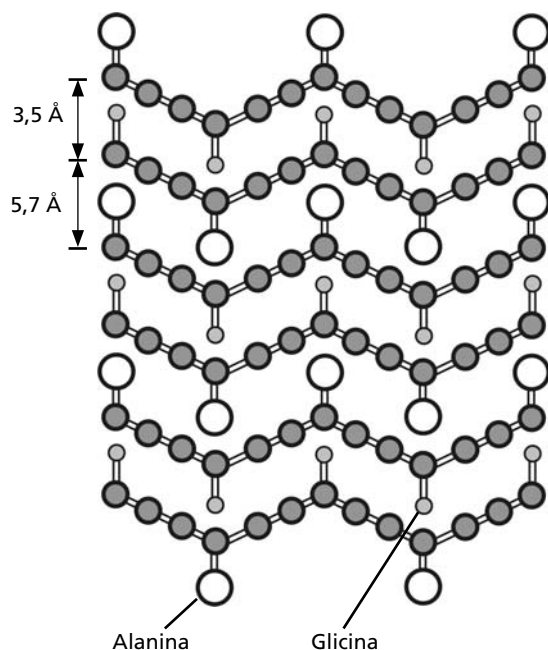


Figura 15.6: Estrutura da fibroína da seda. É constituída de folhas β antiparalelas possuindo uma repetição de seis aminoácidos ao longo de sua estrutura primária: Gli-Ser-Gli-Ala-Gli-Ala.

A estrutura terciária da fibroína é estabilizada pelas pontes de hidrogênio e pelo contato entre resíduos apolares. A seda não pode ser estendida porque as fitas β já estão muito esticadas. Entretanto, isso não quer dizer que ela não seja uma estrutura flexível. Isso porque a folha β é mantida por **LIGAÇÕES FRACAS** (pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas) e não por **LIGAÇÕES COVALENTES** como as α -queratina (pontes de enxofre).

A fibroína é uma proteína-modelo para o estudo de estrutura terciária de proteínas ricas em folhas β antiparalelas. Além disso, é também um dos alvos de estudo mais relevantes quando se trata de aranhas (o outro fica por conta dos poderosos venenos que estes seres são capazes de produzir) e faz parte do fascínio que estes animais causam.

LIGAÇÕES FRACAS X LIGAÇÕES COVALENTES

Ligações fracas são as pontes de hidrogênio, interações iônicas e interações hidrofóbicas. Esse tipo de ligação pode ser quebrado pelo calor ou por agentes desnaturantes, como a uréia. Já as ligações covalentes são ligações fortes, ou seja, que precisam de uma quantidade de energia alta para serem quebradas. Para você ter uma idéia, uma ligação covalente pode requerer dez vezes mais energia do que uma ponte de hidrogênio, para ser desfeita.

Acha que estamos exagerando? Então, por que será que um dos mais aclamados super-heróis foi originado a partir da picada de uma aranha, que lhe conferiu a capacidade de produzir fibras de enorme resistência, fazendo-o voar pelos ares, pendurando-se de prédio em prédio, salvando as mocinhas e vencendo os bandidos?



Figura 15.7: O Homem-Aranha, herói dos quadrinhos da Marvel Comics, dos desenhos animados e, posteriormente, das telas de cinema, é uma amostra de como esses aracnídeos e suas fabulosas teias são capazes de exercer fascínio. Homem-Aranha é o codinome de Peter Parker, um rapaz que, ao ser picado por uma aranha, adquire a capacidade de produzir enormes e resistentes teias. É pendurado nessas teias que ele se lança pelos ares da cidade de Nova York, enfrentando os bandidos e salvando as mocinhas. Se você tiver a oportunidade, vale a pena conferir esses filmes de ação!

CONCLUSÃO

Não fosse a queratina, não teríamos cabelos e unhas e poderíamos nos desidratar até a morte, uma vez que essa proteína impede a perda de água por via cutânea. Não fosse o colágeno, nossas estruturas óssea e cartilaginosa seriam bastante comprometidas. Realizar esportes para quem tem doenças associadas à deficiência de colágeno é tarefa impossível. Nada de Copas do Mundo, Olimpíadas, Jogos Pan-americanos...

As proteínas fibrosas de invertebrados também são importantes. O que seria das aranhas se não pudessem capturar suas presas em suas magníficas teias?

Embora a maior parte dos tipos de proteínas dos organismos não seja fibrosa, as que existem têm papel de grande relevância!

ATIVIDADE FINAL

**Será que vai caber?**

Joana tinha uma festa importante para ir. Para não fazer feio, foi a uma loja chique e comprou um vestido de seda bastante elegante para usar no evento. Ela fez isso umas duas semanas antes da festa. O problema é que Joana não contava que podia engordar uns dois quilinhos nesse meio tempo, e foi o que aconteceu.

Na véspera da festa, Joana experimentou o vestido, e ele estava um pouco apertado. Sem saber o que fazer, Joana ligou para uma amiga que lhe disse que, se ela lavasse o vestido, ele cederia (alargaria) um pouco e ela poderia usá-lo na festa.



Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/669554>

Levando em consideração o que você estudou sobre seda nesta aula, lavar o vestido vai adiantar? Você acha que a seda vai ceder? Por quê?

RESPOSTA COMENTADA

Infelizmente, Joana tem um problema para resolver, e a solução não é lavar o vestido: a seda é um tecido que não cede. Isso acontece porque as fibras que formam o tecido são compostas por uma proteína – a fibroína – que é organizada em folhas antiparalelas de tal maneira já esticadas que não é possível distendê-las mais. Assim, ou Joana compra outro vestido às pressas ou correrá o risco de ter seu vestido de seda rasgado no primeiro salgadinho que comer na festa...

RESUMO

Existem dois grandes grupos de proteínas: as fibrosas e as globulares. As proteínas fibrosas, tema desta aula, são aquelas cuja estrutura é filamentosa e organizada na forma de feixes, em geral envolvendo a formação de hélices. Exemplos de proteínas desse tipo são a α -queratina, o colágeno e a fibroína da seda.

A α -queratina é a proteína que compõe nossos cabelos, as unhas, os chifres e cascos de alguns animais, por exemplo. É uma proteína bastante resistente por sua estrutura envolver a formação de uma super-hélice. As hélices de α -queratina se enovelam uma na outra, mantendo as regiões hidrofóbicas em contato, aumentando a resistência da super-hélice formada.

O colágeno também se organiza em hélices, só que em triplas hélices. O colágeno possui grande quantidade de prolina e glicina, que não são boas formadoras de hélice mas que, neste caso, a formam porque cada volta da hélice tem três aminoácidos, em vez de 3,6. Esse estreitamento possibilita interações mais resistentes entre os aminoácidos e conferem à proteína uma grande rigidez, necessária à sua função, que é, por exemplo, participar da constituição dos nossos ossos e cartilagens.

Proteínas fibrosas também estão presentes em invertebrados, como é o caso da fibroína da seda das aranhas e de bichos-da-seda. Essa proteína é organizada em folhas β antiparalelas e, embora não possa ser muito esticada, possui grande flexibilidade (para ser dobrada).

INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

Nesta aula, dissemos para você que as proteínas fibrosas existem em poucos tipos diferentes. Ora, se existem milhares e milhares de proteínas, em que categoria se encontram as outras tantas, e como são elas? A resposta você vai descobrir na aula que vem. Até lá!

Proteínas 6: proteínas globulares – a maioria delas

AULA 16

Meta da aula

Apresentar as proteínas globulares, relacionando a estrutura que apresentam à função que exercem.

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- 1 identificar características de uma proteína globular;
- 2 descrever a função do grupamento heme no sangue;
- 3 diferenciar a ligação de oxigênio na hemoglobina e na mioglobina, de acordo com as estruturas das duas proteínas;
- 4 descrever o *Efeito Bohr*.

Pré-requisito

Antes de começar a estudar esta aula, é importante que você volte à Aula 7 e relembre como funciona o sistema de tamponamento do sangue.

UMA PEQUENA RECAPITULAÇÃO...

Na aula passada, você viu três exemplos de proteínas fibrosas: a queratina, o colágeno e a fibroína. Estas três proteínas são mais compridas do que largas, daí serem incluídas no grupo das proteínas fibrosas.

As proteínas fibrosas, em geral, também contêm poucos elementos de estrutura secundária: ou são ricas em folhas β contendo poucas α -hélices, ou, ao contrário, são ricas em α -hélices possuindo poucas folhas β . Estas proteínas podem compor a seda da teia de uma aranha ou suporte, forma e proteção externa aos vertebrados, sendo encontradas nos pêlos, penas, seda, tendões, matriz óssea, unhas etc. Mas isso tudo você já viu.

O que você deve estar curioso para saber é como são as proteínas que não são fibrosas e em que outra classe se enquadram. Esse é o assunto da aula de hoje: as proteínas globulares.

E A MAIORIA É ASSIM!

Além das proteínas fibrosas, existem as chamadas proteínas globulares, que apresentam uma forma mais arredondada. Elas são ricas em elementos de estrutura secundária, podendo ser encontradas, na mesma proteína, as α -hélices, as voltas e as folhas β .

Dentro desse grupo, temos centenas de proteínas, como a mioglobina, o citocromo c, a álcool desidrogenase, a ribonuclease, a lisozima, a hemoglobina etc. (calma, não se assuste com esses nomes – veja o box “Quem são essas proteínas todas?”).

Quem são essas proteínas todas?

Se você se espantou com os nomes das proteínas do parágrafo anterior, aqui vão algumas explicações:

O citocromo c é uma proteína que participa da respiração celular. A respiração celular, caso você não lembre, é um processo que acontece dentro das mitocôndrias das células, convertendo oxigênio em água e gerando energia na forma de ATP.

A álcool desidrogenase é uma enzima que está presente no fígado e que participa da metabolização do álcool que ingerimos, fazendo com que esse seja convertido em outras moléculas que podem ser excretadas do nosso organismo.

A ribonuclease é uma enzima que degrada RNA. Isso é importante, por exemplo, depois que o RNA mensageiro já foi traduzido na proteína que deveria. O RNAm que está no citoplasma deve ser degradado, pois já cumpriu seu papel: é aí que atua a ribonuclease!

A lisozima é uma enzima também, e está presente na nossa saliva e nas lágrimas, por exemplo. Ela atua como um mecanismo de defesa contra a ação de bactérias, desestabilizando a estrutura desses microorganismos.

A mioglobina e a hemoglobina são proteínas tão importantes que vamos usá-las de exemplo no decorrer desta aula; então, não vale a pena mencioná-las aqui.

Tanto em Bioquímica I quanto em Bioquímica II e em outras disciplinas que falem sobre “essas coisas que não podemos ver”, vai ser comum você se deparar com nomes de proteínas e enzimas. Nesta aula, demos os exemplos anteriores e, neste box, suas definições, só para familiarizá-lo com esses nomes. Agora não é importante que você os mantenha em mente; não se preocupe, pois, quando for, avisaremos!

As proteínas globulares, em geral, são enzimas, funcionando também como transportadoras de outras moléculas ou como proteínas reguladoras (que regulam a atuação de outras moléculas). Nesta aula, você verá duas proteínas globulares que estão envolvidas em uma função importantíssima no nosso organismo: o transporte de oxigênio. Mas antes, faça a Atividade 1 (que é bastante objetiva) e, em seguida, descubra como essas proteínas podem estar relacionadas à sua respiração!

ATIVIDADE



1. Como são essas proteínas?

Leia os trechos a seguir:

1. A Cinesina é uma proteína que atua dentro da célula de forma absolutamente surpreendente: carregando (literalmente!), por força mecânica, moléculas de um lado para o outro da célula. Essa proteína consegue realizar essa ação graças à sua estrutura, um misto de α -hélices e folhas β , e é capaz de realizar uma ação enzimática de quebra do ATP para gerar energia para realizar seus transportes.

2. A elastina é uma proteína estrutural que faz exatamente o que seu nome sugere: confere elasticidade aos tecidos em que se encontra presente, por exemplo, nossos pulmões. A elastina é uma proteína bastante resistente, graças a elementos da sua estrutura que, embora sejam pouco variados, interagem de tal forma que a proteína é capaz de se distender e retrair sem se romper.

Agora, escreva no espaço a seguir qual dos trechos se refere a uma proteína globular e por que pistas no texto você o identificou:

RESPOSTA COMENTADA

Se você estudou atentamente a aula passada e o início desta aula, esta atividade deve ter sido bastante fácil de realizar. Isso porque na aula anterior dissemos que as proteínas fibrosas são normalmente proteínas estruturais e possuem uma estrutura bastante resistente. Por essas informações, você já poderia ter identificado a elastina como fibrosa e, por eliminação, a kinesina como globular. Não bastasse isso, no início desta aula dissemos que uma proteína globular, além de arredondada (e isso, para não ficar óbvio demais, não estava no texto), possui diversos elementos de estrutura terciária e pode apresentar atividade enzimática. Esses dois itens estão mencionados no texto 1, que fala da kinesina!

TRANSPORTE DE OXIGÊNIO NOS ORGANISMOS MULTICELULARES – O PROBLEMA E A SOLUÇÃO!

O oxigênio é um gás essencial à vida da maior parte dos organismos. Esse gás não se dissolve facilmente em soluções aquosas, o que dificulta o transporte dele na forma livre (sem estar associado a nenhuma molécula) para os tecidos. Esta característica do oxigênio fez com que, no caso dos organismos multicelulares, somente aqueles que desenvolveram estratégias para a utilização desse gás fossem selecionados positivamente.

Durante o processo de evolução, surgiram moléculas capazes de transportar o oxigênio em meio aquoso. As moléculas que foram selecionadas para esta função foram as proteínas.

Uma particularidade associada a essas proteínas é que era necessário que a molécula transportadora de oxigênio se ligasse a ele com grande afinidade, mas que, no lugar de destino (no caso, os tecidos), se desligasse dele facilmente. Em outras palavras, **A LIGAÇÃO DEVERIA SER REVERSÍVEL.**

Dos vinte aminoácidos constituintes de proteínas, nenhum deles é capaz de se ligar reversivelmente ao oxigênio. Desta forma, as proteínas compostas apenas por aminoácidos não poderiam desempenhar a função de agente transportador de oxigênio.

LIGAÇÃO REVERSÍVEL

Tipo de ligação química que pode acontecer e se desfazer sem que as partes (moléculas) envolvidas percam suas características iniciais.

Alguns metais, como o ferro e o cobre, são ótimos transportadores de oxigênio. Pronto! Bastaria que os organismos utilizassem o ferro ou o cobre como transportadores e o problema estaria resolvido.

Só que, infelizmente, isto não é possível, porque a ligação do oxigênio ao ferro gera radicais (moléculas muito reativas) que são altamente danosos ao DNA e às proteínas.

Uma vez que a natureza não poderia usar ferro ou cobre, na sua forma livre, para desempenhar a função de transporte (pois não se poderia resolver um problema criando outros), continuamos com o mesmo problema...

Considerando que nós existimos e que acontece o transporte do oxigênio dentro do nosso organismo e de tantos outros, uma solução foi encontrada. Veja como este problema foi solucionado.

O GRUPAMENTO HEME

Parte da solução veio quando o ferro associou-se a um grupo conhecido como protoporfirina, formando uma molécula chamada *heme*. No heme, o ferro fica “seqüestrado”, isto é, fica escondido, tornando-se menos reativo. Veja a **Figura 16.1**.

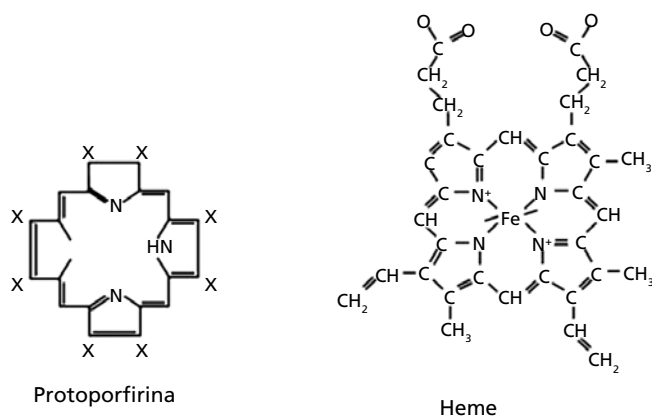


Figura 16.1: Solução para o transporte de oxigênio - o heme. Como o ferro é um átomo bastante reativo para se ligar diretamente à estrutura de uma proteína ou para ficar livre pelo organismo, uma solução para podermos nos beneficiar da capacidade de este átomo se associar ao oxigênio veio com a molécula de protoporfirina (à esquerda). Esta molécula é composta por átomos de carbono, hidrogênio e nitrogênio, formando um anel no centro do qual é possível ligar um átomo de ferro. Quando a protoporfirina está associada ao ferro a chamamos a molécula de heme.

O heme é uma molécula formada por átomos de carbono, hidrogênio e nitrogênio ligados de tal forma que constituem um anel. Localizados no centro desse anel, os nitrogênios têm a capacidade de estabelecer quatro ligações (também chamadas coordenações) com outros átomos. Quando o anel não tem nenhum átomo associado em seu centro, ele é chamado protoporfirina. Quando um átomo de ferro se associa ao centro desse anel, ele (o anel) passa a ser chamado de heme.

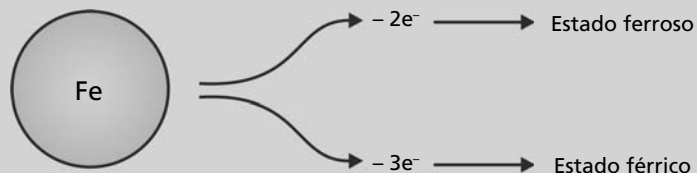
Apenas um átomo de ferro se associa ao anel, e em seu estado ferroso, ou seja, Fe^{+2} (veja o box O que é estado ferroso?). Isso porque quando está no estado Fe^{2+} , ele é capaz de ligar oxigênio reversivelmente; já no estado Fe^{3+} (férico), não apresenta mais esta capacidade. São os nitrogênios presentes na protoporfirina, devido ao seu caráter doador de elétrons, que ajudam a evitar a conversão do Fe^{+2} em Fe^{+3} .

O que é estado ferroso?

Um átomo possui um núcleo composto por neutros e prótons e uma eletrosfera, composta por elétrons. Os elétrons dessa eletrosfera, dependendo da situação, podem se desprender e passar para outro átomo qualquer. O átomo que perde elétrons fica com mais cargas positivas do que negativas; o número de elétrons que ele perder significará o número de cargas positivas que ele terá a mais.

O processo de perda de elétrons é chamado oxidação. O átomo de ferro apresenta dois estados de oxidação: aquele em que perdeu dois elétrons e o em que perdeu três elétrons.

Quando um átomo de ferro é oxidado perdendo dois elétrons, dizemos que ele é Fe^{+2} , ou que está em seu estado ferroso. Quando o ferro perde três elétrons, Fe^{+3} , dizemos que está em estado férico.



Se você olhar com cuidado a **Figura 16.1**, vai notar que o ferro faz quatro ligações (coordenações) com os quatro nitrogênios da protoporfirina, e que há ainda duas ligações que ficam livres; exatamente uma delas é a que deve ser ocupada pelo oxigênio a ser transportado.

Tudo solucionado? Não ainda! Lembra que mencionamos que é uma proteína a molécula que transporta o oxigênio no organismo? Até agora, só falamos do heme. Por que não é somente ele que transporta

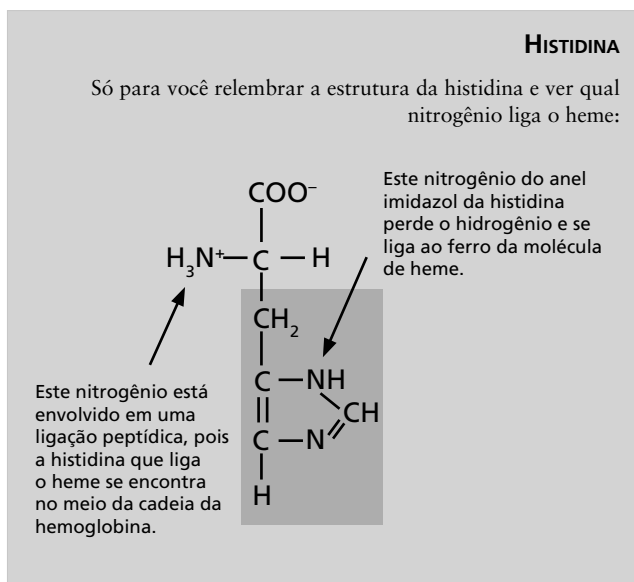
o oxigênio diretamente? Por que há uma proteína envolvida nesse processo?

Há alguns motivos para termos uma proteína envolvida: o primeiro é que o heme é uma molécula hidrofóbica, e não conseguiria circular livremente pela corrente sangüínea (composta principalmente de água). O segundo está relacionado ao estado de oxidação do ferro.

Quando o oxigênio ocupa uma das duas ligações livres (valências) do ferro no heme, ele pode converter Fe^{2+} em Fe^{3+} , o que torna o heme incapaz de transportar o oxigênio. Como já dissemos, Fe^{3+} não é capaz de se ligar ao oxigênio.

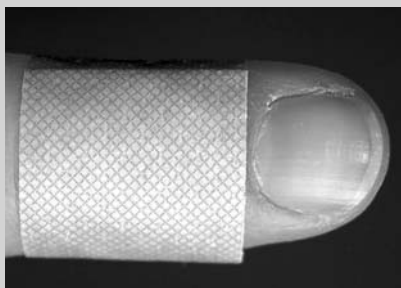
Aqui entra a proteína: umas das ligações livres do ferro interage com um aminoácido da proteína designada para o transporte de oxigênio. No caso da proteína que faz o transporte de oxigênio no nosso corpo, por exemplo, este aminoácido é a **HISTIDINA**, que liga o ferro a um de seus nitrogênios. A outra ligação fica livre para receber o oxigênio.

A ligação do oxigênio muda os arranjos dos elétrons do heme. Essa mudança eletrônica resulta em uma alteração na cor do heme. Na forma desoxigenada (sem oxigênio ligado), ele é vermelho escuro; na forma oxigenada (com oxigênio ligado), vermelho “vivo”.



Sangue claro, sangue escuro...

Já reparou que, quando nos cortamos ou nos machucamos, algumas vezes o sangue que sai de nosso corpo é vermelho escuro e, às vezes, é mais claro?



Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/729161>

Além do transporte pelo sangue e a manutenção do ferro no estado ferroso, há outra vantagem de o heme estar ligado a uma proteína. Essa molécula é capaz de ligar não apenas o oxigênio, mas também o gás carbônico (CO_2) e o monóxido de carbono (CO). Quanto ao gás carbônico, isso representa uma vantagem, uma vez que a proteína chega aos tecidos carregando oxigênio e se afasta deles carregando o gás que é produto das reações do metabolismo das células – o CO_2 . A afinidade do heme por esse gás não é alta, mas é suficiente para que ele seja retirado dos tecidos e entregue aos pulmões, de onde é expelido quando expiramos.

Já o monóxido de carbono representa um problema para nós, pois ele se liga ao heme com maior afinidade que o oxigênio. Quando o CO se liga ao heme, ele exclui o oxigênio definitivamente. Isso explica por que o CO é tão tóxico aos organismos aeróbicos.

O fato de o heme ficar protegido dentro de proteínas faz com que o acesso do CO e de outras moléculas pequenas seja dificultado.

Assim, o ferro preso a anéis (protoporfirina) formando o heme, que por sua vez fica mergulhado no interior de uma proteína, garante que o transporte de oxigênio seja feito da melhor maneira possível, pois, com isto:

- a. não há conversão do Fe^{2+} em Fe^{3+} , o que inviabilizaria o transporte do oxigênio;
- b. não há formação de radicais tóxicos, que são danosos a outras moléculas da célula;
- c. é possível limitar o acesso de determinadas moléculas ao heme.

Pois bem! Agora chegou a hora de falar especificamente dessas proteínas que estão envolvidas no transporte de gases no nosso organismo: a hemoglobina e a mioglobina.

A hemoglobina está presente nos glóbulos vermelhos (hemácias) e sua função é a de carregar oxigênio no sangue, desempenhando, também, um papel vital no transporte de dióxido de carbono (CO_2) e hidrogênio (H), conforme você verá com detalhes mais à frente. Já a mioglobina é encontrada nos músculos e tem como função distribuir oxigênio a este tecido. Vamos ver suas estruturas com mais detalhes depois da atividade a seguir.



ATIVIDADE

2. Sangue azul... Pode?

Já ouviu a expressão “Fulano tem sangue azul”? Essa expressão era utilizada para designar membros da nobreza que, de tão “superiores” às pessoas de outras classes sociais, possuíam até sangue de cor diferente.

No entanto, quando um nobre se cortava, o sangue que todos viam sair de seu corpo era vermelho.

O argumento utilizado pelos nobres para justificar isso era o de que, ao entrar em contato com o ar impuro, o sangue azul de suas veias ficava vermelho.

Pergunta: Os nobres (ou qualquer pessoa) podem ter sangue de cor azul de fato? Por quê? Mencione em sua resposta a molécula que dá cor ao sangue, qual sua função nesse fluido e associada a que molécula ela pode exercê-la.



Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/707930>

RESPOSTA COMENTADA

Independentemente de ter estudado esta aula até esse ponto, você provavelmente já sabia que ninguém tem sangue azul! O que talvez você não soubesse ainda é que o que dá a cor vermelha ao sangue é uma proteína chamada hemoglobina, e que ela faz isso por ter, em sua estrutura, um grupamento prostético chamado heme.

A hemoglobina é uma proteína essencial – ninguém pode prescindir de sua presença no sangue (e, por isso, os nobres não poderiam ter sangue azul de jeito nenhum!). Isso porque ela participa do transporte de oxigênio para os tecidos, e ela só pode desempenhar essa função por ter associados grupamentos heme à sua estrutura .

O heme é uma molécula que possui, no centro do anel que compõe a sua estrutura, um átomo de ferro – que faz o heme ser colorido e, por conseqüência, a hemoglobina e o sangue. Esse ferro do heme é capaz de fazer duas ligações químicas além da que faz para estar

no centro do anel: uma acontece com uma histidina da seqüência da proteína, e outra, com uma molécula de oxigênio. Ou seja, no final das contas, o ferro é o elemento capaz de se ligar ao oxigênio e possibilitar o transporte desse gás.

MÚSCULOS E OXIGÊNIO – A MIOGLOBINA

A mioglobina é uma das mais simples entre as proteínas que transportam oxigênio. Ela é particularmente abundante nos músculos de mamíferos que mergulham, como focas e baleias, pois é capaz de reter o oxigênio por longos períodos de tempo, enquanto o animal está submerso.

A mioglobina é uma proteína composta por uma única cadeia, que contém 153 aminoácidos, apenas uma molécula de heme e oito α -hélices (Figura 16.2), cada uma recebendo como denominação uma letra do alfabeto: de A até H.



Figura 16.2: Estrutura terciária da mioglobina. Esta proteína, presente nos músculos dos mamíferos, possui uma única cadeia, com estrutura rica em α -hélices (representadas pelos bastões mais largos). Em seu interior, há uma molécula de heme, a qual permite que esta proteína tenha participação na armazenagem e no transporte de oxigênio nos músculos.

Em vez de atuar transportando oxigênio para todos os tecidos, a mioglobina faz isso somente entre as células musculares (para saber como essa proteína pode auxiliar no diagnóstico de uma doença, veja o box “Mioglobina livre bom negócio não é!”). Além disso, há outras atuações da hemoglobina que a mioglobina não pode exercer, como, por exemplo, o transporte de gás carbônico. Mas isso você vai ver daqui a pouco!

Mioglobina livre bom sinal não é!

A mioglobina é uma proteína bastante abundante nas células musculares. Ela é responsável, inclusive, pela cor vermelha que o músculo apresenta. Quando um músculo sofre uma lesão, as suas células também são lesionadas. Isso faz com que haja liberação de mioglobina para o sangue. Pessoas que tiveram um infarto agudo têm a quantidade de mioglobina no sangue elevada logo nas primeiras horas depois do infarto, e os níveis dessa proteína no sangue só são restabelecidos um ou dois dias depois. O aumento da quantidade de mioglobina no sangue acontece antes do aumento da quantidade de outras proteínas típicas do tecido do coração e pode ajudar na confirmação de ter havido mesmo um infarto ou outro tipo de problema coração. Isso determina, por exemplo, o tratamento que será aplicado ao paciente.

E É POR ISSO QUE NOSSO SANGUE É VERMELHO – A HEMOGLOBINA

Como você deve se lembrar (provavelmente aprendeu isso no Ensino Médio), no nosso sangue há células chamadas hemácias (que também podem ser chamadas de eritrócitos ou glóbulos vermelhos). Essas células possuem uma grande quantidade de hemoglobina em seu interior (e você já viu que a hemoglobina é vermelha por causa do heme que carrega).

Curioso é que para desempenharem melhor sua função de células transportadoras de oxigênio, as hemácias perderam suas organelas, tais como: núcleo, mitocôndria e retículo endoplasmático (não deixe de ler o boxe Uma célula bem diferente!). Podemos dizer que as hemácias são, na verdade, “um saco” cheio de hemoglobina!

Uma célula bem diferente!

As hemácias são células bastante abundantes no nosso sangue. Estima-se que um indivíduo adulto tenha cerca de cinco milhões de glóbulos vermelhos por milímetro cúbico de sangue. Dentro de cada hemácia, há muitas moléculas de hemoglobina e, para aumentar ainda mais a capacidade de transportar oxigênio (a quantidade de hemoglobinas que cabem dentro da célula), as hemácias perderam diversas organelas.

Como elas perderam o núcleo, não podem se dividir. Isso significa que, após seu tempo de vida (que, no caso de uma hemácia humana, é de aproximadamente quatro meses) elas são eliminadas pelo organismo. Por isso, a síntese dessas células pela medula óssea é tão intensa: são produzidos cerca de dois milhões por segundo.

A perda da mitocôndria trouxe para essas células outra restrição. É que a mitocôndria é o lugar onde acontece a respiração celular. Sem essa organela, a única fonte de energia para essas células é a quebra da glicose – em um processo chamado glicólise, que você vai aprender em Bioquímica II. Não é curioso? A célula que transporta oxigênio para que todas as outras respirem simplesmente não respira!

A hemoglobina é uma proteína tetramérica, isto é, possui quatro subunidades. Ela possui duas subunidades ditas α e duas β sendo, então, denominada ($\alpha_2\beta_2$). Há quatro grupos hemes na hemoglobina, cada um ligado a uma destas subunidades. Dessa forma, a hemoglobina transporta quatro moléculas de oxigênio de cada vez.

Diferentemente da mioglobina, a hemoglobina transporta prótons e CO_2 , além do oxigênio. Veja com mais detalhes o mecanismo do transporte de cada um desses.

A INTERAÇÃO DAS PROTEÍNAS COM DIFERENTES GASES E COM PRÓTONS

Como o oxigênio consegue chegar dentro da proteína e encontrar o heme? – a formação da oxi-hemoglobina

A resposta para isto é bastante curiosa, pois nos mostra que as proteínas não são tão rígidas como poderíamos pensar.

Na verdade, as proteínas são maleáveis e até parece que “respiram”, isto é, elas “incham e desincham”. Claro que esses movimentos são da ordem de angstroms, mas são suficientes para que uma molécula pequena, como a do oxigênio, que está do lado de fora, entre no miolo da proteína.

Na ligação do oxigênio à mioglobina, é exatamente isso o que acontece: a proteína liga o oxigênio alterando um pouco o seu tamanho e permitindo que esse gás fique ligado ao heme em seu interior. Ou seja, ela “incha” quando está ligada ao oxigênio e “desincha” quando se desliga dele.

No caso da hemoglobina, que transporta quatro oxigênios, a ligação do primeiro oxigênio causa uma mudança na conformação da proteína, aumentando a afinidade pelo segundo oxigênio. Quando esse segundo oxigênio se liga, causa novas mudanças que resultam no aumento progressivo da afinidade da proteína pelo seu ligante (no caso, o oxigênio).

Esse tipo de ligação é chamado *cooperativa*, isto é, a ligação de um ligante coopera com a ligação do próximo ligante. Por isso, dizemos que a hemoglobina é uma proteína *alostérica*. Proteínas alostéricas são aquelas nas quais a ligação de um ligante altera a afinidade da proteína pelos demais ligantes (e você verá mais sobre isso quando estudarmos o funcionamento das enzimas, daqui a algumas aulas).

As análises cristalográficas da hemoglobina, nas formas oxigenada e desoxigenada, revelaram alterações importantes de estrutura, explicando como a entrada do primeiro oxigênio facilita a entrada do segundo e assim por diante (cooperatividade). Aqui, temos um exemplo claro de como a determinação da estrutura de uma certa proteína, em diversos estados de ocupação, permite compreender o seu mecanismo de funcionamento.

Vamos ver como isso se processa?

Quando o ferro sem oxigênio está preso ao heme, ele fica levemente acima do plano dos anéis do heme. Observe a **Figura 16.3**:

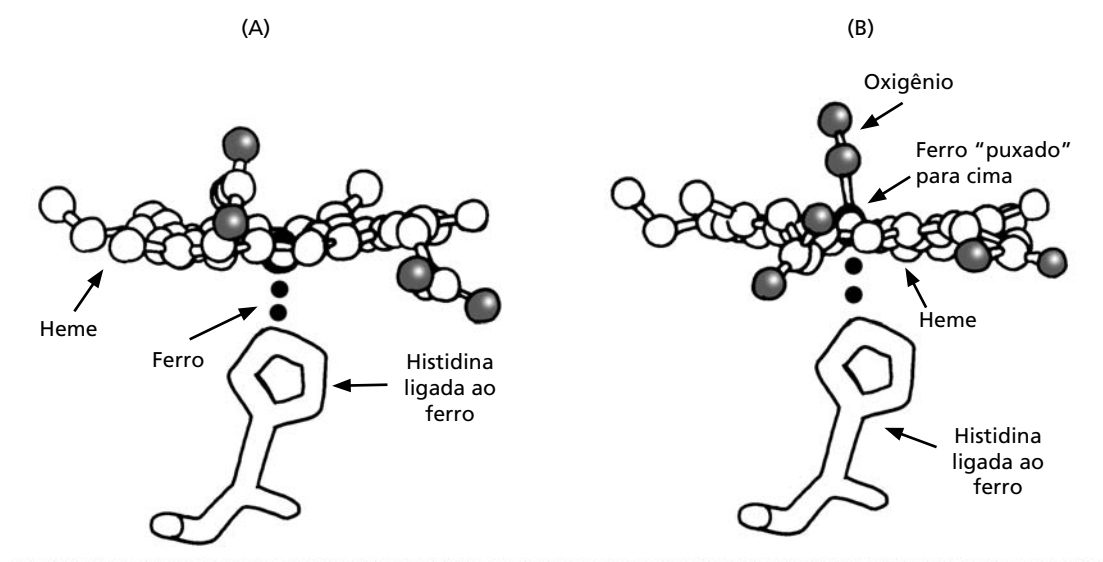


Figura 16.3: O que acontece com o heme ao se ligar ao oxigênio. Nesta visão lateral da molécula de heme, você pode perceber que o ferro, na ausência de oxigênio, é deslocado para baixo em relação ao eixo horizontal do heme (A). Quando o oxigênio se liga a esse ferro, ocorre um deslocamento: o ferro é "puxado" para cima da molécula de heme, puxando consigo a histidina F8 a que está ligado (B). Observe a distância entre a linha pontilhada e a histidina em (B). Esse movimento provoca mudanças na estrutura da hemoglobina de tal ordem que fazem com que o próximo oxigênio se ligue mais facilmente, em um sistema de ligação cooperativa ou alostérica.

Para você entender essa imagem, vai precisar de um pouquinho de visão espacial. Imagine que você esteja olhando a molécula de heme lateralmente (como se você colocasse uma folha de papel horizontalmente na altura dos seus olhos), e não frontalmente (como você olha a folha de papel normalmente). Nesse tipo de visão, é possível perceber como o ferro do heme está deslocado para baixo em relação ao plano horizontal da molécula.

Esse ferro é o mesmo que está ligado à histidina 8 de uma das hélices da hemoglobina, a hélice F (por isso, chamamos a histidina de F8).

Quando o oxigênio se liga ao ferro, esse ferro é puxado pelo oxigênio e acaba puxando o resíduo de histidina junto, aproximando a proteína toda do heme e do oxigênio. Como consequência, toda a proteína sofre um rearranjo e fica mais “esticada”. Nessa nova conformação, os demais oxigênios podem se ligar com mais facilidade aos outros grupamentos heme da hemoglobina.



Resumindo: quando o primeiro oxigênio se liga à hemoglobina, muda de tal forma a estrutura da proteína que ela passa a se ligar melhor aos demais oxigênios.

Mas, como você já aprendeu, a hemoglobina não liga apenas o oxigênio, mas também outras moléculas, como o monóxido de carbono (CO), o dióxido de carbono (CO₂) e, surpreenda-se, prótons (H⁺). Veja isso após fazer a Atividade 2!

ATIVIDADE



3. Hemoglobina, mioglobina e suas particularidades

Como você viu até agora, no seu corpo há duas proteínas capazes de se ligar ao oxigênio: a mioglobina e a hemoglobina. Essas duas proteínas possuem um grupamento heme em suas estruturas, o que atribui a elas a capacidade para realizar tal função.

Embora tenham o mesmo grupamento prostético e uma seqüência primária bastante similar, a mioglobina é uma proteína pequena, e a hemoglobina, uma proteína considerada grande.

a. A que se deve essa diferença entre as duas moléculas? Qual é a particularidade do arranjo espacial da hemoglobina em relação à mioglobina?

b. A estrutura da hemoglobina faz com que a ligação do oxigênio a essa proteína tenha uma característica que não pode estar presente na mioglobina: a ligação cooperativa. Explique esse tipo de ligação, justificando a afirmativa anterior.

RESPOSTA COMENTADA

a. A diferença entre os tamanhos da mioglobina e da hemoglobina, embora as seqüências delas sejam parecidas, está no fato de que a mioglobina tem uma seqüência primária semelhante à seqüência de cada subunidade da hemoglobina. A hemoglobina é uma proteína composta por quatro subunidades, que se organizam espacialmente formando um tetrâmero. Em outras palavras, a hemoglobina é uma proteína que possui estrutura quaternária, ao passo que a mioglobina, por ser composta por uma única unidade de uma cadeia polipeptídica, apresenta apenas nível de organização terciário.

b. A estrutura da hemoglobina acarreta diferenças na ligação do oxigênio a essa molécula em relação à mioglobina. Enquanto cada mioglobina é capaz de ligar apenas um oxigênio, cada hemoglobina é capaz de ligar quatro – um em cada grupamento heme presente em cada uma das quatro subunidades. A ligação do oxigênio na hemoglobina acontece de forma cooperativa. Quando o primeiro oxigênio se liga a uma das subunidades da proteína, provoca uma mudança na conformação da proteína inteira. Isso porque o átomo de ferro do centro do anel do heme, que era deslocado do plano dessa molécula, é “puxado” para o mesmo plano do resto do grupamento heme. Como esse ferro está ligado a uma histidina da proteína, ele “puxa” também esse aminoácido no seu deslocamento e, por conseqüência, todo o resto da proteína que está ligado a ele (histidina). Essa mudança de conformação facilita o acesso de outra molécula de oxigênio ao heme de outra subunidade da mesma hemoglobina, e a ligação desse gás é favorecida. Esse processo é chamado ligação cooperativa e não pode acontecer na mioglobina, porque ela só tem uma subunidade.

Uma ligação não desejada – a carbo-hemoglobina

Conforme você já viu no início desta aula, o heme é capaz de ligar o monóxido de carbono (CO) com grande afinidade. Se a mioglobina ou a hemoglobina se ligarem ao CO, elas deixarão de transportar o oxigênio, e o indivíduo poderá sofrer morte por asfixia.

Para você ter uma idéia, o heme livre liga CO com afinidade 20.000 vezes maior do que liga oxigênio. Para nossa sorte, quando está ligado à hemoglobina, essa afinidade cai para 200 vezes. Mas como a hemoglobina favorece a ligação com o oxigênio?

Essa diferença pode ser entendida se olharmos mais de perto como esses dois gases se ligam ao heme. Veja a **Figura 16.4**.



Figura 16.4: Ligação dos gases oxigênio e monóxido de carbono ao ferro do heme. As barras laterais representam o restante da molécula de heme. Repare que o espaço requerido para cada ligação acontecer (representado pelas setas) é diferente.

A ligação do oxigênio ao ferro do heme faz uma espécie de dobra. Quando CO se liga ao heme, a ligação é linear.

Perceba que, quando o CO se liga ao heme, ele precisa de um espaço diferente daquele que o oxigênio precisa para se acomodar, já que fica reto, e não dobrado.

Quando o heme está “mergulhado” na hemoglobina, devemos lembrar que existem vários aminoácidos ao seu redor. Um deles é a *histidina 64* (conhecida como *histidina distal*), que não se liga diretamente ao ferro, mas fica próxima ao heme, formando uma espécie de “telhado” sobre o átomo de ferro desse grupo.

Isso tem implicações muito importantes, pois como a ligação do CO necessita exatamente do espaço que a histidina restringe para que a molécula de monóxido de carbono se acomode, a presença da histidina distal (que forma esse “telhado”) dificulta a ligação.

O mesmo não acontece quando oxigênio se liga a esta molécula, pois, conforme vimos, ele se liga formando uma dobra, e aí o “telhado” (histidina 64) não atrapalha. Tal fato explica por que o heme, quando ligado à hemoglobina, perde tanta afinidade pelo CO (**Figura 16.5**). Aliás, o processo que acabamos de descrever também se aplica à mioglobina.



Figura 16.5: Importância da histidina distal. Esse aminoácido dificulta a ligação do monóxido de carbono (CO), um gás tóxico, às proteínas ligadoras de oxigênio, como a hemoglobina e a mioglobina. A maior afinidade do heme pelo CO, em relação ao oxigênio, cai de 20.000 vezes para 200 por causa do caráter das ligações e da presença da histidina distal. A ligação do CO ao ferro do heme requer um espaço diferente daquele que a ligação do oxigênio requer, espaço esse que não existe por causa da presença da histidina distal.

Monóxido de carbono, dióxido de carbono... dois gases com nomes tão parecidos! Como pode um ser tão tóxico para o organismo e o outro não? Isso é o que você vai ver a seguir!

ATIVIDADE



4. Poluição e suas hemoglobinas: alguma relação?

No estado de São Paulo, houve muita discussão e protesto quando o governo implantou o sistema de rodízio para os veículos, com o objetivo de minimizar o caos no trânsito da cidade.

Funciona assim: de acordo com o final da placa do veículo, há um dia da semana em que ele não pode circular. Isso diminui em cerca de 20% o número de veículos circulantes por dia, e vale apenas para os dias de semana, quando o tráfego é mais intenso.

Um dos benefícios associados à redução do número de veículos circulantes na cidade foi a redução da emissão de monóxido de carbono (CO), produto da queima de combustível nos motores dos veículos.



<http://www.sxc.hu/photo/120674>

a. Por que o monóxido de carbono é um gás tão tóxico ao nosso organismo?

b. Que característica molecular do nosso organismo minimiza as possibilidades de intoxicação por inalação de CO? Explique o mecanismo molecular envolvido nessa estratégia.

RESPOSTA COMENTADA

Não é novidade para ninguém que a poluição é um problema de proporções mundiais e que qualquer medida para reduzi-la é bem-vinda.

Em São Paulo, adotou-se o rodízio para minimizar problemas de trânsito e, como conseqüência, minimizou-se também a emissão de gases tóxicos para a atmosfera. O uso de gás natural veicular como combustível (não só em São Paulo, mas em diversos estados) é outra medida que está sendo incentivada pelo governo, por exemplo com redução do valor de impostos pagos pelo proprietário do veículo.

O monóxido de carbono, emitido a partir da queima de combustíveis, como a gasolina no motor dos veículos, é bastante tóxico para o nosso organismo e pode levar um indivíduo à morte. (a) Isso porque a hemoglobina, proteína que transporta oxigênio no nosso sangue, tem muito mais afinidade pelo CO do que pelo oxigênio. Quando uma molécula de monóxido de carbono se liga a uma hemoglobina, ele não se desgruda, impedindo que aquela hemoglobina seja capaz de transportar oxigênio. Dependendo da quantidade de CO que inalamos, comprometemos mais hemoglobinas e, por conseqüência, ficamos sem oxigênio em tecidos importantes, como o cérebro.

(b) Uma característica molecular do nosso organismo que ajuda a minimizar a possibilidade de intoxicação por CO é que ele dificulta a ligação deste gás à hemoglobina. Essa característica é dada pelo posicionamento de uma histidina em relação ao grupamento heme, onde esse gás (e o oxigênio) se liga. A histidina restringe o espaço

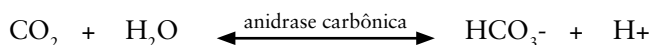
disponível para posicionamento do CO, que possui uma estrutura linear, a qual ocupa mais espaço do que o oxigênio, que possui uma estrutura com uma inclinação que reduz o espaço necessário para que ele se ligue à hemoglobina. A histidina funciona como uma espécie de “telhado”, que dificulta bastante a ligação do CO, minimizando a chance de este gás se ligar à hemoglobina, inutilizando-a.

Hemoglobina e gás carbônico – uma ligação diferente!

As nossas células produzem CO₂ como resultado do metabolismo. Este CO₂ pode seguir dois destinos no nosso organismo: participar do sistema de tamponamento do sangue ou ser expelido na expiração.

Na Aula 7, você viu que o sangue é tamponado por um sistema que envolve gás carbônico e bicarbonato.

Pela ação de uma enzima que está dentro das hemácias, a anidrase carbônica, parte do CO₂ gerado pelo nosso metabolismo é transformado em bicarbonato (HCO₃⁻):



Os H⁺ gerados por essa reação são transportados pela hemoglobina como parte do *Efeito Bohr*, do qual falaremos mais adiante. O restante do CO₂ que não é transformado em bicarbonato pela anidrase carbônica é, então, transportado pela hemoglobina até os pulmões, de onde será mandado para fora do corpo.

O transporte do CO₂ pela hemoglobina acontece pela ligação deste gás às **AMINAS TERMINAIS** da hemoglobina. Quando essa ligação acontece, a afinidade da proteína pelo oxigênio diminui. É por isso que, nos tecidos, o oxigênio é liberado e o sangue retorna ao pulmão carregando gás carbônico.

AMINAS TERMINAIS

Lembre-se de que todas as proteínas possuem um grupamento dito amino terminal (NH₂) e outro dito carboxi-terminal (COOH). O amino terminal é o grupo amino do primeiro aminoácido da proteína; o carboxi, o grupo carboxil do último.

Substâncias que influenciam a ligação de oxigênio na hemoglobina

Existem mecanismos que modulam a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, como a concentração de CO_2 , o pH do sangue e um composto chamado 2,3 bifosfoglicerato (BPG). Esses mecanismos são adaptações do organismo para facilitar a liberação do oxigênio para tecidos que estejam precisando muito deste gás para exercer suas atividades.

A ligação do oxigênio à hemoglobina depende do pH. Quanto mais ácido o pH, mais facilmente o oxigênio se desliga da hemoglobina. Da mesma forma, se a quantidade de CO_2 aumenta, diminui a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio.

Esses fatos têm grande relevância quando lembramos de algumas situações metabólicas, como, por exemplo, o músculo em contração.

Nessa situação, a quantidade de CO_2 e ácidos é muito alta, devido à intensa atividade realizada pela célula muscular. O baixo pH, promovido pela liberação de ácidos vindos da atividade muscular, e a alta concentração de CO_2 fazem com que a hemoglobina, próxima aos tecidos, libere o oxigênio. Em outras palavras, perto dos músculos em atividade, a hemoglobina tem a sua afinidade pelo oxigênio diminuída e libera esse gás para o tecido.

Na ausência do oxigênio, a hemoglobina pode, perto do músculo, associar-se ao CO_2 e aos prótons que foram produzidos pela atividade muscular, indo pela corrente sanguínea em direção aos pulmões.

Nos pulmões saturados de oxigênio, ocorre o contrário. O H^+ e o CO_2 , vindos dos tecidos ligados à hemoglobina, são liberados para a entrada de oxigênio na molécula. Veja o esquema a seguir (**Figura 16.6**), que representa este mecanismo do Efeito Bohr, descoberto em 1904 por Christian Bohr:

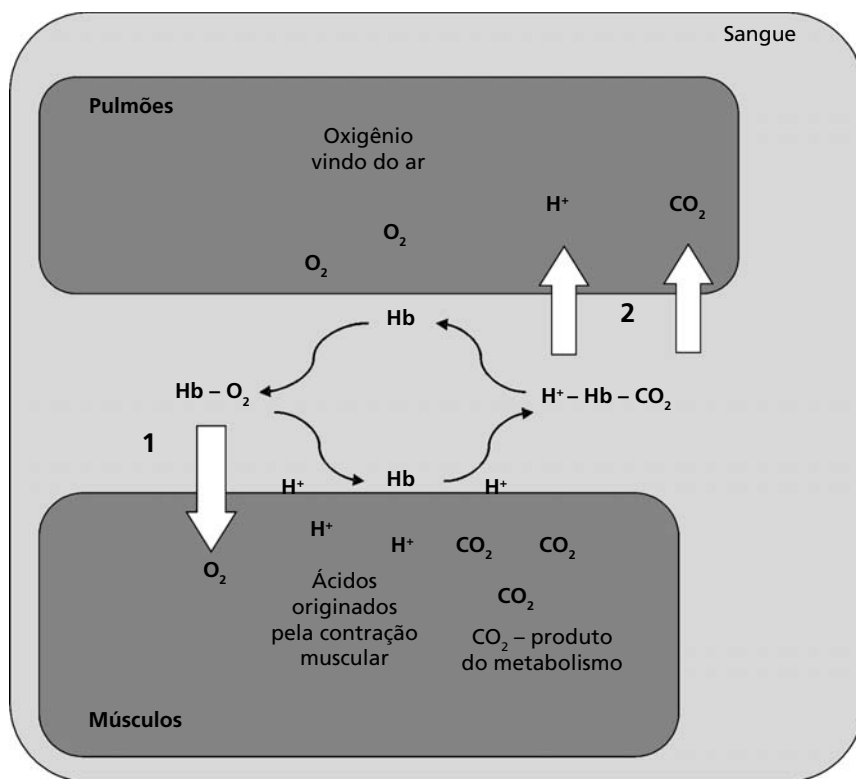


Figura 16.6: Efeito Bohr. Quando o sangue com hemoglobina ligada ao oxigênio (1) se aproxima do músculo em intensa atividade, a grande quantidade de prótons (provenientes dos ácidos gerados pela contração muscular) e de CO_2 (produto do metabolismo destas células) faz com que essa proteína se desligue do oxigênio, fornecendo esse gás ao tecido muscular. Ao se desligar do oxigênio, a hemoglobina imediatamente se associa a prótons e ao CO_2 e vai pela circulação até os pulmões. Nos pulmões, acontece o inverso. A grande quantidade de oxigênio faz com que a hemoglobina libere o CO_2 e os prótons (2) para esse órgão e se ligue novamente ao oxigênio, recomeçando o ciclo.

Esse mecanismo é muito importante, pois as células musculares necessitam de grande quantidade de oxigênio quando estão em intensa atividade. A capacidade de modular a afinidade da hemoglobina é chave para determinadas situações fisiológicas, como essa que acabamos de descrever.



Atenção!

É importante você ter em mente que todo o transporte de gases realizado pela hemoglobina acontece no sangue, onde esta proteína se encontra dentro das hemácias. Na verdade, a hemoglobina não entra em contato direto nem com o músculo, o pulmão ou qualquer outro tecido. Quem entra em contato com estes tecidos e órgãos é o sangue! Os gases atravessam a parede dos vasos sanguíneos, entram na hemácia e se ligam à proteína que estamos estudando!

Um outro achado curioso a respeito da ligação do oxigênio à hemoglobina foi a descoberta feita por Reinhold Benesch e Ruth Benesch em 1967, do 2,3 bifosfoglicerato (BPG). Essa é uma molécula que está presente dentro das hemácias e é capaz de alterar a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio.

Essa descoberta foi importante, pois explicou por que a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, em condições experimentais, era maior do que a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio na hemácia.

Esses pesquisadores imaginavam que deveria haver algum mecanismo capaz de influenciar a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio dentro da célula, um modulador dessa afinidade da hemoglobina. Eles acabaram descobrindo que esse modulador é o BPG, que se liga à hemoglobina e diminui a afinidade dela pelo oxigênio em torno de 26 vezes.

Assim, foi elucidado um importante mecanismo que possibilita à hemoglobina desligar-se do oxigênio e entregá-lo aos tecidos. A atuação do BPG como modulador da afinidade da hemoglobina pelo O_2 explica, por exemplo, como a mãe pode passar oxigênio para seu filho (para saber mais sobre esse assunto, leia o boxe De mãe para filho!).

De mãe para filho!

Você já se perguntou como se dá a transferência de oxigênio entre a mãe e o feto?

Imagine que o feto deva receber oxigênio vindo da mãe. Para que isso ocorra de forma eficiente, é necessário que a hemoglobina da mãe se desligue do oxigênio e o entregue para a hemoglobina do feto. Se as duas hemoglobinas forem idênticas, essa transferência não se processa de forma eficiente.

É necessário que elas apresentem diferentes afinidades pelo oxigênio para que a entrega e a recepção do gás sejam favorecidas. E é isto o que ocorre.

Os fetos apresentam um outro tipo de hemoglobina, chamada hemoglobina fetal (hemoglobina F), que possui maior afinidade pelo oxigênio. Essas duas formas de hemoglobina, a fetal e a não fetal (também conhecida como hemoglobina A), são ditas isoformas, já que são duas formas da mesma proteína, no caso a hemoglobina.

O que faz a hemoglobina fetal ter maior afinidade pelo oxigênio que a hemoglobina não fetal? É a afinidade pelo BPG que, na F, é bem menor do que na A.

Dessa forma, o oxigênio se liga à hemoglobina F com mais afinidade do que à hemoglobina A, já que o BPG diminui, no caso da A, a afinidade pelo oxigênio.

CONCLUSÃO

Muitas coisas já se sabe acerca da hemoglobina e da mioglobina. O mais importante é que o conhecimento das estruturas atômicas destas proteínas, em vários estados de ocupação (ligadas ao oxigênio, ligadas ao CO, ligadas ao BPG etc.), permitiu que se conhecessem os aminoácidos envolvidos nessas ligações. Estas informações, quando combinadas aos estudos em laboratório, realizados em tubo de ensaio ou observações feitas nas células, permitiram estabelecer a questão mais relevante dentro da Bioquímica moderna de proteínas: conhecer como a estrutura de uma proteína determina a sua função.

ATIVIDADE FINAL



O que há entre inspirar e expirar?

“Em um exercício aeróbico, a participação do oxigênio nas reações do organismo para obtenção de energia é fundamental.”

In A capacidade de usar oxigênio

Veja online, 27 dezembro de 2006

Fonte: www.sxc.hu/photo/747641



Fonte: www.sxc.hu/photo/762850

Pessoas que desejam emagrecer geralmente optam por associar uma dieta com restrição calórica à execução de exercícios físicos aeróbicos, como corridas, caminhadas, pedaladas. Esses exercícios têm esse nome

(aeróbicos) porque aumentam o consumo de oxigênio no corpo do indivíduo.

O aumento do consumo de oxigênio ocorre porque o organismo em alta atividade, como no caso do exercício, precisa gerar mais energia do que de costume, para continuar o movimento. Isso acontece por causa da associação entre dois principais eventos no organismo: a utilização das reservas de gordura da pessoa, como fonte de nutrientes, e o aumento do processo de respiração celular.

Esses dois eventos são associados porque, na quebra das gorduras, há formação de dois compostos: o CO_2 que expiramos e uma molécula chamada NADH, fundamental para a geração de ATP (energia) na respiração celular, a qual precisa de oxigênio para acontecer.

Uma outra forma de gerar energia que os nossos músculos podem realizar em um momento de exercício intenso é a quebra incompleta da glicose (açúcar). Nesse processo, outra molécula é produzida: o ácido lático. Esse ácido pode, como você aprendeu na Aula 5, sofrer dissociação. Veja a reação:



Assim, durante o exercício físico, dois processos diferentes podem acontecer nos nossos músculos, e os produtos desses processos são uma grande quantidade de CO_2 e de lactato (e H^+) no organismo.

Como esses dois compostos influenciam o transporte do oxigênio dos pulmões para o músculo, realizado pela hemoglobina? Mencione em sua resposta o que acontece com essa proteína quando ela está próxima aos pulmões e quando ela está próxima ao músculo.

RESPOSTA COMENTADA

Como você já aprendeu, o transporte de oxigênio no corpo se dá pela hemoglobina, que carrega esse gás ligado aos seus grupamentos heme dos pulmões para os outros tecidos, incluindo os músculos.

Quando essa proteína (com oxigênio) se aproxima do músculo, a alta concentração de CO_2 nesse tecido diminui a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio (O_2). A redução da afinidade que vai acabar levando à liberação do O_2 é provocada também pela presença de grandes quantidades de ácidos produzidos durante a atividade muscular. A hemoglobina é sensível a variações de pH e, quando esse diminui, ela perde afinidade pelo oxigênio. Conjuntamente, a alta concentração de CO_2 e o pH mais baixo do tecido muscular em atividade provocam o desligamento do oxigênio da hemoglobina. Esse mecanismo modula a afinidade da hemoglobina pelo O_2 ou seja, faz com que ela solte esse gás mais rapidamente em uma situação em que o músculo esteja precisando muito dele para continuar realizando o movimento.

Ao se dissociar do oxigênio, essa proteína permite a associação do gás carbônico em sua extremidade amino. Carregada com esse CO_2 , a hemoglobina segue para os pulmões, onde a alta concentração de oxigênio fará com que o CO_2 se desligue dela e possa, então, ser expelido do nosso corpo pela expiração. Esse processo é conhecido como Efeito Bohr, por causa do pesquisador que o descobriu!

RESUMO

As proteínas globulares são aquelas que apresentam um formato arredondado. Essas proteínas podem ter papéis fundamentais na homeostase de um organismo, como é o caso da hemoglobina e da mioglobina.

Essas duas proteínas participam do transporte e armazenamento de oxigênio no organismo – a hemoglobina no sangue e a mioglobina nos músculos. Uma particularidade dessas duas moléculas é que elas possuem um grupamento prostético, o heme.

O heme é uma molécula que possui um átomo de ferro no centro do seu anel, que é o que possibilita a interação com o oxigênio. Ele é preso às proteínas pela ligação do ferro a uma histidina.

A mioglobina é um monômero, que contém apenas uma molécula de heme e, portanto, liga apenas um oxigênio de cada vez. Já a hemoglobina é constituída de quatro cadeias polipeptídicas, cada uma com um heme ligado; por isso, ela é capaz de ligar quatro oxigênios de uma vez.

Quando o primeiro oxigênio se liga à hemoglobina, ele facilita a ligação dos próximos, o que faz com que a hemoglobina seja chamada proteína alostérica.

A ligação com o oxigênio é favorecida pela estrutura da proteína, em detrimento da ligação com o CO (um gás tóxico), que também acontece via interação com o ferro.

O CO_2 , produto do nosso metabolismo, só pode ser ligado pela hemoglobina; parte dele é utilizada no sistema tampão do sangue. Isso é importante porque tanto o pH do sangue quanto a concentração do CO_2 influenciam a ligação do O_2 à hemoglobina em um mecanismo chamado Efeito Bohr. O restante do CO_2 se liga às aminas terminais da proteína e é levado até os pulmões para ser expelido.

Outra molécula capaz de alterar a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio é o BPG que, quando se liga à hemoglobina, diminui a afinidade dela pelo oxigênio.

INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

Já ouviu falar em Doença da Vaca Louca? E em Mal de Alzheimer? Não sabe muitos detalhes sobre essas duas patologias? Na próxima aula, você vai aprender!

Quando as proteínas se tornam mais... – parte I: os agregados supramoleculares

AULA

17

Meta da aula

Apresentar a formação de estruturas supramoleculares: o que são proteínas amiloidogênicas e que consequências sua formação pode trazer para um indivíduo.

objetivos

- Ao final desta aula, você deverá ser capaz de caracterizar as fibras amiloidogênicas:
- 1 na doença da Vaca Louca;
 - 2 no mal de Alzheimer.

Pré-requisito

Para acompanhar melhor esta aula, é interessante que você reveja, na Aula 13, as interações moleculares que mantêm a estrutura terciária de uma proteína.

CANADÁ CONFIRMA NOVO CASO DE VACA LOUCA

“Autoridades canadenses (...), após o aparecimento do confirmaram hoje a presença de primeiro caso de vaca louca. um animal infectado com mal (...) Na indústria de carne da vaca louca em uma fazenda (...) Na indústria de carne da vaca louca em uma fazenda (...) Na indústria de carne da Província de Alberta (oeste (...) Na indústria de carne da Província de Alberta (oeste (...) Na indústria de carne do país). (...) O resultado pode com exportações já chegam a ser uma dor de cabeça a mais US\$ 5,7 bilhões.”

Extraído de:
<http://www1.folha.uol.com.br/folha/dinheiro/ult91u104518.shtml>

para os fazendeiros canadenses que já foram afetados depois que [diversos países] baniram as importações de gado do Canadá

A reportagem que você acabou de ver é real; foi retirada da página da *Folha de São Paulo*, em meio a um número enorme de outras matérias sobre este assunto tão importante na atualidade: o Mal da Vaca Louca (veja o boxe a seguir para saber como acessar essa e outras reportagens).

Por que começar a aula com essa matéria? Para você ter uma idéia de quanto o que você vai aprender hoje é relevante para o mundo todo, e não apenas para a sua formação em Bioquímica.

Contextualizando a minha aula

Para você saber mais sobre um dos males relacionados à formação de agregados supramoleculares que mostramos no início desta aula, temos uma boa sugestão: visite a página da BBC – Brasil (<http://www.bbc.co.uk/portuguese/>) e digite na barra de busca que fica no canto superior direito MAL DA VACA LOUCA. Aparecerão diversas matérias, e apenas um clique pode proporcionar a você uma contextualização mais abrangente sobre o tema da aula de hoje.

Se quiser você pode navegar livremente pelos conteúdos relacionados à Biologia em geral, clique em Ciência & Saúde, o segundo *link* do canto esquerdo da página inicial da BBC – Brasil. Lá você encontrará muitas informações interessantes, por exemplo, sobre avanços da medicina, mudanças climáticas etc. Divirta-se!

AS PROTEÍNAS AMILOIDOGÊNICAS

Você já estudou vários aspectos sobre a estrutura das proteínas, desde sua estrutura primária, representada pela seqüência de aminoácidos, até aspectos relacionados à organização destes aminoácidos no espaço que dá origem à estrutura secundária e terciária das proteínas. Na Aula 14, você viu como as proteínas se dobram e se montam na sua estrutura final, que é aquela em que elas são capazes de executar sua função.

No caso das proteínas fibrosas, você aprendeu que uma grande resistência pode ser adquirida quando, por exemplo, várias hélices se enovelam umas sobre as outras, como no caso do colágeno.

Agora, vamos conhecer um novo aspecto relacionado ao estudo das proteínas; ele é um pouco mais “sombrio” do que aquele que vimos até então. Trata-se das doenças amiloidogênicas e como certas proteínas podem causá-las.

Mas... que doenças são essas? No início desta aula, mencionamos o Mal da Vaca Louca; certamente você também já ouviu falar do Mal de Alzheimer e do Mal de Parkinson. Todos esses males fazem parte de uma classe de doenças ocasionadas pelo mau enovelamento de uma determinada proteína, e são também chamadas amiloidoses.

Este nome, “amiloidose”, lembrou-lhe de amido? De fato, os primeiros estudos feitos com algumas das proteínas envolvidas nessas doenças mostraram a presença de depósitos fibrilares presentes em alguns tecidos ou órgãos (**Figura 17.1**) que, por serem corados por reagentes com iodo, imaginou-se serem constituídos por **AMIDO**. Posteriormente, os cientistas descobriram que esses depósitos fibrilares não eram de amido, mas sim de proteínas. O nome amiloidose, no entanto, permaneceu.

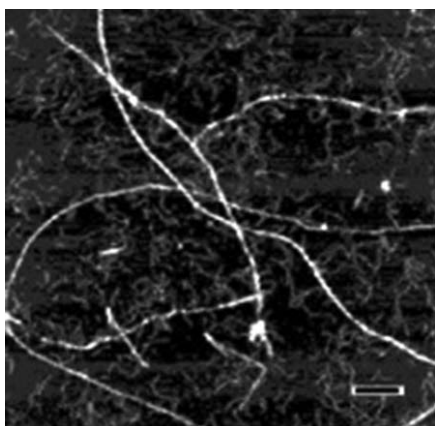


Figura 17.1: Fibra amilóide. A agregação de determinadas proteínas em forma de fibra pôde ser visualizada graças à coloração que essas estruturas supramoleculares assumiam na presença de iodo, a mesma substância utilizada para visualizar o amido produzido como reserva nutritiva pelos vegetais. Por essa característica em comum, os agregados foram batizados de fibras amilóides.

AMIDO

Um açúcar que é sintetizado como reserva de nutriente nos vegetais. Existe em grande quantidade na batata, por exemplo.

Mas, afinal, o que há de especial com este grupo de doenças?

A maioria das doenças existentes é provocada por um agente causador de doença (agente patogênico). Desse modo, a pneumonia é causada por uma bactéria conhecida como *Pneumococcus pneumoniae*; a doença de Chagas é causada por um protozoário conhecido como *Trypanossoma cruzi*; o resfriado é causado por um vírus chamado rinovírus, e assim por diante. Enfim, a grande maioria das doenças, principalmente as contagiosas, é causada por um agente, seja uma bactéria, um protozoário ou um vírus.

Esses agentes possuem material genético na forma de DNA ou RNA. Eles se reproduzem no organismo hospedeiro graças à replicação do seu material genético, conforme você verá na disciplina de Genética.

E no caso das doenças amiloidogênicas? Quem é o agente responsável?

Conforme já mencionamos, essas doenças são causadas por proteínas; o que não dissemos ainda é que as doenças acontecem quando essas proteínas adquirem uma conformação alterada, formam agregados e depósitos fibrilares que causam danos aos tecidos e órgãos onde se acumulam. Veja a **Figura 17.2**:



Figura 17.2: Formação de agregados proteicos e suas consequências. Ao assumir uma conformação incorreta, uma proteína pode sofrer o processo de agregação, formando agregados proteicos, como as fibras amiloides. O acúmulo dessas fibras em tecidos específicos acarreta perda da função do tecido ou órgão que, em alguns casos, leva o indivíduo à morte.

Quando uma proteína assume uma conformação incorreta (quer seja durante o enovelamento ou posteriormente), deixa segmentos de aminoácidos apolares voltados para o lado de fora. Há possibilidade de que esses segmentos se associem uns com os outros, formando agregados protéicos ou fibras, conforme você viu na **Figura 17.2**.

Mas por que isto ocorre?

A resposta tem relação com as propriedades dos aminoácidos apolares, que você viu na Aula 8. Lembra que discutimos que os aminoácidos apolares ou hidrofóbicos não interagem com a água e tendem a se esconder dentro da proteína, ocupando seu miolo? Lembra também que os aminoácidos polares ou hidrofílicos, por interagirem bem com a água, ficam mais voltados para o lado de fora da proteína?

Pois é! Por mecanismos ainda não bem compreendidos, algumas proteínas não se enovelam direito, deixando de fora aminoácidos apolares que deveriam ficar “escondidos” no miolo da proteína. Para esses aminoácidos não ficarem em contato com a água, essas proteínas fazem contato umas com as outras, de modo a “esconder” esses aminoácidos da água. Desta forma, aparecem fibras como aquelas vistas na **Figura 17.1** e representadas na **Figura 17.2**.

Um dos aspectos mais surpreendentes dessas doenças, principalmente no que diz respeito às chamadas **ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISSÍVEIS** (e aqui se incluem a doença da Vaca Louca, que acomete as vacas, e um grupo de doenças que acomete o homem, dentre as quais uma doença de nome estranho – Creutzfeldt-Jakob), é que elas são contagiosas. É, isso mesmo! Se uma proteína que se enovela errado e forma fibrilas amilóides em um organismo, for introduzida num organismo saudável, pode levar este indivíduo ao estado enfermo. E aí está a surpresa, pois é possível termos contágio sem haver um microorganismo ou um material genético envolvido. Apenas uma proteína mal enovelada!

ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISSÍVEIS

Esse é o nome técnico do grupo de doenças no qual se inclui a Doença da Vaca Louca. Essas doenças (em latim = *patia*) afetam uma região do cérebro chamada encéfalo, fazendo com que o tecido apresente um aspecto esponjoso.

E foi assim que a vaca ficou louca...



A doença da Vaca Louca já dizimou mais de 150.000 cabeças de gado na Grã-Bretanha desde 1985, quando teve início uma grande epidemia desta doença. Ela é causada pela agregação de uma proteína chamada prion ou PrP (*prion protein*).

A PrP é uma proteína encontrada na membrana das células, em especial dos neurônios. A função exata que ela exerce nos organismos ainda é desconhecida, mas sabe-se que aves, répteis e mamíferos a possuem.

Sabe-se também que esta proteína, quando presente na membrana, possui um alto conteúdo de α -hélices e um baixo conteúdo de folhas β . Nesta conformação não patogênica, a proteína do prion é conhecida como PrP^C, onde C quer dizer “celular”.

Entretanto, por um mecanismo ainda não completamente elucidado, esta proteína sofre o que chamamos mudança conformacional, isto é, sua conformação muda. Tal mudança de conformação dá origem a uma proteína PrP com alto conteúdo de folhas β e um baixo conteúdo de α -hélices.

Nesta conformação, a proteína do prion é patogênica, e é conhecida como PrP^{Sc}, onde SC quer dizer *scrapie* (em inglês, que significa “que se arranha”, por esses animais passarem a se arranhar nas cercas de arame farpado do lugar onde vivem). Como consequência da alteração na estrutura, esta nova forma da proteína apresenta grande propensão em formar fibrilas, como as mostradas na **Figura 17.1**. Estas fibras se acumulam no cérebro, causando danos ao funcionamento deste tecido. O cérebro fica com aspecto esponjoso e, por isso, essa doença também é chamada encefalopatia espongiiforme, que pode acometer não só bovinos (encefalopatia espongiiforme bovina), mas também humanos (veja mais à frente o boxe Maluco nada beleza). Por esse motivo, diversos países da Europa, nos últimos anos, têm diminuído o consumo de carne de vaca. Isso tem causado graves problemas em diversos países exportadores desse alimento, como o Canadá, conforme você viu no início dessa aula. A doença da Vaca Louca influencia desde de o cardápio das pessoas até a política e as relações comerciais internacionais.

E como começou este tipo de doença?

O que os pesquisadores imaginam é que as vacas adquiriram esta doença a partir de ovelhas doentes. As ovelhas também desenvolvem um tipo de encefalopatia espongiiforme conhecida como *scrapie* (já que as ovelhas também ficam se roçando nas cercas quando doentes).

Especula-se que o contágio tenha iniciado devido ao fato de as vacas, na Inglaterra, serem alimentadas uma ração enriquecida com uma farinha preparada com vísceras de ovelhas. Ovelhas acometidas pelo *scrapie* teriam sido utilizadas inadvertidamente no preparo da ração. As vacas, ao comerem a ração contaminada, adquiriram a doença.

É provável que, neste ponto da aula, você esteja se perguntando qual é o mecanismo molecular de transmissão desta doença, uma vez que não há material genético envolvido no processo. Vários cientistas também se fizeram essa pergunta e tentaram respondê-la por meio de experimentos.

Existem evidências experimentais que indicam que as ovelhas afetadas por *scrapie* possuem suas proteínas do prion na conformação rica em folhas β , ou seja, a conformação patogênica PrP^{Sc}. Esta conformação alterada, ao entrar em contato com a proteína celular PrP^C presente no cérebro de vacas saudáveis, causaria uma mudança conformacional nesta última, convertendo-a na forma PrP^{Sc} (**Figura 17.3**).

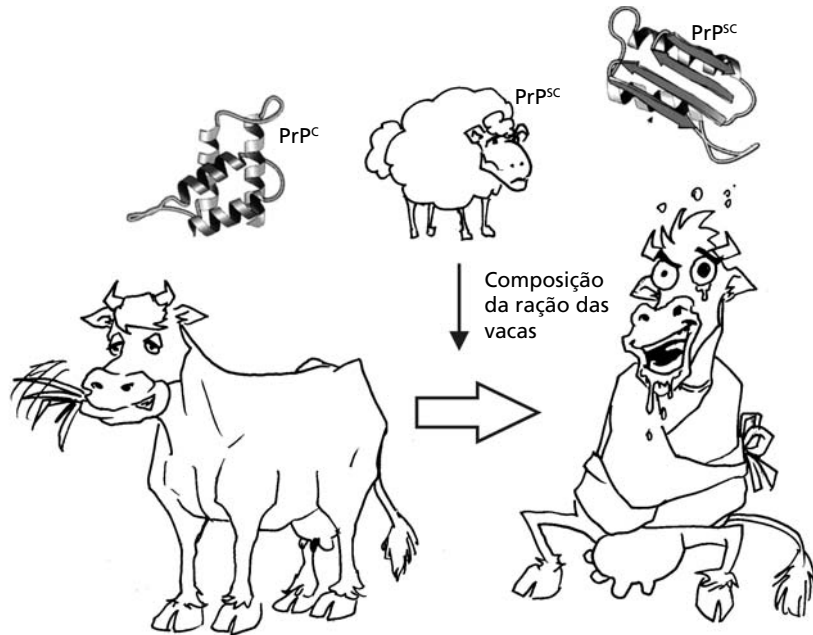


Figura 17.3: E foi assim que a vaca ficou louca! Os cientistas acreditam que vacas normais (que sintetizavam prion PrP^C) passaram a produzir a proteína prion na forma alterada (PrP^{Sc}) por causa da ração que ingeriam, rica em vísceras de ovelhas que produzem prion *scrapie*. As duas proteínas prion são completamente diferentes na sua estrutura: a PrP^C apresenta alto conteúdo de α -hélices, ao passo que a PrP^{Sc} apresenta muitas folhas β .

Maluco nada beleza...

Existem quatro doenças raras que afetam os homens e que são causadas por mudanças conformacionais na proteína PrP, as quais podem ser desencadeadas, por exemplo, pela ingestão da carne de animais acometidos por encefalopatia espongiforme. Assim como nos animais, o sistema nervoso é afetado.

Sintomas? Demência, perda de memória, mudança de personalidade e ocorrência de alucinações. O indivíduo afetado passa a apresentar também dificuldades para falar, disfunções de equilíbrio e coordenação motora. Indivíduos acometidos por essas doenças podem morrer em semanas, no máximo em poucos meses.

Já se conhecem algumas mutações na proteína PrP^C que favorecem sua conversão em *scrapie*. Esse já é um passo importante na busca de estratégias que possam evitar a morte de um indivíduo por encefalopatia espongiforme.

A partir do estudo destas doenças, a Biologia moderna deparou-se com um problema novo, até então sem precedentes, que é um grupo de doenças transmissíveis em que não há um patógeno convencional como agente responsável, mas sim uma simples proteína. Ao sofrer uma alteração de conformação, esta proteína passa da forma celular e inofensiva para a forma patogênica e deletéria. Você já tinha imaginado que uma estrutura tão “ingênua” como uma proteína poderia causar tantos problemas?

Aliás, se você acha que os prions são as únicas proteínas que causam doenças neurodegenerativas... aguarde até ver o que vem depois de você realizar a Atividade 1!



ATIVIDADE

1. Cada um com seu cada qual!



Foto: Wendy Domeni

<http://www.sxc.hu/photo/821526>

Leia o trecho a seguir:

Comissária quer que UE investigue carne do Brasil

A comissária europeia de Agricultura, Mariann Fischer Boel, pediu que a União Europeia (UE) realize uma investigação "efetiva e convincente" sobre os padrões sanitários da carne bovina que o Brasil exporta ao bloco, em resposta a críticas feitas por uma organização agrícola europeia. (...) acredita-se que parte dos envios (de carne do Brasil) procedem de zonas restringidas devido à febre aftosa.

Fonte: página da BBC Brasil, em http://www.bbc.co.uk/portuguese/reporterbbc/story/2007/07/070710_carnebrasil_uerg.shtml

O trecho que você acabou de ler mostra a preocupação dos importadores com a qualidade da carne que nós exportamos. Isso porque, embora não tenhamos um histórico da presença do Mal da Vaca Louca no nosso gado, temos uma parte dos animais acometida pela febre aftosa.

A febre aftosa é uma doença contagiosa, causada por um vírus. Provoca aftas (ferimentos) na boca, língua, narinas e, entre outros, nas patas dos animais (daí seu nome em inglês ser *Foot and Mouth Disease* – Doença do pé e da boca, em português). Além das aftas, ocorrem perda de apetite, baba excessiva, tremores, ranger de dentes, tonturas etc.

a. Diferencie as duas doenças de acordo com seus agentes causadores:

	Agente causador
Doença da Vaca Louca	
Febre Aftosa	

b. Descreva o agente causador da Doença da Vaca Louca e como ele causa a doença. Mencione em sua resposta:

- a localização deste agente no animal;
- os nomes que esse agente recebe quando causa a doença e quando não causa;
- como um animal fica doente;
- as diferenças entre as estruturas desse agente quando ele causa a doença e quando ele não causa;

RESPOSTA COMENTADA

Embora a maior parte das atenções quanto às doenças que acometem gado tenha se voltado para a Doença da Vaca Louca, há diversas outras que também merecem atenção, inclusive a Febre Aftosa. Diferentemente da Doença da Vaca Louca, que é causada por uma proteína que se enovela de maneira incorreta – a proteína prion –, a febre aftosa é causada por vírus; sobre eles, aliás, conversaremos na próxima aula.

O prion é uma proteína que existe nas membranas das células nervosas, e não se sabe muito bem qual é a sua função. O que se sabe é que a estrutura dessa proteína é rica em α -hélices e pobre em folhas β . Nessa conformação, ela não causa mal algum ao animal e é chamada de proteína prion celular (PrP^C). Por algum motivo – que os cientistas desconhecem até agora –, essa proteína pode assumir uma outra conformação, que é rica em folhas β e pobre em α -hélices. Essa conformação anormal (PrP^{Sc}) é capaz de se agregar formando fibrilas que se acumulam no sistema nervoso do animal e causam dano cerebral.

Um animal fica doente a partir do contágio por uma PrP^{Sc}, quando esta entra em contato com a PrP^C – eis a Doença da Vaca Louca, encefalopatia espongiforme transmissível bovina, se você preferir!

A DOENÇA DE ALZHEIMER

Diferentemente das encefalopatias espongiformes transmissíveis, que são bastante raras em humanos, a doença de Alzheimer afeta 25% das pessoas com mais de 80 anos. Isto significa que uma em cada quatro pessoas que atinge 80 anos vai adquirir a doença de **ALZHEIMER**. Já é alarmante o número de pessoas com essa doença nos Estados Unidos. Estima-se que mais de 5 milhões de pessoas estejam afetadas por esta doença. Fique chocado: a cada 72 segundos, mais uma pessoa apresenta Alzheimer nos EUA!

A doença de Alzheimer é fatal e de curso lento. A pessoa acometida pode ficar doente de 2 a 10, às vezes 15 anos. As funções cognitivas são perdidas lentamente, tais como memória, raciocínio, fala, padrão de comportamento etc.

Como ocorre esta doença?

Cortes histológicos (do tecido) do cérebro de pessoas que faleceram de Alzheimer (**Figura 17.3**) mostram a presença de placas que não ocorrem nos cérebros de pessoas que não têm a doença. Estas placas são conhecidas como placas senis.

A presença destas placas no cérebro atrapalha a transmissão do impulso nervoso e, por conseqüência, o bom funcionamento do cérebro. Assim é que aparecem os sintomas que você viu anteriormente.

Nestas placas, encontramos fibras de um peptídeo conhecido como β amilóide, a quem vem sendo atribuída a causa da doença de Alzheimer. Mas... de onde é que ele surge?

Os cientistas já conseguiram descobrir que o peptídeo β amilóide é derivado de uma proteína maior chamada APP (do inglês *amyloid precursor protein* – proteína precursora de amilóide). Esta proteína está presente na membrana de várias células, inclusive na dos neurônios. Sua função precisa ainda é incerta, mas ela parece estar relacionada com o crescimento celular.



**ALOIS ALZHEIMER
(1864-1915)**

Alois Alzheimer, médico alemão, foi o descobridor da doença de Alzheimer, que foi assim batizada em sua homenagem. Ele descobriu essa doença em 1905, quando uma paciente, Sra. August D., deu entrada no hospital onde ele trabalhava, apresentando quadro de demência, perda de memória e alterações de comportamento. Quando essa paciente morreu, ele analisou o tecido do córtex cerebral dela e descreveu a presença de placas senis (que você verá o que é daqui a pouco). Alzheimer morreu em 1915, depois de passar dois anos com uma grande infecção cardíaca e renal, que levou à insuficiência destes dois órgãos.

PROTEASES

São enzimas que quebram as proteínas, gerando fragmentos menores das mesmas.

Pode acontecer de esta proteína ser quebrada (clivada), por exemplo, porque já alcançou o limite do seu “tempo de vida”. Essa quebra da APP acontece pela ação de **PROTEASES** específicas, conhecidas como secretases β e γ . Essas secretases quebram a APP, gerando o peptídeo β amilóide, que é liberado da célula. Se ele for rapidamente metabolizado, não há problemas; se não for, devido à sua alta propensão em agregar, forma fibras, como as que você viu na **Figura 17.1**.

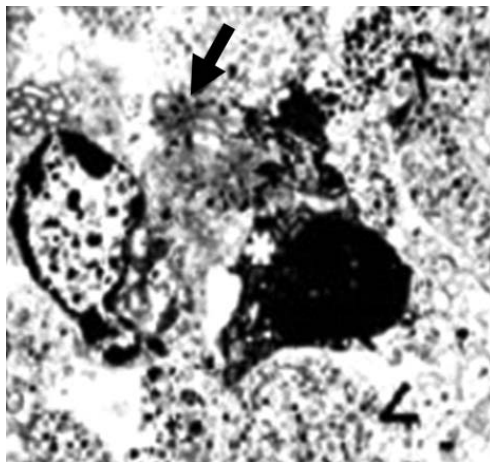


Figura 17.4: Placas senis no cérebro de pessoas acometidas pela doença de Alzheimer. Estas placas são formadas por agregados do peptídeo β -amilóide, e prejudicam o bom funcionamento do cérebro. Nos primeiros estágios da doença, a região relacionada à formação de memória de curto prazo é especialmente afetada. É por isso que pessoas que sofrem de Alzheimer têm dificuldade de se lembrar do que fizeram recentemente. Com o avanço da doença, outras áreas do cérebro são danificadas, incluindo as responsáveis pela fala e compreensão do que se escuta; a memória de longo prazo também é afetada, e uma pessoa com Alzheimer pode morrer sem conseguir reconhecer pessoas próximas e queridas.

Além das fibras, outra característica nociva desse peptídeo é ser neurotóxico, isto é, causar a morte de células nervosas cultivadas em laboratório. Acredita-se que ele também cause a morte de neurônios no organismo.



Embora também seja uma doença que ataque o sistema nervoso central, a doença de Alzheimer não é transmissível, diferentemente das encefalopatias espongiformes transmissíveis.

Infelizmente, não há cura para o Alzheimer. Os cientistas estão adotando algumas estratégias; mais promissora parece ser a descoberta de inibidores para as secretases que geram o peptídeo β amilóide. Os pesquisadores acreditam que, inibindo estas secretases, não haja formação do peptídeo e, com isto, a doença não progrida.

Por enquanto, o máximo que temos à disposição são alguns medicamentos aprovados pela FDA (*Food and Drug Association* – órgão norte-americano que testa os medicamentos e os considera aptos ou não

para a comercialização), que atuam minimizando os sintomas da doença. Esses medicamentos atuam basicamente em duas frentes:

1. minimizando distúrbios de comportamento, como surtos de agressividade ou de depressão, alucinações, dentre outros. Nessa linha, temos os antidepressivos, os **ANSIOLÍTICOS** e os antipsicóticos (que evitam os surtos e alucinações);

2. tentando contornar disfunções cognitivas, como perda de memória, incapacidade de prestar atenção em algo, dificuldade de expressão (fala). Nessa direção, temos remédios que controlam mensageiros químicos que levam informações de um neurônio a outro (os neurotransmissores).

ANSIOLÍTICO

Remédio administrado ao paciente que tenha distúrbio de ansiedade, o que costuma causar grande agitação e nervosismo.

ATIVIDADE



2. Trovão Distante...

Trovão Distante – por Pete

(...) eu estava deitado na cama assistindo televisão, mudando de canal sem achar nada de interessante para assistir.

Três dias antes, eu fiz 57 anos, e anotei no meu diário:

Deus, como posso estar tão velho! Isso parece ser impossível, embora eu venha me sentindo bastante cansado...

Mudando de canal, me deparei com um programa começando, chamado Explorando o início do aparecimento da Doença de Alzheimer. O apresentador exibiu alguns dos problemas que eu tinha começado a experimentar: por exemplo, não lembrar onde as coisas estavam na cozinha, em que armário ou gaveta eu as guardava.

Desliguei a televisão, respirei fundo algumas vezes, fechei meus olhos, fui para o sofá e deixei minha mente ficar vazia. Tentei relaxar, não pensar que aquilo pudesse estar acontecendo comigo; mas estava lá, como o som de um trovão distante, à espreita no horizonte. Eu sabia que alguma coisa estava errada, já sentia isso havia algum tempo (...).

Tentei visualizar meus parentes e minha vida com eles, o crescimento da minha família... Era tudo confuso e vago (...).

Fonte: http://www.alz.org/living_with_alzheimers_8895.asp



O que você acabou de ler é a tradução de um trecho de um depoimento retirado da página da Associação Norte-americana de Alzheimer. Se você tivesse de explicar para Pete (o autor deste depoimento) o que está acontecendo dentro do cérebro dele para que esses sintomas tão desagradáveis se manifestem, o que você diria? Mencione em sua resposta o agente causador da doença, como ele é originado e que tipo de estruturas forma no cérebro do indivíduo doente.

Que agente causa a doença?	
Como esse agente é originado?	
Que tipo de estruturas são formadas no cérebro do indivíduo doente?	

RESPOSTA COMENTADA

Provavelmente, seu sentimento em relação a esse depoimento é bastante parecido com o nosso – comoção. A doença de Alzheimer priva o indivíduo das suas memórias, das lembranças dos familiares, da capacidade de fazer julgamentos, compreender o que se fala ao seu redor, dentre outros problemas.

Tudo isso acontece porque o cérebro do indivíduo é danificado por aglomerados de um peptídeo, o β amilóide.

O peptídeo β amilóide é originado a partir da quebra de uma proteína, a proteína APP, que existe nas membranas dos neurônios. Quando essa proteína é clivada (por secretases), o peptídeo β amilóide é formado; esse peptídeo tem grande propensão a formar agregados, e é isso o que acontece. Formam-se fibrilas desse peptídeo, que se acumulam no cérebro e dão origem, em estágios avançados da doença, às placas senis, que são verdadeiros buracos no cérebro do paciente. As conseqüências são o comprometimento do bom funcionamento de diversas partes do cérebro, e os sintomas são os que você viu nesta aula e no início desta resposta.

CONCLUSÃO

Ainda não existe tratamento para as doenças causadas pelos prion ou pelo peptídeo β amilóide. Os cientistas têm procurado desenvolver drogas que inibam a formação das fibrilas, visando, com isto, a impedir a progressão das doenças.

Uma conclusão que podemos tirar de tudo o que você viu nesta aula é que estas doenças nos mostram a necessidade de conhecermos muito bem a estrutura e o funcionamento das proteínas. Desta forma, é possível desenhar ou descobrir drogas capazes de impedir o avanço destas doenças fatais e enigmáticas.

ATIVIDADE FINAL



Cada um na sua, mas com alguma coisa em comum...

Esta atividade está dividida em duas partes. É importante que você responda à parte I antes de ler a parte II. Vamos lá?

Durante esta aula, você aprendeu como surgem duas doenças importantes, muito faladas na atualidade: a doença da Vaca Louca e o mal de Alzheimer.

Parte I:

Baseado em tudo o que estudou nesta aula, sua tarefa é encontrar três semelhanças e duas diferenças entre a doença da Vaca Louca e o mal de Alzheimer.

Semelhanças:

1. _____

2. _____

3. _____

Diferenças:

1. _____

2. _____

Parte II:

Independentemente de estarmos nos referindo à doença da Vaca Louca ou ao mal de Alzheimer, sabemos que essas patologias são causadas por proteínas/peptídeos que se agregam. A pergunta que desafiamos você a responder é: por que motivo (relacionado à distribuição de seus aminoácidos) essas proteínas se agregam?

RESPOSTA COMENTADA

Parte I:

Para responder a essa parte da atividade, você pode ter pensado que ambas as doenças:

- não são causadas por agentes que tenham material genético e sejam capazes de se replicar;
- são causadas por agentes de natureza protéica;
- são causadas por agregação desses agentes;
- são causadas por moléculas que existem no corpo em condições normais, só que com outra estrutura;
- atingem um grande número de indivíduos, independentemente da espécie;
- atacam o sistema nervoso central;
- são doenças neurodegenerativas;
- não têm cura;
- levam à morte.

Embora apresentem todas essas semelhanças, há diferenças importantes entre elas:

- atingem organismos de espécies diferentes;
 - uma é causada por uma proteína inteira que sofreu enovelamento incorreto, ao passo que a outra é causada por um peptídeo que é gerado pela quebra de uma proteína, a APP;
 - o Mal de Alzheimer não é transmissível, a Doença da Vaca Louca é.
- Se você pensou algo que não esteja listado aqui, não deixe de procurar seu tutor e mostrar sua resposta!*

Parte II:

Se você prestou bastante atenção no que dissemos no início desta aula, esta parte da atividade deve ter sido fácil de responder:

Independentemente de ser por enovelamento incorreto (no caso dos PrP^{Sc}) ou por quebra da proteína (no caso do peptídeo β amilóide), acontece agregação porque os resíduos de aminoácidos apolares estão expostos à água!

Em uma proteína enovelada corretamente, os aminoácidos apolares estão confinados ao cerne (miolo) da proteína, onde ficam protegidos do contato com a água, com a qual não são capazes de interagir. Quando esses aminoácidos, por qualquer motivo, são expostos a um ambiente aquoso, eles tendem a formar agregados, a fim de “esconder” os grupamentos apolares da água. É por isso que a proteína prion SC e o peptídeo β amilóide têm grande tendência a formar agregados: para evitar o contato dos seus aminoácidos apolares com a água!

RESUMO

Algumas proteínas, quando sofrem enovelamento incorreto, podem formar estruturas conhecidas como fibras amilóides. Estas fibras têm características particulares, como a capacidade de se agregar, formando os chamados agregados supramoleculares. Dois desses agregados têm grande relevância atualmente: os que causam a doença da Vaca Louca e o que causa o mal de Alzheimer.

A doença da Vaca Louca (encefalopatia espongiforme bovina) é causada por uma proteína conhecida como prion. A proteína prion (PrP) está presente na membrana de células, especialmente de neurônios, e não tem ainda função bem conhecida. Em condições normais, essa proteína é chamada de PrP^C e é constituinte do organismo; em condições patológicas, essa proteína passa a ser chamada de PrP^{Sc} e se agrega no tecido nervoso, causando danos.

O mais surpreendente acerca desta doença é que ela é transmissível e pode afetar, inclusive, seres humanos.

Uma outra doença causada por agregados supramoleculares e que afeta o cérebro é o mal de Alzheimer. Esta doença acomete indivíduos idosos, e seus sintomas são perda de memória, da capacidade de falar e compreender; o Alzheimer não tem cura, e o indivíduo, após alguns anos, morre.

Esta doença é causada pela agregação do peptídeo β amilóide, que é produto da quebra da proteína APP. A agregação leva à formação de fibras amilóides, que danificam o tecido nervoso e levam aos sintomas que já mencionamos.

Ainda não se conhece a cura para ambos os males. Os pesquisadores trabalham para conhecer melhor a estrutura dessas proteínas causadoras das doenças para que possam desenvolver estratégias para bloquear a formação dos agregados.

INFORMAÇÃO SOBRE A PRÓXIMA AULA

Na próxima aula, você verá como se forma mais um agregado supramolecular de grande importância para a Medicina no mundo todo: o vírus.

Até lá!

Quando as proteínas se tornam mais... – parte II: os vírus

AULA

18

Meta da aula

Apresentar a formação de mais uma estrutura supramolecular composta de proteínas, o capsídeo dos vírus, e uma introdução à estrutura e replicação destes patógenos.

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- 1 identificar os elementos que compõem a estrutura de um vírus;
- 2 caracterizar o capsídeo de um vírus;
- 3 identificar a importância das células para o processo de multiplicação de um vírus.

INTRODUÇÃO

Seguindo a linha do que você viu no início da aula passada, também sobre a formação de agregados supramoleculares de proteínas, leia a matéria a seguir:

50% DOS ÓRFÃOS DO BRASIL PERDERAM UM DOS PAIS PARA A AIDS

“O dado faz parte de um estudo lançado pela entidade que avalia o impacto da Aids sobre o mundo do trabalho.

Um dos problemas apontados pela OIT é o de que o crescente número de crianças que crescem sem o apoio dos pais, que morreram por causa da Aids, têm a educação prejudicada e chances menores de conseguir um trabalho de boa qualidade no futuro.

Em todo o mundo, a OIT estima que 15 milhões de órfãos com menos de 18 anos perderam pelo menos um dos pais por causa da Aids. (...)”

Extraído de:
http://www.bbc.co.uk/portuguese/noticias/story/2004/07/040709_aidsebc.shtml

PATÓGENO

Agente causador de doença.

Chocante, não? É por isso que dedicamos uma aula inteira para falar um pouco sobre a estrutura dos vírus e outra para você acompanhar, por meio de um estudo dirigido, como é o processo de entrada deste **PATÓGENO** em uma célula. Vamos lá?

OS VÍRUS

Certamente, você já ouviu falar em algumas das doenças a seguir:

- AIDS (HIV)
- Hepatites
- Catapora
- Herpes
- Caxumba
- Poliomielite
- Dengue
- Rubéola
- Enterites (rotavírus)
- Raiva
- Febre amarela
- Sarampo
- Gripe (*influenza*)
- Varíola

O que elas têm em comum? O fato de serem causadas pelo mesmo tipo de patógeno – o vírus. Mas... o que são os vírus e como eles podem causar tantas doenças?

Os vírus são estruturas incapazes de se replicar por conta própria. Para se multiplicarem, eles precisam entrar em uma célula, chamada célula hospedeira, que lhes fornecerá tudo aquilo de que precisam para se propagarem: as enzimas envolvidas no processo e os suprimentos energéticos para o seu acontecimento. Somente quando os vírus atingem o interior das células é que podem replicar seus genes e produzir uma numerosa prole.

Assim, a perpetuação dos vírus na natureza depende de sua capacidade de infectar alguns tipos celulares.

Desde a sua entrada até o momento em que o vírus deixa a célula, uma série de eventos acontecem; esses eventos dependem do tipo de vírus que está infectando e da célula que está sendo infectada. A combinação entre esses dois quesitos é que faz com que tenhamos uma quantidade tão grande de doenças causadas por vírus. Essa combinação, inclusive, é diretamente influenciada pela existência de enorme quantidade de vírus diferentes. Acha que estamos exagerando? Observe a **Figura 18.1**.

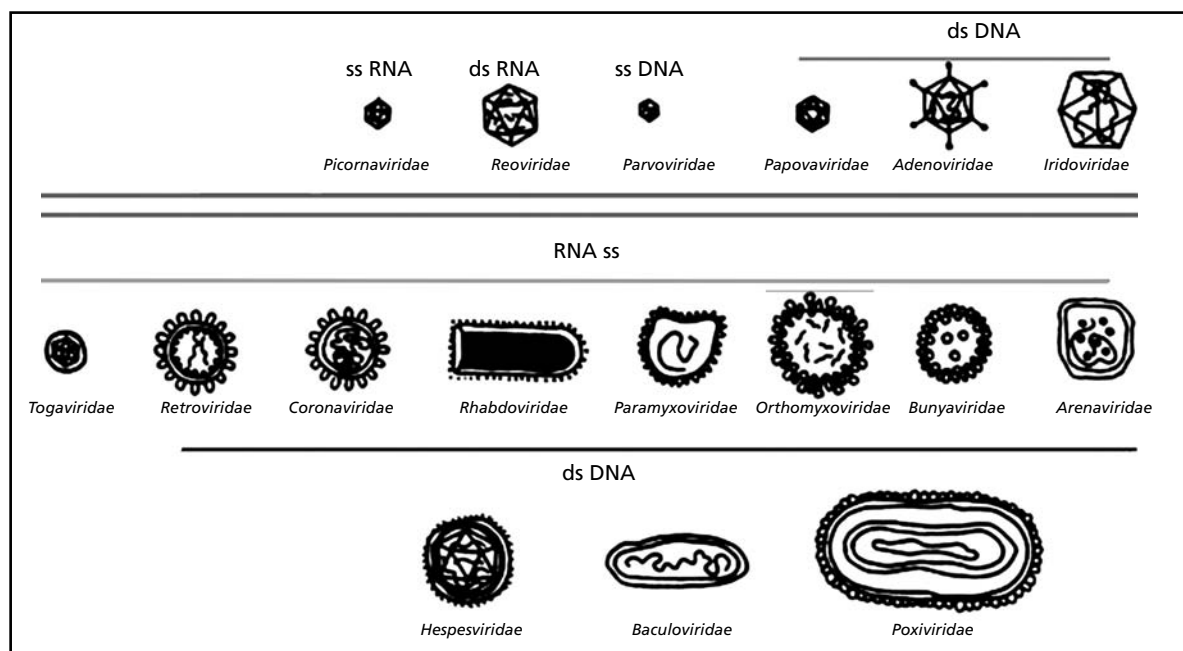


Figura 18.1: Diversidade estrutural dos vírus. Os vírus podem apresentar, como material genético, tanto DNA quanto RNA, mas nunca os dois ao mesmo tempo. Ao contrário do que acontece nos demais organismos, nos quais o genoma é sempre DNA, nos vírus os dois materiais genéticos (DNA e RNA) podem compor o genoma e se apresentar em dupla fita (ds) ou fita simples (ss). Você pode ver exemplos de vírus que possuem cada tipo de genoma na parte superior da figura. Como se não bastasse, ainda podemos ter vírus que levam ou não consigo uma parte da membrana da célula hospedeira ao sair de dentro dela depois da replicação. Estes são os vírus envelopados.

O que você acabou de ver na figura definitivamente não foram todos os vírus que existem, mas todos os tipos de vírus que existem. Eles estão agrupados, nessa figura, de acordo com suas características estruturais, que apresentam grande variação quanto ao tamanho, forma e composição.

Eles são formados por um material genético, que pode ser tanto DNA ou RNA, em fita dupla ou simples. Este material genético, chamado *genoma viral*, é o que carrega as informações necessárias para que de um vírus possam ser feitos muitos outros. Não há vantagens especiais em ter um ou outro tipo de genoma; a existência de vários tipos proporciona aos vírus uma diversidade maior e, conseqüentemente, maior dificuldade de defesa para os organismos que eles infectam.

Quando um vírus entra em uma célula, ele faz com que toda a célula trabalhe em função da sua replicação em uma enorme prole viral. É o genoma do vírus que informa para a célula quantas cópias de cada proteína e de cada novo genoma devem ser sintetizadas para formar os novos vírus.

Mas... proteínas? É isso mesmo: o genoma viral não é a única parte da estrutura dos vírus. Existe uma estrutura composta por proteína(s) que protege esse genoma e permite que ele permaneça longos períodos de tempo fora de uma célula. Essa estrutura protéica é chamada capsídeo.

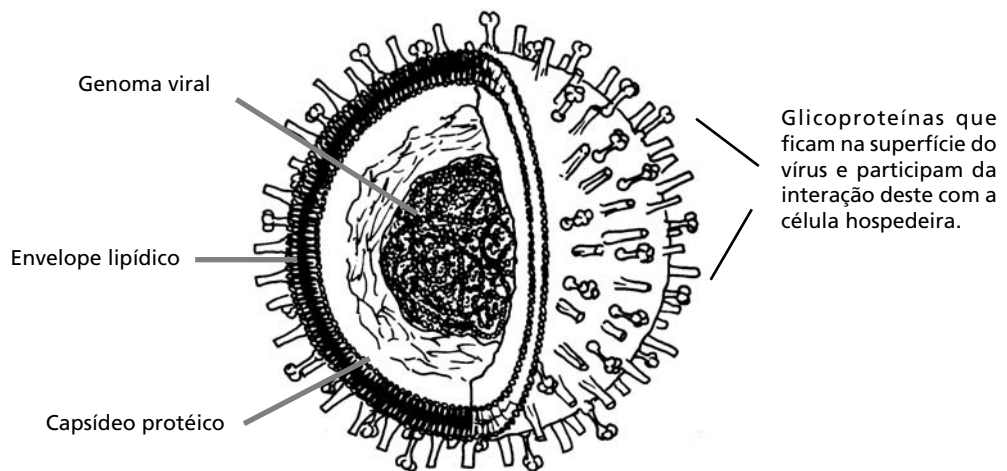


Figura 18.2: Representação de um corte da estrutura de um vírus envelopado. O genoma viral fica confinado dentro do capsídeo protéico. Esse capsídeo é recoberto por um envelope lipídico que o vírus ganha ao sair da célula em que se replicou. Neste envelope, há glicoproteínas que orientaram a saída do vírus por uma região específica da célula hospedeira e que vão participar da entrada do vírus em uma outra célula.

O capsídeo protege o ácido nucléico de possíveis danos ou degradação. São estruturas extremamente estáveis enquanto os vírus se encontram no meio extracelular. No entanto, ao entrarem em contato com a célula hospedeira, os capsídeos virais devem se desestabilizar, permitindo a exposição do genoma ao meio intracelular, onde ele será replicado, transcrito e traduzido (os mecanismos envolvidos nesta mudança de estabilidade são o tema de nossa próxima aula).

O capsídeo protéico do vírus pode ou não ser envolvido por uma membrana lipídica, chamada envelope. Esse envelope é, na verdade, um pedaço da membrana plasmática da célula hospedeira, que o vírus carrega consigo na hora em que vai sair da célula. Difícil de visualizar? Veja a figura a seguir:

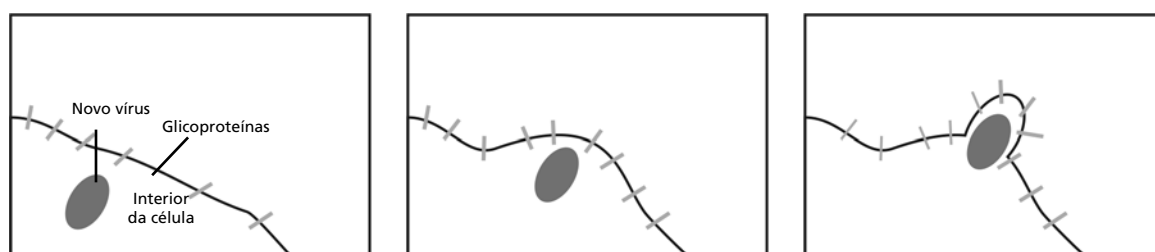


Figura 18.3: Vírus saindo de dentro da célula hospedeira, por brotamento. Na membrana da célula, há glicoproteínas que foram sintetizadas a partir do genoma viral. Essas glicoproteínas precisam estar na superfície dos novos vírus, pois participam da infecção de novas células. Os vírus recém-montados migram para uma parte da membrana da célula onde estão essas glicoproteínas que foram sintetizadas e saem da célula por essa região, envolvidos por um pedaço da membrana da célula – o envelope lipídico.

O vírus que acabou de ser produzido no interior da célula hospedeira “ganha” esse envelope na hora em que vai deixar essa célula. Quando o vírus já está montado no interior da célula (genoma viral dentro do capsídeo), ele se direciona para uma parte específica da membrana da célula.

Essa parte específica da membrana por onde os vírus saem da célula apresenta em sua superfície **GLICOPROTEÍNAS** codificadas pelo vírus (ou seja, que ele “mandou” a célula sintetizar), e são essas proteínas que direcionam o vírus para sair da célula exatamente naquele ponto da membrana dela.

GLICOPROTEÍNAS

Proteínas que apresentam carboidratos (açúcares) ligados à sua estrutura.

Resumindo, os vírus são compostos por um genoma englobado por um capsídeo protéico que pode estar envolvido por um envelope lipídico (se o vírus for do tipo que sai da célula por brotamento).

Da "formiga" ao "elefante"!



Os menores vírus conhecidos, os vírus satélites, possuem diâmetro de 18 nm, apresentando apenas um gene. Estes vírus são tão simples que só podem se replicar caso infectem uma célula juntamente com outro vírus. Já outros vírus, como o **BACTERIÓFAGO T4**, os **rabdo**vírus (como o vírus da raiva) e os **po**xvírus (como o vírus da varíola), apresentam mais de 200 nm e uma complexa estrutura genômica, que pode chegar, no caso dos **po**xvírus, a mais de 200 genes.

BACTERIÓFAGO

Vírus que infecta bactérias.

Embora a **Figura 18.1** tenha separado a diversidade viral de acordo com o genoma desses patógenos, essa não é a única classificação de vírus que podemos fazer. Há outras; dentre elas a que leva em consideração a estrutura do capsídeo do vírus. Sobre isso, você aprenderá logo após realizar a Atividade 1!



ATIVIDADE

1. Como é um vírus?

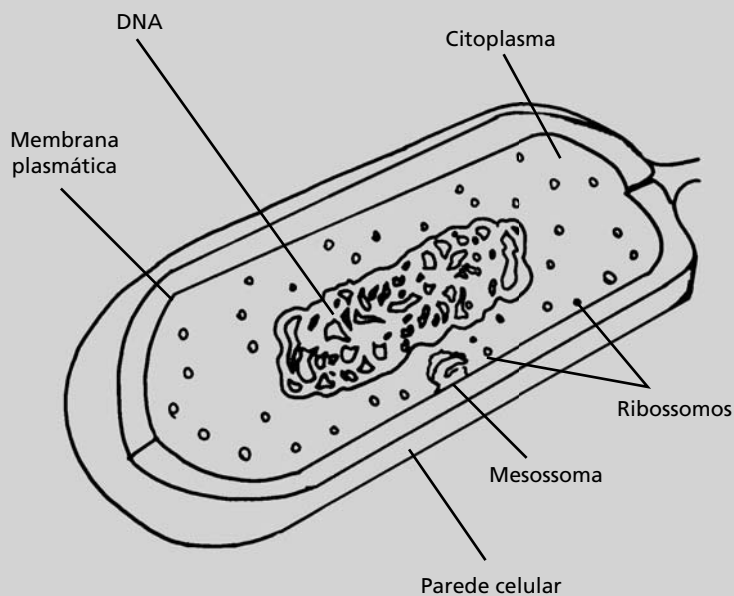


Foto: Josh Armstrong

Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/296655>

Quando vemos uma pessoa com os olhos vermelhos e irritados, é possível que estejamos diante de alguém com conjuntivite. A conjuntivite é uma irritação da conjuntiva, uma membrana que recobre o olho e a parte interna da pálpebra. Pode ser causada tanto por um vírus quanto por uma bactéria.

Imagine que a pessoa da foto tenha sua conjuntivite causada pelo seguinte patógeno:



a. Você diria que ela está com conjuntivite viral ou bacteriana?

() Viral () Bacteriana

b. Diga uma estrutura que você vê nesta imagem e que poderia estar presente tanto em um vírus quanto em uma bactéria;

c. Qual é a estrutura cuja ausência indica claramente que estamos diante de um patógeno, e não de outro. Qual é a composição dessa estrutura e qual a sua função?

RESPOSTA COMENTADA

A pessoa da foto, definitivamente, está com uma conjuntivite bacteriana. Isso porque, na imagem do agente causador da doença, há estruturas que não pertencem à composição de um vírus, como você acabou de estudar: parede celular, mesossoma, ribossomos e citoplasma.

Um elemento que você poderia, inicialmente, confundir é o DNA. Isso porque esse material genético, encontrado em bactérias, pode ser encontrado em alguns vírus também. Além disso, na figura há uma membrana plasmática, o que também poderia tê-lo deixado em dúvida – afinal, alguns vírus podem ser compostos também por um envelope lipídico, que nada mais é do que um pedaço da membrana plasmática da célula em que ele se replicou. No entanto, as outras estruturas que acabamos de listar no parágrafo anterior descartariam a possibilidade de estarmos diante de um vírus.

Da estrutura representada na imagem, outro elemento que nos faz descartar a possibilidade de ser um vírus é o fato de ele não ter um capsídeo. O capsídeo é uma estrutura composta por proteínas e que tem como função abrigar o genoma viral em seu interior, protegendo-o de degradação e possíveis danos às informações que esse genoma contém.

Realizando esta atividade, você acabou de identificar os elementos que compõem a estrutura de um vírus!

COMO SÃO OS CAPSÍDEOS VIRAIS?

A **Figura 18.4** mostra imagens de vários vírus obtidas por microscopia eletrônica. O que você observa em relação à forma dos capsídeos?

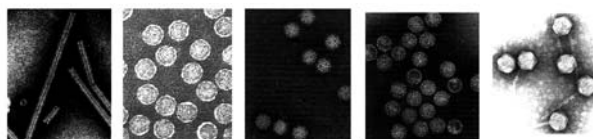


Figura 18.4: Imagens de diversos capsídeos virais obtidas por microscopia eletrônica.

Repare que os capsídeos apresentam forma tubular ou esférica. De fato, vários estudos mostram que os vírus de estrutura conhecida apresentam capsídeos cujas proteínas estão arranjadas simetricamente de forma **HELICOIDAL** (os tubulares) ou **ICOSAÉDRICA** (os esféricos).



Mas... como isso foi descoberto?

Na década de 1950, os estudos de Francis Crick e James Watson (veja o boxe Mistério resolvido – a estrutura do DNA) contribuíram enormemente para a compreensão da estrutura dos vírus. Estes cientistas propuseram que a forma dos capsídeos virais, seja de vírus que infectam animais, seja dos que infectam vegetais ou, ainda, dos que infectam bactérias, consistia em um poliedro regular. E de onde veio essa idéia?

Tudo começou quando eles pensaram que não é possível que um ácido nucléico de tamanho pequeno, como o do vírus, codifique uma proteína grande o bastante para envolvê-lo e protegê-lo. Assim, o capsídeo deve ser formado por muitas cópias de uma mesma proteína ou de poucas proteínas diferentes (isso permite que os vírus se formem mesmo tendo um genoma pequeno, ou seja, que não tem comprimento suficiente para conter um grande número de genes).

Mistério resolvido – a estrutura do DNA

Francis Crick e James Watson são dois dos mais conhecidos cientistas da História. Isso porque esses dois pesquisadores elucidaram um problema que há muito era investigado sem sucesso: a estrutura do DNA. Foram eles que propuseram a hipótese de que o DNA se organizava em uma hélice dupla, com uma seqüência entrelaçando-se na outra. Essa descoberta foi publicada, em 1953, em uma das mais conceituadas revistas científicas (*Nature*), em um artigo que tinha apenas uma página, não mostrava nenhum experimento feito por eles e somente discorria sobre a hipótese da dupla hélice, que estava correta. Isso rendeu aos dois o prêmio Nobel de Medicina em 1962. O que poucas pessoas sabem é que esse prêmio, na verdade, foi dividido por três.

Havia um outro cientista, Maurice Wilkins, que comprovou que Watson e Crick estavam certos, visualizando a estrutura do DNA por difração de raios X. A descoberta da estrutura simétrica dos vírus veio logo em seguida, mais por influência de Watson, que há alguns anos trabalhava com esse tipo de patógeno. Mais uma curiosidade sobre eles: a despeito de o prêmio ser de Medicina, nenhum deles é médico! Crick e Wilkins são físicos e Watson é zoólogo. Se você tiver um pouco de conhecimento de língua inglesa e quiser saber mais sobre o assunto e ver as fotos desses pesquisadores, é só visitar a página do prêmio Nobel de 1962 em http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1962/index.html.

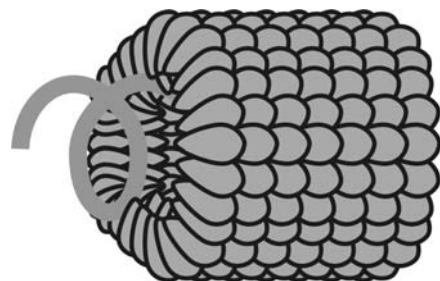
Uma particularidade importante da montagem do capsídeo é que as subunidades protéicas devem se reconhecer com precisão e interagir (por interações não-covalentes, ou seja, pontes de hidrogênio, interações hidrofóbicas etc.). Afinal, o capsídeo têm de se montar espontaneamente dentro da célula a partir de seus componentes individuais.

Subunidades idênticas arranjadas que se reconheçam da mesma maneira levam à ocorrência de estruturas de simetria, uma vez que padrões repetidos de partes idênticas levam a uma estrutura final simétrica. Assim, os capsídeos virais consistem em estruturas formadas por subunidades simetricamente arranjadas. Hoje sabemos que essas estruturas simétricas são hélices ou poliedros.

Os vírus que apresentam simetria na forma de hélice são os de forma tubular. A estrutura deles foi elucidada a partir de estudos com o vírus do mosaico do tabaco (TMV – um vírus que ataca essa planta de grande interesse econômico) e, hoje em dia, sabe-se que é a mesma para vírus como o da raiva, por exemplo.

Os pesquisadores viram que várias unidades de uma mesma proteína se organizavam ao redor do material genético do vírus, formando uma espécie de capa protetora, na forma de uma hélice bem determinada, ou seja, com o mesmo comprimento e a mesma distância entre as voltas que a compõem (Figura 18.5).

Figura 18.5: Representação do capsídeo de um vírus que apresenta simetria helicoidal. Vírus cujo capsídeo seja formado seguindo a simetria helicoidal tem suas proteínas de capsídeo organizadas em forma de hélice, cujo diâmetro de todas as voltas é o mesmo, assim como a distância entre elas.



Já sobre os vírus que apresentam simetria icosaédrica...

O icosaedro é um poliedro formado por vinte lados idênticos, mais especificamente, vinte triângulos equiláteros. O icosaedro, como todos os objetos simétricos, pode ser subdividido em partes menores, que não são mais simétricas, mas que guardam entre si uma relação de simetria, sendo por isso chamadas de *unidades assimétricas* do icosaedro. O número de unidades assimétricas presentes no icosaedro é de sessenta, uma vez que cada face triangular (1/20 do icosaedro) pode ser dividida em três partes simetricamente relacionadas (Figura 18.6).

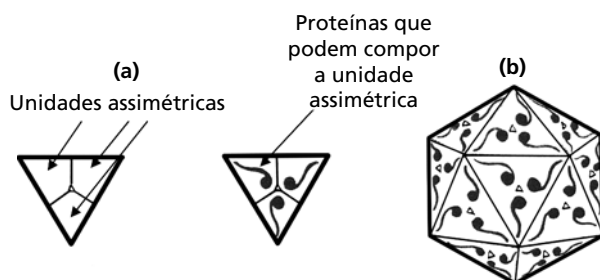


Figura 18.6: Divisão da superfície de um icosaedro em unidades assimétricas. Um icosaedro possui 20 faces triangulares e (a) cada uma dessas faces é dividida em três unidades assimétricas. Em (b), você vê essas três proteínas (no caso dos vírus) simetricamente relacionadas e posicionadas em cada face do icosaedro.

Como as proteínas são estruturas assimétricas, o número máximo de subunidades protéicas presentes em um capsídeo viral icosaédrico deveria ser 60, número de unidades assimétricas do icosaedro. Entretanto, um capsídeo formado por 60 subunidades de uma proteína de 300 aminoácidos teria uma cavidade interna com aproximadamente 80 Å, que poderia conter um ácido nucléico de fita simples com apenas 3 kb. Pouquíssimos vírus apresentam uma estrutura como essa. Como exemplos, podemos citar os parvovírus, que possuem um capsídeo formado por 60 cópias de uma proteína de 520 aminoácidos, cujo gene ocupa 1/3 do genoma viral; ou o satélite do vírus da necrose do tabaco, que possui 60 cópias de uma proteína de 195 aminoácidos mas não é auto-suficiente, ou seja, precisa infectar a célula hospedeira juntamente com outro vírus, para poder se replicar.

A grande maioria dos vírus icosaédricos apresenta número de subunidades maior do que sessenta, mais especificamente, múltiplos deste número, ou seja, mais de uma proteína forma a unidade assimétrica do icosaedro. Isso possibilitou a formação de capsídeos maiores, que podem englobar genomas também maiores.

A estrutura icosaédrica para os capsídeos virais foi comprovada por outro cientista, chamado Paul Kaesberg, também na década de 1950. Foi esse cientista que refutou a idéia de que alguns vírus eram esféricos e, analisando estudos de microscopia com sombreamento, difração de raios X e microscopia eletrônica (Figura 18.7), propôs que os vírus ditos “esféricos”, estudados até então, na verdade eram icosaédricos, o que posteriormente se tornou evidente para todos os capsídeos protéicos dos vírus “esféricos”.



Dois princípios básicos governam o arranjo das proteínas nos capsídeos virais:

- 1) o da economia genética – os vírus são formados por poucos tipos protéicos (o que faz com que um vírus que tenha poucos genes seja capaz de dirigir a síntese de seu capsídeo);
- 2) o da especificidade – as proteínas virais apresentam alta capacidade de reconhecimento umas das outras. Assim, as muitas unidades de uma mesma proteína viral, sintetizadas no citoplasma de uma célula, se reconhecem e podem montar o capsídeo.

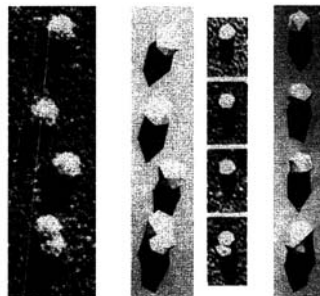


Figura 18.7: Microscopia eletrônica com sombreamento, retirada do artigo publicado por Paul Kaesberg (1956). Esta é uma das figuras do trabalho que mostra os resultados dos experimentos feitos por Kaesberg e que elucidaram a estrutura do capsídeo dos vírus até então ditos “esféricos” – na verdade, eles são icosaédricos!

Talvez você esteja se perguntando por que motivo estamos falando tanto da estrutura do capsídeo dos vírus. Lembra que na aula passada você estudou a relação entre a estrutura e a função da hemoglobina? Agora não é diferente: as proteínas que compõem o capsídeo de um vírus apresentam uma estrutura que possibilita que elas se “montem” de maneira simétrica, para compor essa “capa” que protege o genoma viral.

Ainda sobre relação entre estrutura e função, é importante que você tenha em mente que também há uma relação estreita entre a estrutura do capsídeo e a função que ele exerce. Veja uma pequena introdução sobre esse assunto logo após a Atividade 2!



ATIVIDADE



2. Montando um quebra-cabeça?

O capsídeo de um vírus, como você deve ter descrito na Atividade 1, é uma estrutura formada por proteínas, cuja função é proteger o genoma viral, que fica abrigado em seu interior.

Quando o vírus infecta uma célula hospedeira, é importante que esse capsídeo rapidamente se desestabilize (se desmonte), liberando, no interior da célula, o genoma viral, para que este possa ser replicado e novos vírus possam ser sintetizados.

Considerando que o processo de replicação do genoma viral já tenha sido concluído e que todas as proteínas necessárias à montagem do novo vírus tenham sido sintetizadas, como é que estas proteínas se organizam para montar os capsídeos dos novos vírus? Mencione em sua resposta as duas possibilidades de montagem que você estudou.

RESPOSTA COMENTADA

Tão importante quanto o capsídeo ser capaz de se desmontar rapidamente dentro da célula, para liberar o genoma viral para ser replicado, é que "ele seja capaz de se re-montar" espontaneamente quando o processo de replicação terminar.

A estratégia selecionada para essa montagem acontecer espontânea e eficientemente foi utilizar diversas cópias de uma mesma proteína (ou de poucas proteínas) para compor esse capsídeo. Essas várias cópias de uma proteína têm grande afinidade umas pelas outras e tendem (no citoplasma) a se agregar. Essa agregação acontece de maneira simétrica, e o tipo de simetria vai depender do tipo de vírus.

Alguns vírus organizam seu capsídeo em simetria helicoidal, ou seja, formando uma hélice de proteínas em torno do material genético. Esses são os vírus que apresentam formato tubular, como é o caso do vírus do mosaico do tabaco e o da raiva.

Outros vírus, antigamente chamados esféricos, apresentam simetria icosaédrica, ou seja, organizam suas unidades protéicas de forma que a estrutura final se assemelhe a um icosaedro (um poliedro de 20 lados). Exemplos desses vírus são o vírus da dengue, da AIDS, da gripe (vírus influenza).

A relação entre a estrutura das proteínas virais e a entrada dos vírus nas células hospedeiras

A estrutura das proteínas virais e as modificações da estrutura terciária que essas proteínas podem sofrer (o que é chamado flexibilidade conformacional) permitem aos vírus reconhecer sua célula hospedeira. A ligação dos vírus na célula hospedeira se dá quando acontece a interação das proteínas do vírus com a superfície celular. Essa interação desencadeia uma série de eventos que culminam com a entrada do vírus na célula e com a exposição do genoma viral ao meio intracelular. Como mencionamos no início da aula, os mecanismos envolvidos neste processo variam muito de vírus para vírus.

Na próxima aula, analisaremos o processo de entrada em uma célula de uma importante família de vírus – os picornavírus –, da qual fazem parte vírus de grande importância médica, como:

- Poliovírus – o vírus causador da poliomielite, uma doença que acomete crianças, causando paralisia (também chamada de paralisia infantil);
- FMDV (*Foot and Mouth Disease Virus*) – vírus causador da febre aftosa que, como você viu na aula anterior, é uma doença que acomete o gado;
- Rinovírus – o vírus causador do resfriado comum;
- Vírus da hepatite A – vírus que causa a hepatite A, doença que ataca o fígado e compromete seu bom funcionamento.

Em seguida, você entenderá as estratégias usadas pelos vírus envelopados, aqueles que possuem uma membrana lipídica em volta de seu capsídeo, para atingirem o interior de suas células hospedeiras. Para isso, usaremos como exemplo o HIV, o vírus que causa a AIDS.

Faremos isso realizando um estudo dirigido; por isso, não há uma atividade relacionada a essa última parte da aula.

CONCLUSÃO

Variola, dengue, raiva, poliomielite, sarampo, catapora, hepatite, AIDS. Essas são só algumas das doenças causadas por vírus, e que ajudam a justificar a necessidade de estudar e entender a estrutura desses parasitas e os mecanismos pelos quais eles invadem uma célula no nosso corpo. A compreensão dessa estrutura e desses mecanismos é que nos possibilita desenhar drogas que impeçam o vírus de se multiplicar nos organismos.



ATIVIDADE FINAL

Como os vírus se propagam?

Esta atividade é longa e tem um grau de dificuldade um pouco mais alto – é uma atividade-desafio! Você gastará um tempo maior para realizá-la, mas os ganhos que você terá, ao tentar, serão valiosos. Boa sorte!

Imagine que João trabalha em um laboratório que faz pesquisas com vírus que matam as células após se replicarem. Este laboratório recebeu, em uma semana do período de férias escolares, um grupo de alunos do primeiro ano do Ensino Médio, interessados em entender sobre a multiplicação dos vírus.

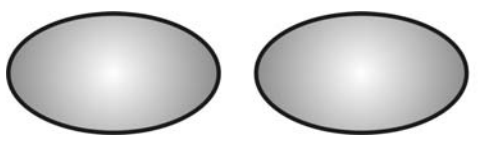
João foi designado para fazer uma experiência com esses alunos.

Eis o que ele fez:

1. Separou quatro placas de petri especiais para cultura de células. Duas dessas placas estavam com células cultivadas no laboratório (106 células por placa; grupo I) e duas estavam apenas com MEIO DE CULTURA (grupo II).

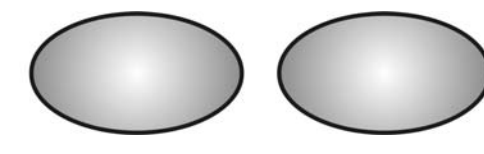
MEIO DE CULTURA

Substância que contém os nutrientes necessários para uma célula crescer em cultura, ou seja, em placas em um laboratório. Essa substância é diluída em água para a colocarmos em contato com as células.



Grupo I – com células

Placas com células cultivadas no laboratório, em meio de cultura



Grupo II – sem células

Placas com meio de cultura apenas

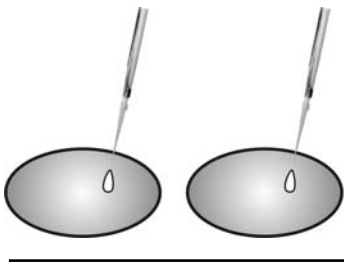
2. Selecionou uma dentre as amostras de vírus que tinha guardadas e dividiu-a em quatro alíquotas iguais.



Foto: Jean Scheijen

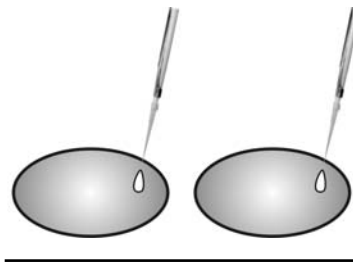
Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/803093>

3. Colocou o conteúdo de cada alíquota em cada uma das placas.



Grupo I – com células

Placas com células cultivadas no laboratório, em meio de cultura

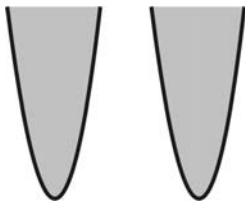


Grupo II – sem células

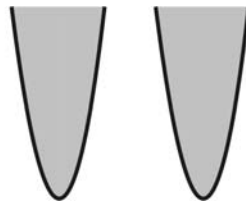
Placas com meio de cultura apenas

4. Esperou algumas horas – prazo de que esse vírus precisava para se replicar.

5. Retirou uma amostra do conteúdo de cada placa e colocou-as em tubos, ainda separadas por grupo.

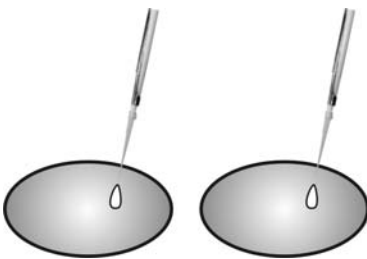


Tubos com o conteúdo que foi coletado das placas do grupo I



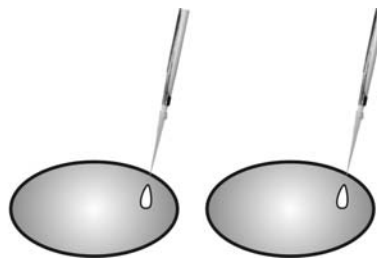
Tubos com o conteúdo que foi coletado das placas do grupo II

6. Colocou uma pequena fração de cada um desses tubos em novas placas, todas com células agora (10^6 células, mesma quantidade usada no passo 1).



Novas placas para o grupo I

Novas placas com células cultivadas no laboratório – receberam uma fração do que foi coletado nos tubos do grupo I



Novas placas para o grupo II

Novas placas, agora com células cultivadas no laboratório – receberam uma fração do que foi coletado nos tubos do grupo II

7. Aguardou mais algumas horas.

8. Observou as placas dos dois grupos em um microscópio.

Foto: Janet Goulden



Resultado obtido para o grupo I:
Todas as células mortas

Resultado obtido para o grupo II:
Todas as células vivas

Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/810369>

A não ser pelo fato de que, inicialmente, o grupo I tinha células e o grupo II não, as condições experimentais a que as placas foram expostas eram exatamente as mesmas durante todo o experimento. Considerando isso, responda: Por que as amostras coletadas das placas do grupo I (no passo 5) foram capazes de matar as células em que foram adicionadas (no passo 6) e as do grupo II não?

RESPOSTA COMENTADA

Esta atividade é longa, e dá trabalho analisar as informações atentamente, mas a sua resposta é simples; para chegar a ela, você precisaria ter em mente uma informação que foi dada no início da aula: os vírus somente são capazes de se multiplicar se infectarem uma célula.

Se você voltar ao passo 5, verá que João adicionou vírus a placas com células (grupo I) e a placas sem células (grupo II). Ora, no grupo I, os vírus encontraram células que eles puderam infectar e se replicar; o mesmo não aconteceu no grupo II.

Quando João coletou amostras dos dois grupos e colocou-as (todas) em placas com células, as amostras do grupo I tinham uma grande quantidade de vírus; ao serem colocados em novas placas, esses vírus se replicaram novamente, matando todas as células presentes. Já as amostras coletadas das placas do grupo II (em que não houve replicação no passo 5) continham uma quantidade muito pequena de vírus, provenientes da adição que João fez no passo 3. Esses poucos vírus não foram capazes de matar todas as células quando foram colocados em contato com elas, no passo 6.

Resumindo, todas as células das placas do grupo II não morreram no passo 6 porque não havia vírus suficientes para matar todas elas. Isso porque, no passo 5, a amostra inicial de vírus utilizada por João não se replicou, pois foi colocada em placas sem células, essenciais para a replicação viral.

RESUMO

Os vírus são partículas formadas por um tipo de ácido nucléico e por um capsídeo protéico que protege o seu material genético. São agentes causadores de diversas doenças, como a varíola, a raiva, a dengue e a AIDS. Os vírus só conseguem se reproduzir se entrarem em uma célula e usarem a maquinaria de replicação do genoma dessa célula para sua própria replicação. Esses parasitas infectam tanto células vegetais quanto animais e apresentam uma enorme diversidade no que se refere:

- ao tipo de material genético que carregam (RNA ou DNA);
- à organização estrutural desse material (fita dupla ou simples);
- à presença de membrana lipídica ao seu redor (vírus envelopados ou não-envelopados);

- à simetria de organização das proteínas do seu capsídeo (helicoidal ou icosaédrica).

Quanto a esse último item, a contribuição de Watson e Crick foi de grande importância. Eles postularam que a estrutura do capsídeo de um vírus deveria ser composta por várias cópias de uma mesma proteína (ou de poucas), uma vez que com o genoma pequeno de um vírus não seria possível codificar uma proteína para cobrir todo o material genético nem muitas proteínas diferentes para essa mesma função. Além disso, essas proteínas precisavam se organizar em um arranjo que fosse favorecido para acontecer espontaneamente no interior da célula. Esses dois requisitos foram a base da proposta da estrutura simétrica dos vírus, tanto da helicoidal (em forma de hélice) quanto da icosaédrica (vírus “esféricos”).

INFORMAÇÃO SOBRE A PRÓXIMA AULA



A próxima aula será um estudo dirigido, para você poder aplicar os conhecimentos adquiridos nesta aula sobre o papel das proteínas virais no processo de infecção.

Sobre as famosas enzimas – parte I: uma introdução

Metas da aula

Apresentar a história da descoberta das enzimas e introduzir os conceitos de funcionamento dessas proteínas.

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

-  definir enzima;
-  caracterizar o papel de uma enzima em uma reação química.

INTRODUÇÃO



Fonte: www.sxc.hu/photo/533310



Fonte: www.sxc.hu/photo/831097



Fonte: www.sxc.hu/photo/850640

Já lhe passou pela cabeça alguma vez o número de reações que devem acontecer no seu corpo durante um dia para que ele funcione corretamente? Começando pelo básico, você se alimenta e precisa digerir e absorver os nutrientes. Isso para, claro, sintetizar moléculas novas no seu organismo. Aliás, falando em sintetizar moléculas novas, quantas delas não precisam ser construídas para que uma única célula possa se dividir? E, falando em divisão celular, quantas células será que se dividem no nosso corpo em um único dia? Imagine, ainda, em um indivíduo em crescimento! Muita coisa? Certamente!

Imagine se todas estas reações acontecessem a seu tempo, sem nenhum “empurrãozinho”? Várias delas demorariam tanto para acontecer que a vida como a conhecemos (bioquimicamente) seria impossível! E é aqui que entram as enzimas, tema da aula de hoje, na qual você vai conhecer a história da descoberta dessas moléculas e iniciar seu estudo sobre o funcionamento delas.

UMA VISÃO HISTÓRICA DA ENZIMOLOGIA

A história das enzimas começa junto com a história da própria Bioquímica, a partir das primeiras investigações acerca da fermentação e da digestão. Vamos começar apontando alguns momentos importantes dessa história.

Podemos considerar que as primeiras observações relacionadas à atividade de enzimas datam do final do século XVIII, quando vários estudos demonstraram que secreções estomacais catalisavam a digestão da carne, o que sugeriu a existência dos **CATALISADORES** biológicos.

No início do século XIX, outras atividades biológicas começaram a ser demonstradas. Em 1810, Joseph Gay-Lussac determinou que a decomposição do açúcar pelas leveduras resultava em etanol (o álcool comercial) e CO₂. Alguns anos depois, Jacob Berzelius mostrou que o extrato de malte conhecido como diastase catalisava a hidrólise do amido de forma muito mais eficiente do que o ácido sulfúrico (um catalisador químico).

Até aquele momento, não se tinha idéia de quais componentes biológicos estavam envolvidos com estas atividades. A dificuldade de se reproduzir, em laboratório, diversas reações bioquímicas levou Louis Pasteur (um pesquisador sobre quem você já leu na Aula 1 desta disciplina) a propor, na metade do século XIX, uma hipótese. Ele disse que a **FERMENTAÇÃO** ocorreria somente em células vivas, que segundo ele possuiriam uma “força vital” responsável pelas transformações observadas. Esta visão, chamada vitalismo, prevaleceu por vários anos. Entretanto, com o passar do tempo, surgiu uma nova corrente de pensamento, que dizia que os processos biológicos ocorriam pela ação de substâncias químicas presentes nas células das leveduras (fungos que realizam fermentação, utilizados no estudo), conhecidas como fermentos.

Em 1878, Frederich Wilhelm Kuhne nomeou como enzimas (do grego *en* – dentro – e *zyme* – levedura) estes fermentos, enfatizando que não eram as leveduras que catalisavam as reações da fermentação, mas sim algo presente dentro delas. Esta teoria foi definitivamente comprovada quando Eduard Buchner, em 1897, mostrou que extratos de leveduras que não continham células inteiras catalisavam a produção de etanol a partir de glicose. O que eram essas enzimas, afinal?

CATALISADORES

Moléculas capazes de acelerar a velocidade de acontecimento de uma reação química.

FERMENTAÇÃO

É o processo pelo qual microorganismos decompõem, na ausência de oxigênio, substâncias orgânicas, como os açúcares. Há alguns tipos de fermentação, como a fermentação láctica e a fermentação alcoólica; na fermentação alcoólica, por exemplo, o microorganismo gera energia para suas atividades e produz gás carbônico (CO₂) e álcool.

URÉIA

Composto produzido no nosso corpo para excretar nitrogênio.

Esta pergunta começou a ser respondida em 1926, quando James Sumner isolou e cristalizou a urease, enzima que catalisa a hidrólise da URÉIA em NH_3 e CO_2 . Ele descobriu que os cristais de urease eram constituídos inteiramente de proteína, e postulou que todas as enzimas eram proteínas.

A proposta de Sumner só se tornou amplamente aceita alguns anos depois, durante a década de 1930, quando John Northrop e Moses Kunitz cristalizaram a pepsina, a tripsina e outras enzimas digestivas. Eles mostraram que todas elas também eram proteínas e, mais ainda, que havia uma relação direta entre a atividade enzimática e a quantidade de proteína presente no cristal.

Durante a segunda metade do século XX, com o desenvolvimento de técnicas modernas de separação e análise de proteínas como as que você aprendeu na Aula 13 (veja o box a seguir), milhares de enzimas foram purificadas e caracterizadas, tendo suas estruturas elucidadas e seus mecanismos de ação determinados. Com exceção de uma pequena classe de RNAs com atividade catalítica (é isso mesmo que você acabou de ler: há RNAs capazes de atuar como enzimas), as enzimas são de fato proteínas.

As primeiras enzimas “vistas”

Como marcos históricos desses avanços podemos citar a primeira determinação da seqüência completa de aminoácidos de uma enzima, a ribonuclease (RNAse) de pâncreas de boi, em 1963, e a determinação por difração de raios X da estrutura da lisozima da clara de ovo, em 1965. Você viu as estruturas dessas proteínas na Aula 13.

CATALISADORES BIOLÓGICOS X CATALISADORES QUÍMICOS

A descoberta das enzimas e da sua natureza química (proteínas) foi muito importante porque, até então, os catalisadores que se conhecia eram químicos. Um catalisador químico é qualquer molécula não sintetizada *in vivo*, isto é, por um organismo. Esse tipo de catalisador apresentava várias limitações que as enzimas não apresentam.

Assim, além da natureza química, as enzimas diferem dos catalisadores químicos em vários aspectos importantes:

- *Rapidez na catálise*: as velocidades das reações catalisadas pelas enzimas são geralmente de 10^6 a 10^{12} vezes maiores do que as das reações não catalisadas e, pelo menos, várias ordens de grandeza maiores do que aquelas catalisadas por catalisadores químicos.

- *Catálise em condições fisiológicas*: as condições nas quais as reações catalisadas por enzimas ocorrem são mais compatíveis com a vida – temperaturas abaixo de 10°C , pressão atmosférica e pH neutro –, enquanto a catálise química geralmente requer temperaturas e pressões elevadas, além de pHs extremos.

- *Alta precisão*: as reações enzimáticas apresentam alta especificidade e dificilmente resultam na formação de produtos não esperados.

- *Possibilidade de controle da reação*: as reações enzimáticas podem ser reguladas por substâncias diferentes de seus substratos. Os mecanismos regulatórios incluem controle alostérico, modificação covalente ou variações nas quantidades de enzima sintetizada (veja o boxe a seguir), como você aprenderá nas aulas de Bioquímica II.

Elas não estão descontroladas!

Imagine se você não pudesse controlar o rádio da sua casa, e ele tocasse música o tempo todo, sem parar? De noite, provavelmente isso seria um incômodo; talvez o fosse também em outras horas do dia. Há momentos para funcionar e para desligar, concorda? Do mesmo jeito acontece com as enzimas. Há momentos em que elas devem catalisar as reações e momentos em que isso não é necessário. Como informá-las? Qual é o botão de liga/desliga das enzimas?

Para “avisar” a uma enzima que ela não deve atuar em determinado momento, nosso organismo possui diversos mecanismos. O mais simples deles é a redução da quantidade de composto disponível para a enzima realizar uma reação. Com menor quantidade da molécula necessária para iniciar a reação disponível, as enzimas tendem a trabalhar em velocidade menor. Você verá isso melhor na próxima aula.

Outra possibilidade é o controle via “etiquetas” químicas, isto é, moléculas que são ligadas à enzima ou ao seu composto de interesse para sinalizar que a reação deve ou não acontecer. Esse tipo de controle é chamado modificação alostérica, e você o verá melhor em Bioquímica II.

Importante agora é saber que, independente do mecanismo utilizado, nossas enzimas não estão descontroladas.



ATIVIDADE



1. Catalisador químico x enzima

Você já viu algum programa de investigação criminal que usasse conceitos científicos para elucidar crimes? Nestes programas, representando o que acontece nas investigações reais, costuma-se usar um composto chamado luminol para identificar vestígios de sangue nas cenas dos crimes. A reação que indica a presença do sangue acontece assim: coloca-se luminol na presença de água oxigenada. Somente se houver sangue no local investigado, o luminol emitirá luz, pois o ferro presente na hemoglobina do sangue acelera a quebra do luminol e podemos ver o produto da reação – a luz.

O luminol é um composto que pode ser obtido comercialmente, mas também há um análogo a ele na natureza: a luciferina, uma proteína que, ao ser quebrada pela ação de outra proteína, origina a luz que vemos um vagalume emitir.

a. Quem são os catalisadores das duas reações mencionadas?

Luminol: _____

Luciferina: _____

b. Qual das reações não é catalisada por uma enzima e por quê?

RESPOSTA COMENTADA

Na reação que envolve luminol e água oxigenada, o catalisador é o ferro, que acelera a reação. Somente luminol na presença da água oxigenada não emitiria luz (pelo menos, não em um tempo mensurável).

Na reação de quebra da luciferina, temos uma outra proteína envolvida que, se você pensou se tratar de uma enzima, acertou! A luciferase é uma proteína presente nos vagalumes e em algas bioluminescentes (algas que brilham mesmo dentro do mar, à noite), que quebra seu substrato, a luciferina, e gera energia na forma de luz esverdeada.

Portanto, a reação que não é catalisada por uma enzima é a reação que envolve o luminol. Isso porque, embora a reação, em cenas de crime, só aconteça na presença de sangue, o que catalisa a reação é apenas o ferro (catalisador químico) – a parte protéica da hemoglobina não tem participação direta no processo.

COMO AS ENZIMAS FUNCIONAM?

As enzimas possibilitam diversas reações biológicas (veja o boxe a seguir) criando um ambiente específico para determinada reação, por exemplo promovendo a aproximação de duas ou mais moléculas na orientação exata que é necessária para a reação ocorrer. Além disso, elas também proporcionam ao substrato um meio energeticamente favorável à reação.

Quem faz o quê?

O estudo das reações do metabolismo, desde o início do século XX, resultou na descoberta de um número enorme de enzimas. Praticamente todas as reações que ocorrem nos organismos vivos são catalisadas por enzimas.

Naquela época, não havia ainda regras para nomear um composto, e se você descobrisse uma enzima, poderia nomeá-la como achasse melhor. Normalmente elas eram nomeadas de acordo com sua função.

O problema disso veio com o aumento do número de enzimas descobertas: o uso de uma terminologia não sistemática para nomeá-las fez com que algumas enzimas passassem a ter mais de um nome, enquanto outras enzimas diferentes eram conhecidas pelo mesmo nome.

Diante disso, a nomenclatura das enzimas foi sistematizada a partir de 1961, e está baseada em uma divisão em seis classes, relacionada às reações que elas catalisam:

1. **óxido-redutases:** catalisam reações de óxido-redução, isto é, de transferência de elétrons entre compostos;
2. **transferases:** catalisam a transferência de grupos entre moléculas;
3. **hidrolases:** catalisam reações de hidrólise (quebram moléculas utilizando a água);
4. **liases:** catalisam a remoção não-hidrolítica de grupos, formando ligações duplas (ou seja, retiram um grupamento da molécula sem usar água);
5. **isomerases:** catalisam reações de isomerização (reorganizam a molécula sem que ela perca nenhum átomo);
6. **ligases:** catalisam a formação de uma ligação química entre dois compostos utilizando a energia da quebra de um nucleotídeo trifosfatado (por exemplo, ATP), que acontece ao mesmo tempo.

Esta classificação será importante, principalmente, durante a disciplina de Bioquímica II, quando estudaremos as reações do metabolismo.

A atuação das enzimas está relacionada, diretamente, à velocidade das reações das quais elas participam. Estas proteínas trabalham fazendo com que uma reação que aconteceria em um tempo grande (às vezes até não mensurável) aconteça em tempos compatíveis com os processos vitais. Um exemplo disso é a digestão de proteínas no estômago.

No nosso estômago, uma substância chamada suco gástrico é secretada, majoritariamente, em resposta à chegada de alimento. Quando

comemos um bife, por exemplo, esse vai parar no nosso estômago e, em contato com o suco gástrico, as proteínas que o compõem começam a ser degradadas por dois elementos presentes nesta secreção: o ácido clorídrico e uma enzima, chamada pepsina, que quebra proteínas.



Figura 19.1: Um bife, composto por proteínas, começa a ser digerido no nosso estômago, por causa do contato com o suco gástrico, que contém ácido clorídrico e pepsina.
Fonte: www.sxc.hu/photo/433527

O bife, em contato com o ácido, acabaria por ser degradado, de forma que suas proteínas seriam quebradas. No entanto, na presença da pepsina e do ácido, ele é degradado muito mais rapidamente, o que aumenta a velocidade do nosso processo de digestão e, portanto, nossa aquisição de nutrientes.

Uma pergunta que você pode estar se fazendo, neste momento, é: Como será que as enzimas “conseguem” acelerar a velocidade das reações? Isso é o que você verá a seguir.



ATIVIDADE



2. O que faz uma enzima?

Acidentes ecológicos como o do *Exxon Valdez*, em 1989, no qual ocorreu um grande derramamento de petróleo no Alasca, acarretam conseqüências ambientais enormes, como a morte de milhares de animais. Em casos como este, é possível:

1. deixar que a natureza se encarregue de degradar o petróleo que foi derramado, o que pode demorar séculos;
2. fazer a remediação do petróleo por agentes químicos ou a biorremediação, processo que utiliza microorganismos para degradar o petróleo (uma combinação de compostos orgânicos). Os microorganismos utilizam o petróleo como fonte de energia para seu metabolismo, quebrando-o pela atividade de suas enzimas.

No segundo caso, a redução das áreas contaminadas acontece muito mais rapidamente.

Com base no que você aprendeu nesta aula, como se justifica, bioquimicamente, o fato de a biorremediação reduzir mais rapidamente a área contaminada do que deixar que o petróleo se degrade sozinho?

RESPOSTA COMENTADA

A biorremediação tem sido vista como um processo de degradação de petróleo bastante eficiente, mesmo em relação à remediação por agentes químicos. Isso porque a biorremediação, além de reduzir a contaminação de petróleo nas áreas onde tiverem ocorrido acidentes ecológicos, também não cria, como conseqüência do seu acontecimento, mais resíduos – o que acontece na remediação.

A biorremediação consiste em colocar uma grande quantidade de microorganismos em uma área contaminada por petróleo. Estes microorganismos “comem” o petróleo, diminuindo a área afetada pelo derramamento. Esta degradação de petróleo, portanto, é mediada pelas enzimas, capazes de quebrar o petróleo para gerar energia para os microorganismos que estão participando do processo.

O petróleo, na presença do oxigênio do ar e do calor, depois de muitos e muitos anos, poderia ser degradado; no entanto, os sistemas ambientais provavelmente não suportariam essa espera. Por isso, a participação das enzimas dos microorganismos – acelerando a degradação do óleo negro – é tão providencial!

ACELERANDO UMA REAÇÃO QUÍMICA – COMO?

Quando um composto químico é convertido em outro, o que está acontecendo é uma reorganização dos átomos que fazem parte do reagente (substrato) para que ele se torne o produto da reação.



No caso de reações que envolvem a participação de enzimas, chamamos os reagentes de substratos.

Para que a reação de conversão de um dado substrato em produto ocorra espontaneamente (quer dizer, seja favorável termodinamicamente – você aprenderá mais sobre isso em Bioquímica II), é preciso que haja liberação de energia durante a transformação do substrato em produto. Em outras palavras, quando a energia contida na molécula de substrato é maior do que a energia contida na molécula de produto, podemos dizer que a reação é favorável e, portanto, espontânea.

Entretanto, o fato de a reação ser favorável e espontânea não significa que ela vá ocorrer rapidamente. Mas por quê? Isso ocorre porque, durante a conversão de um substrato em produto, pode se formar um composto intermediário que possui uma energia muito alta. Esse composto intermediário é chamado estado de transição. A diferença de energia entre ele e o substrato é chamada energia de ativação. Em outras palavras, a energia de ativação é o quanto de energia é necessário no sistema para que o substrato possa ser convertido em produto.



Estado de transição: composto intermediário, formado no processo de conversão de um substrato em produto.

Energia de ativação: diferença entre a energia do substrato e a do estado de transição.

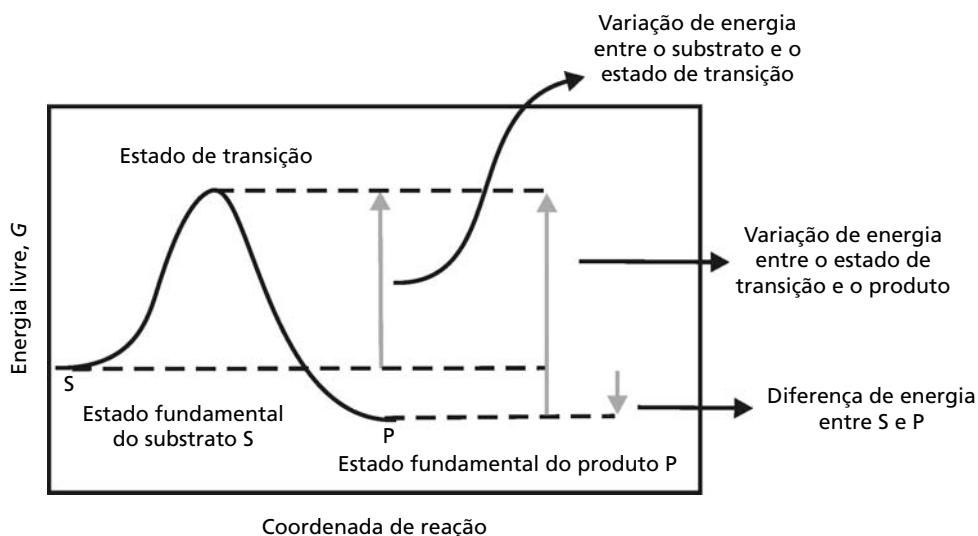


Figura 19.2: Estado de transição e energia de ativação de uma reação. Em uma reação química, um arranjo estável de átomos (ou seja, a molécula do substrato) é convertido em um outro arranjo estável de átomos (ou seja, a molécula do produto da reação). Para que esta conversão aconteça, é necessário que os átomos que formam o substrato sofram uma reorganização, passando por um arranjo instável de alta energia, conhecido como *estado de transição*. A diferença de energia entre o arranjo atômico do substrato e o do estado de transição é chamada *energia de ativação*.

No exemplo mostrado na **Figura 19.2**, a energia de P é menor do que a de S, de forma que a variação de energia da reação é negativa (energia de P – energia de S < 0), e favorece a formação de P. No entanto, existe uma barreira energética entre S e P, a energia de ativação, relacionada à formação do estado de transição, que pode envolver formação de cargas instáveis na molécula, rearranjo de ligações etc.

Quanto maior a energia de ativação, mais lenta é a reação. Diminuir a energia de ativação de uma reação é exatamente o que uma enzima faz. Por isso é que ela aumenta a velocidade da reação! Veja a **Figura 19.3**:

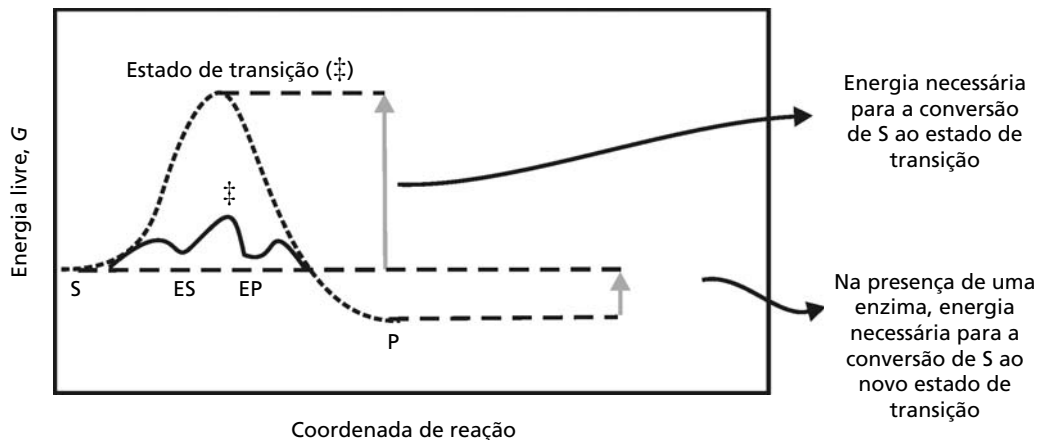


Figura 19.3: Estado de transição e energia de ativação de uma reação na presença (linha pontilhada) e na ausência (linha cheia) de um catalisador. Na ausência de uma enzima, a energia de ativação para a conversão de S em um estado de transição é maior do que quando a enzima está presente. Isso se deve à formação de estados intermediários constituídos pela associação do catalisador ao substrato (ES), que é convertido a um produto ainda associado a esse catalisador (EP) e, só então, ao produto livre (P).

Um catalisador, portanto, funciona diminuindo a energia de ativação, que é o que determina a velocidade da reação. É por proporcionar esta diminuição que aumenta a velocidade das reações.



Para entender como as enzimas funcionam, é importante distinguir entre o equilíbrio da reação e a velocidade da reação. Os catalisadores funcionam aumentando a velocidade das reações; eles não alteram seu equilíbrio. Ou seja, se uma reação tende a acontecer favorecendo um determinado produto, a presença de uma enzima somente fará com que ela aconteça mais rápido; se uma reação não tende à formação de um determinado produto, a enzima não alterará esse quadro, isto é, a reação continuará não acontecendo.

Em termos gerais, é assim que as enzimas atuam aumentando a velocidade de reações químicas no nosso organismo. Um pouco mais de detalhes sobre como esse processo acontece você terá na próxima aula, quando estudar a interação da enzima com seu substrato...

CONCLUSÃO

As enzimas participam de diversos processos, fazendo com que eles aconteçam em tempos compatíveis com as necessidades do organismo. Não fossem estes catalisadores biológicos, o momento de uma célula se dividir, o momento em que metabolizamos os nutrientes que ingerimos para gerar energia para diversos processos no organismo, a síntese e a quebra de compostos de alta energia para gerar a energia necessária para nossas atividades diárias poderiam acontecer em prazos que inviabilizassem nossa existência.

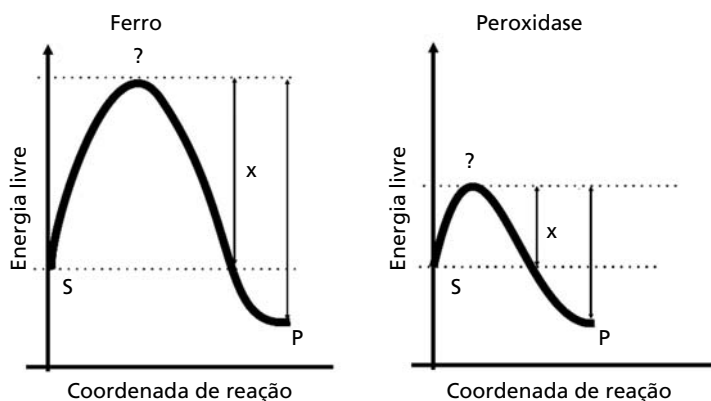
ATIVIDADE FINAL

Quem dá mais?

Lembra-se do luminol, que mencionamos na Atividade 1? Este composto produz luz na presença de água oxigenada quando colocado em contato com o ferro, como já dissemos. O que não dissemos ainda é que este mesmo composto também pode sofrer essa reação, que gera luz, catalisada por uma enzima, chamada peroxidase. O uso desta reação é bastante comum em experimentos científicos, para revelar se há presença de determinadas proteínas de interesse para estudo em uma amostra.

Até agora, mencionamos fatos verídicos; daqui para a frente, vamos trabalhar com situações hipotéticas.

Imagine que pudéssemos traçar em um gráfico os perfis de energia das reações que envolvem luminol e água oxigenada tanto na presença de ferro quanto de uma peroxidase:



a. O que representam os pontos dos gráficos assinalados com uma interrogação (?)?

b. O que representa a seta na qual está assinalado "x" em ambos os gráficos?

c. Nesta atividade, os dois gráficos apresentam as variações de energia da reação de produção de luz a partir do luminol na presença de catalisadores diferentes. Considere que ambos estão na mesma escala. Qual catalisador foi mais eficiente, ou seja, foi capaz de fazer a reação acontecer mais rápido? Por quê?

RESPOSTA COMENTADA

O topo de uma curva que representa a variação de energia durante a conversão de um substrato em produto (assinalado com "?") se refere ao estado de transição desta reação. Em outras palavras, se refere a um intermediário formado durante a reação que apresenta uma quantidade de energia maior do que a do substrato e que representa uma barreira energética a ser vencida pela reação. Esta barreira energética a ser ultrapassada é o que está representado pelas setas assinaladas com X, e chama-se energia de ativação. Quanto mais um catalisador é capaz de reduzir a energia de ativação necessária para que uma reação aconteça, mais ele é capaz de aumentar a velocidade da reação. Assim, no exemplo hipotético desta atividade, a peroxidase se apresenta como um catalisador mais eficiente do que o ferro.

RESUMO

As enzimas foram descobertas por um pesquisador que detectou a capacidade de produção de fermentos por algum composto no interior das leveduras. A partir desse achado, surgiu a enzimologia, que estuda exatamente estes compostos e como eles funcionam. Os pesquisadores descobriram que a natureza química da maior parte das enzimas é protéica e que elas diferem dos catalisadores químicos em vários aspectos, tais como: maior eficiência no que diz respeito à capacidade de aumentar a velocidade da reação; funcionamento em condições de temperatura, pressão e pH compatíveis com a vida; são altamente específicas e também podem ser reguladas. Mas quando uma enzima é necessária e como funciona a sua catálise?

Durante uma reação, um composto intermediário, chamado estado de transição, é formado. O estado de transição é um arranjo instável de átomos que possui energia mais elevada do que o substrato e o produto. A diferença de energia entre o estado de transição e o substrato (energia de ativação) é o fator limitante para uma reação. Quanto maior a energia de ativação, mais lenta tende a ser a reação.

Em outras palavras, o estado de transição representa uma barreira energética para a reação, que precisa ser vencida. A energia necessária para vencer estas barreira é a energia de ativação.

Uma enzima atua aumentando a velocidade de uma reação por diminuir a energia de ativação dessa reação, gerando um estágio intermediário formado por sua associação com o substrato – ES. Isso faz com que as reações aconteçam, nos organismos, em tempos muito mais curtos do que se não houvesse as enzimas, o que é muito mais compatível com os processos vitais que executamos todos os dias, como a produção de energia, a síntese e degradação de moléculas diversas etc.

INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

Na próxima aula, você entenderá um pouco mais a fundo o funcionamento das enzimas, aprendendo qual região de suas estruturas é fundamental para que elas exerçam suas funções, como se ligam aos substratos e que fatores podem interferir no poder de catálise. Até lá!

Sobre as famosas enzimas – parte II: Já ouviu falar em sítio ativo?

AULA 20

Meta da aula

Apresentar o sítio ativo das enzimas, região onde o substrato se liga para ser convertido em produto.

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- 1 definir sítio ativo;
- 2 descrever os dois modelos de interação entre o sítio ativo da enzima e seu substrato;
- 3 caracterizar o efeito de variações de temperatura e de pH na atividade de uma enzima.

Pré-requisitos

Para acompanhar bem esta aula, é importante que você volte à Aula 9 e relembre a influência do pH sobre a protonação de um aminoácido; reveja também quais são as forças que mantêm a estrutura tridimensional de uma proteína, assunto da Aula 13.

INTRODUÇÃO

Proteínas, vitaminas, gorduras, açúcares... Estas são algumas moléculas que estão presentes o tempo todo no nosso organismo, as chamadas biomoléculas, que vimos na Aula 1.

Você já sabe que existem diversos tipos de proteínas, formadas por aminoácidos, que se convertem uns nos outros por ação de enzimas específicas. Sobre as outras moléculas, você ainda vai aprender ao longo da disciplina. Só para adiantar um pouco...

As vitaminas participam de várias reações enzimáticas fundamentais ao funcionamento do nosso organismo. Os lipídeos (gorduras) são nossa reserva energética, sintetizados e decompostos a todo tempo no nosso corpo, por ação de enzimas. Com frequência, os açúcares que ingerimos precisam ser quebrados em açúcares menores para, em seguida, serem utilizados como fonte de energia dentro das células, o que também depende de enzimas específicas, desde o início até o final do processo.

Enzimas, enzimas... que elas são importantes já sabemos, mas se existem muitas delas no nosso corpo, como é que cada uma “sabe” com que **SUBSTRATO** interagir e que produto formar?

É aqui que começa esta nossa aula.

SUBSTRATO

Só para lembrar o que você aprendeu na aula passada, substrato é a molécula que participa do início da reação enzimática, ou seja, o “reagente” desta reação.

O SÍTIO ATIVO E OS MODELOS DE FUNCIONAMENTO DAS ENZIMAS

O bom funcionamento das enzimas, ou seja, sua capacidade de diminuir enormemente a energia de ativação de uma reação, depende da formação de um complexo (uma associação) entre a enzima e seu substrato (para saber como este complexo foi descoberto, leia o boxe a seguir). Essa associação ocorre graças à presença do sítio ativo na estrutura das enzimas.

Desvendando o funcionamento de uma enzima

Nas aulas, tanto presenciais quanto a distância, é comum aprendermos um conhecimento “pronto” e, por isso, muitas vezes não nos damos conta de que o que se sabe sobre determinados assuntos atualmente é resultado de uma longa trilha percorrida por pesquisadores, muitas vezes afastados no tempo e no espaço. Foi assim para a descoberta do complexo enzima/substrato.

A primeira vez que se pensou em formação de complexo entre enzima e substrato foi em 1870, quando um francês, Charles Adolph Wurtz, descobriu, por experimentos, que a enzima com a qual trabalhava

(papaína, uma enzima presente no mamão papaia – daí o nome) formava um composto insolúvel em água quando colocada na presença do seu substrato e antes de quebrá-lo.

Outros pesquisadores, dez anos depois, mostraram que uma enzima (invertase) era capaz de “sobreviver” a temperaturas muito altas sem perder sua atividade quando seu substrato (a sacarose) estava presente. Mais doze anos (em 1902), um inglês chamado Adrian John Brown “amarrou” essas idéias e propôs o mecanismo de formação de um complexo enzima/substrato que era necessário para a catálise da reação e a antecedia.

Você sabe o que é o sítio ativo? O sítio ativo é uma pequena porção da enzima formada a partir do enovelamento na sua estrutura terciária. Ele apresenta resíduos de aminoácidos cujas cadeias laterais são capazes de interagir com o substrato.

É da especificidade desta ligação entre o substrato e o sítio ativo da enzima que surge a especificidade de cada atividade enzimática. Em outras palavras, uma enzima interage com um dado substrato porque a sua seqüência primária possui aminoácidos que determinam uma estrutura terciária que, em uma porção específica – o sítio ativo –, permite o “encaixe” do substrato para que a reação aconteça.

Seqüência primária → Estrutura terciária → Sítio ativo → Encaixe do substrato

Por causa dessas características estruturais, o substrato se liga ao sítio ativo da enzima com grande especificidade. Em 1894, um pesquisador chamado Emil Fisher observou que as enzimas da via de quebra da glicose (um açúcar) distinguiam **ESTEREOISÔMEROS** de açúcares, ou seja, eram muito específicas para os seus substratos. Dentre outras, esta observação levou Fisher a propor a *hipótese da chave e fechadura*, na qual a especificidade da enzima (fechadura) por seu substrato (chave) era decorrente de suas formas geométricas serem complementares (**Figura 20.1**).

ESTEREOISÔMEROS

No final da Aula 8, sobre aminoácidos, você aprendeu o que são os estereoisômeros: são moléculas quase iguais, que possuem os mesmos grupamentos funcionais, mas apresentam diferente organização dos seus átomos no espaço. Se quiser relembrar mais detalhes sobre este assunto, volte, na Aula 8, à seção que fala sobre aminoácidos D e L.

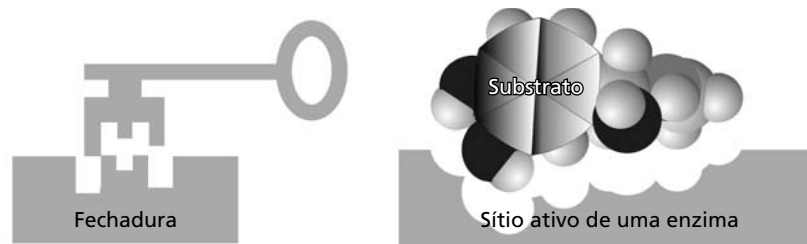


Figura 20.1: Modelo chave e fechadura para a interação enzima e substrato. A relação de especificidade do encaixe de um substrato em sua enzima específica é análoga à relação de encaixe de uma chave em uma fechadura. Assim como uma chave, em geral, abre apenas uma fechadura, os substratos, também em geral, são transformados em um determinado produto por uma só enzima.

A idéia de a associação entre enzima e substrato ser bastante específica pressupõe a existência de interações moleculares específicas entre as superfícies da enzima e do seu substrato, o que é uma concepção bastante importante na Bioquímica.

As interações moleculares envolvidas na ligação enzima-substrato são da mesma natureza daquelas que mantêm a estrutura tridimensional das proteínas, ou seja, pontes de hidrogênio, interações eletrostáticas, interações hidrofóbicas e interações de van der Waals. Os grupos funcionais envolvidos nestas interações, tanto da enzima quanto do substrato, devem estar precisamente localizados para garantir a eficiência do processo catalítico.

É claro que, se o sítio ativo é a porção da enzima responsável pela catálise, ele deve ser capaz de interagir com o substrato, ou com parte dele, para que o complexo enzima-substrato se forme.

Na verdade, ocorre que, inicialmente, algumas interações fracas são formadas entre a enzima e o substrato, tornando possível a ligação destas duas moléculas. Em seguida, uma série de outras interações são formadas, favorecendo a distorção da molécula do substrato (mudança da sua forma), e, enfim, a formação do produto.

A hipótese da ligação substrato e enzima, seguindo o modelo de associação entre chave e fechadura, explica a ligação de algumas enzimas a seus substratos, mas não maior parte das reações enzimáticas. O modelo de interação enzima e substrato como chave e fechadura sofreu adaptações posteriores, como você verá na seção a seguir.



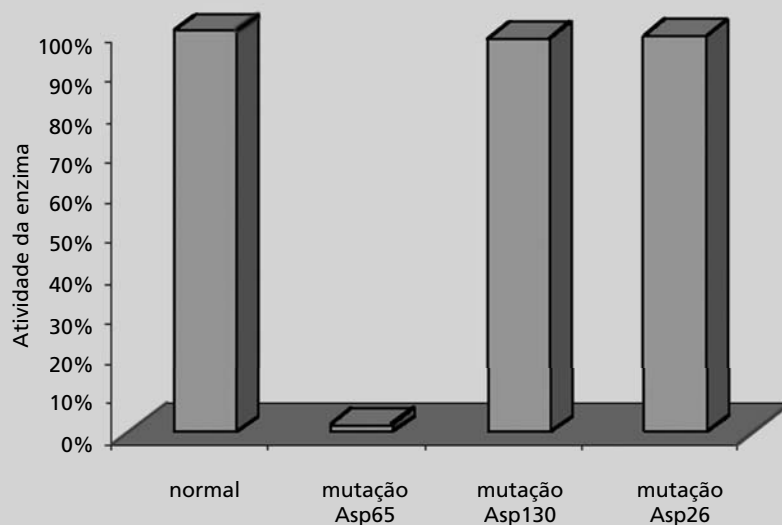
ATIVIDADE



1. Sobre sítio ativo...

Uma protease é uma enzima capaz de quebrar cadeias polipeptídicas. Existem proteases que são chamadas de proteases ácidas, por apresentarem sua atividade aumentada em pH ácido e por terem, participando da reação, resíduos de aminoácidos ácidos, como o ácido aspártico (Asp).

Um pesquisador que trabalha com uma protease de carrapato fez algumas mutações na seqüência da proteína, substituindo determinados resíduos de Asp. Em seguida, o pesquisador monitorou a atividade da enzima normal e das mutantes. Observe os resultados no gráfico a seguir:



Com base no que você acabou de estudar sobre funcionamento e estrutura de enzimas, como você explica a perda de atividade da protease pela mutação do Asp da posição 65? Que região da enzima provavelmente foi afetada com esta mutação?

RESPOSTA COMENTADA

O sítio ativo é a região da estrutura da enzima responsável por sua atividade catalítica; o sítio ativo conta com aminoácidos específicos, de acordo com a reação que a enzima catalisa. Fazer uma mudança na seqüência primária de uma proteína de forma a afetar seu sítio ativo acarreta em perda ou, pelo menos, drástica diminuição da atividade enzimática. Como a mutação do aspártico da posição 65 provocou a inativação da enzima (total perda da atividade), provavelmente ela atingiu o sítio ativo desta proteína, inviabilizando a catálise.

AJUSTE INDUZIDO – OUTRO MECANISMO DE FUNCIONAMENTO DAS ENZIMAS

Um problema no modelo chave e fechadura proposto por Fisher, para explicar a interação enzima/substrato, era que ele explicava o funcionamento de algumas, mas não da maioria das enzimas.

Foi um pesquisador escocês, J.B.S. Haldane, que, em 1930, propôs a noção que temos hoje sobre o funcionamento das enzimas, a qual foi aprimorada por Linus Pauling. Para você entender o modelo de explicação para o funcionamento das enzimas proposto por estes pesquisadores, observe a **Figura 20.2**:

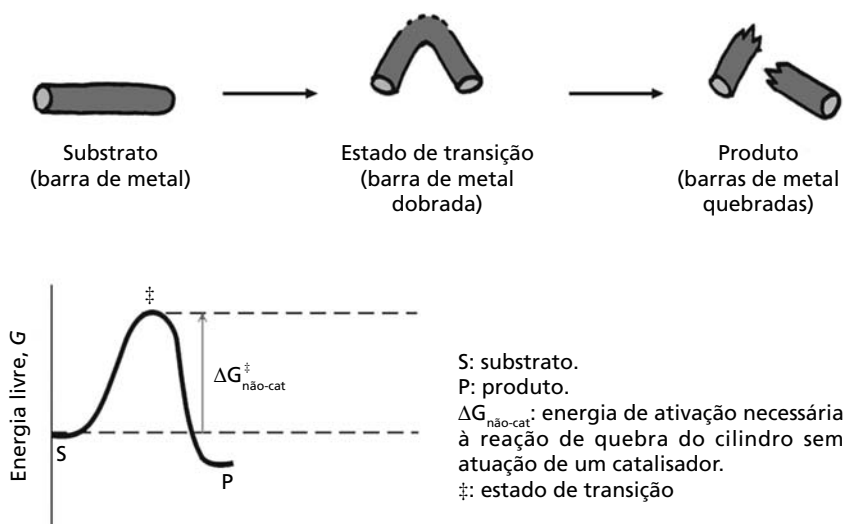


Figura 20.2: Esquema da reação imaginária da quebra de um cilindro sem a atuação de um catalisador. Nessa imagem, você vê também uma representação gráfica hipotética da energia de ativação necessária para o cilindro reto (substrato) passar ao cilindro dobrado (estado de transição).

A reação imaginária representada na **Figura 20.2** é a quebra de um cilindro em duas partes sem a atuação de um catalisador. Para que a quebra ocorra, o cilindro deve ser inicialmente dobrado, o que requer uma alta energia. Nesta analogia, o cilindro dobrado equivale ao estado de transição desta reação. Se você observar o gráfico ao lado do esquema, ainda na **Figura 20.2**, verá que a alta energia de ativação para a dobra do cilindro está representada pela altura da curva.

Nada disso é novidade, uma vez que você já viu, na aula passada, a importância da participação de uma enzima como catalisadora de uma reação. Começamos a usar este exemplo do cilindro para você entender a participação do sítio ativo e de sua forma na catálise feita por uma enzima.

Imagine agora que puséssemos uma enzima para catalisar a quebra da barra de metal, e que essa enzima tenha sítio ativo de forma geométrica complementar ao substrato (**Figura 20.3**):

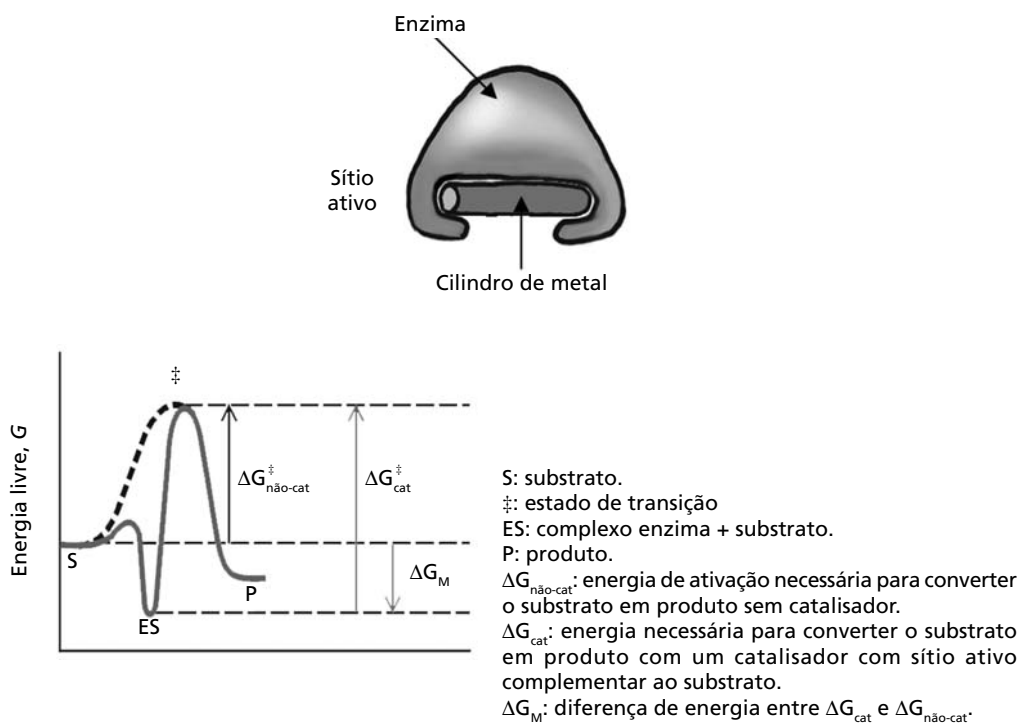


Figura 20.3: Esquema da reação imaginária da quebra de um cilindro com a atuação de uma enzima com sítio ativo complementar ao substrato da reação. Nessa imagem, você também vê uma representação gráfica hipotética da energia de ativação necessária para a quebra do cilindro nestas condições. A ligação do cilindro de metal (S) à enzima (E) é tão estável que faz com que o complexo ES tenha uma energia menor do que a energia original do substrato. A energia de ativação necessária para vencer o estado de transição é maior quando partimos do complexo ES do que quando apenas de S, inviabilizando a reação.

Neste esquema, o que estamos mostrando nada mais é do que uma representação do modelo chave e fechadura, no qual o cilindro se ajusta perfeitamente ao sítio da enzima. Esta conformação tende a ser bastante estável, ou seja, ser uma estrutura de baixa energia.

No nosso exemplo, considere que a energia da associação cilindro e enzima seja mais baixa do que as energias dos dois separados. Neste caso, o cilindro não vai se dobrar, e conseqüentemente, não vai se quebrar. Em outras palavras, o produto da reação não vai ser formado. Portanto, esta enzima com sítio ativo complementar ao substrato acaba estabilizando o substrato de tal maneira que impede que a reação ocorra, ou seja, se o encaixe do substrato à enzima for tão preciso, como será superado um estado de alta energia (estado de transição) para que o substrato seja convertido em produto?

Aqui entram as explicações dos pesquisadores que mencionamos lá no início desta seção da aula (Haldane e Pauling). Veja a **Figura 20.4**:

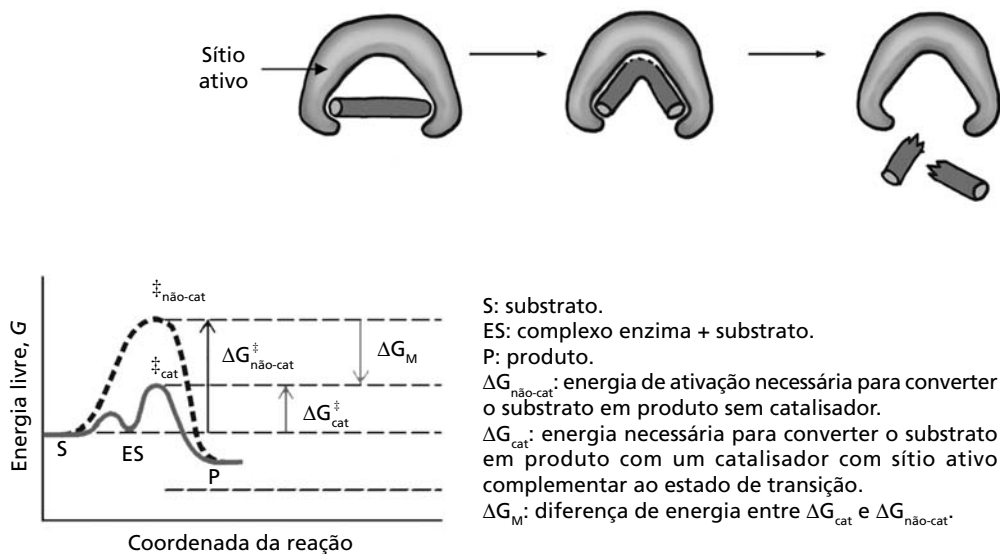


Figura 20.4: Esquema da reação imaginária da quebra de um cilindro com a atuação de uma enzima com sítio ativo complementar ao estado de transição da reação. Nesta imagem, você também pode observar uma representação gráfica hipotética da energia de ativação necessária para a quebra do cilindro nestas condições. A ligação do cilindro de metal (S) à enzima (E) possui uma energia menor do que o substrato; além disso, o estado de transição para uma reação nestas condições possui energia menor do que o estado de transição não-catalisado. A energia de ativação necessária para vencer o estado de transição é menor nessa situação, o que facilita o acontecimento da reação.

A proposta de Haldane foi a de que o sítio ativo deve ser complementar ao estado de transição e não ao substrato. Assim, quando o substrato se liga à enzima, a interação entre as duas moléculas favorece a formação do estado de transição, por este possuir uma energia mais baixa do que nas outras duas situações que você acabou de ver (Figuras 20.2 e 20.3).



Resumindo...

Uma enzima é uma proteína capaz de acelerar o acontecimento de uma reação. Ela faz isso se ligando ao seu substrato por uma porção da sua estrutura chamada sítio ativo e diminuindo a energia necessária para que esse substrato vença a barreira energética existente na reação – a formação do estado de transição. Para que isso aconteça, o sítio ativo da enzima tem de ser capaz de se associar ao substrato, mas não de maneira perfeitamente complementar, pois, senão, acabaria por inviabilizar, e não por favorecer a reação.

A proposta de Haldane e Pauling foi fundamental para os estudos de Daniel Koshland também sobre o funcionamento das enzimas. Este pesquisador verificou que, algumas vezes, a primeira interação da enzima com seu substrato resulta em uma série de mudanças na estrutura tridimensional da enzima. Isso se deve, justamente, às várias interações formadas durante a ligação do substrato ao sítio ativo da enzima, que influenciam outras interações na estrutura da proteína, responsáveis pela estabilização da sua conformação.

As mudanças conformacionais sofridas pela enzima levam à acomodação de grupos funcionais específicos (dos aminoácidos da proteína) em posições apropriadas, facilitando a interação com o substrato. Além disso, permitem a formação de outras interações fracas necessárias ao estado de transição e, conseqüentemente, favorecem a reação. Este processo é conhecido como *ajuste induzido* e foi proposto pelo Koshland, em 1958 (Figura 20.5).

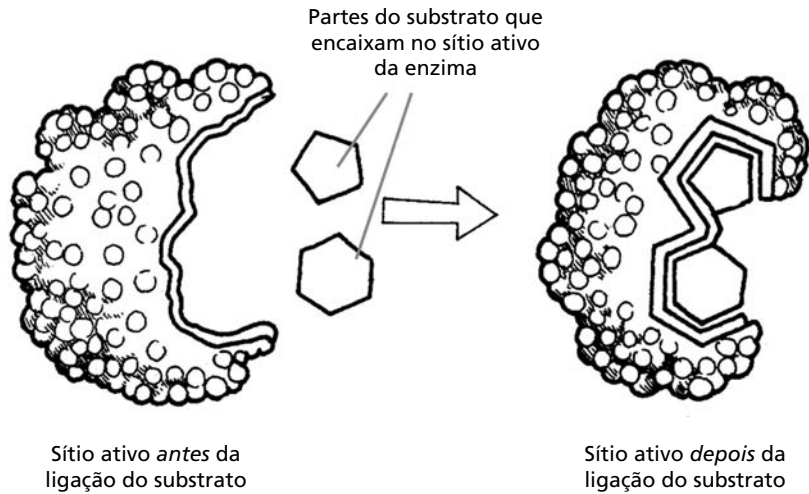


Figura 20.5: Esquema de ajuste induzido. Após a ligação do substrato à enzima, ela sofre mudanças conformacionais que fazem com que sua estrutura se ajuste à ligação do substrato, colocando em contato grupos funcionais dos aminoácidos que são importantes para que a reação aconteça.

HEXOCINASE

Para que uma célula possa utilizar a glicose e oxidá-la para obter energia, é necessário que esta glicose receba uma “etiqueta” ao entrar na célula. Essa “etiqueta” é a adição de um grupo fosfato no sexto carbono da molécula de glicose – por isso o composto formado se chama glicose-6-fosfato. Quem faz essa adição é a enzima hexocinase, sobre a qual você aprenderá mais na disciplina Bioquímica II.

Um bom exemplo da ocorrência do ajuste induzido é o caso da **HEXOCINASE**, enzima que catalisa a conversão de glicose em glicose-6-fosfato, o primeiro passo da via de utilização de glicose pelas células. Esta enzima foi cristalizada e teve sua estrutura tridimensional determinada na ausência e na presença de seu substrato, a glicose (**Figura 20.6**).

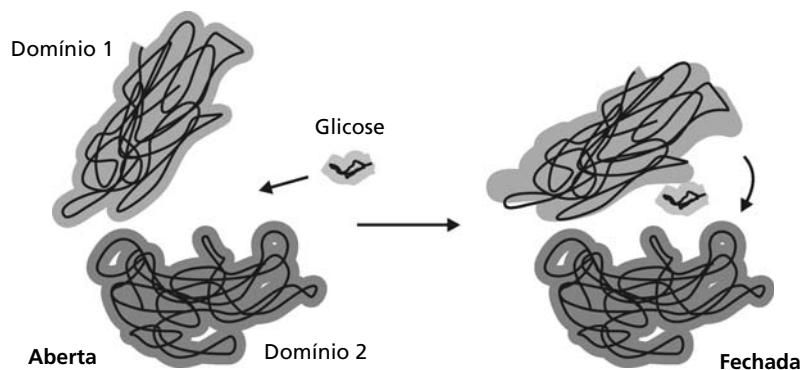


Figura 20.6: Estrutura da hexocinase na ausência e na presença de seu substrato. Do lado esquerdo, estão representados os dois domínios da estrutura desta enzima, e a porção onde a glicose se ligará (sítio ativo) está indicada pela seta. Sem o substrato, dizemos que a estrutura desta enzima está “aberta”. Já do lado direito, você vê a hexocinase “fechada”, ajuste estrutural que ocorreu após a ligação do substrato à enzima.

Como você pôde ver na **Figura 20.5**, há uma grande diferença entre as estruturas da hexocinase antes e depois da ligação do seu substrato – a glicose. Esta enzima sofre uma mudança de conformação induzida pelo substrato – um ajuste induzido - que aproxima seus dois domínios. Essa aproximação coloca mais bem posicionados os grupos funcionais dos aminoácidos que vão participar da adição do fosfato à glicose, tornando esta uma reação energeticamente favorecida.



Três possibilidades para o sítio ativo de uma enzima

1. Ser de forma geométrica perfeitamente complementar ao substrato e permitir seu encaixe assim como uma chave se encaixa na fechadura correta.
2. Ser de forma geométrica complementar a do estado de transição da reação.
3. Sofrer um ajuste da sua forma induzido pela ligação do substrato, o qual influenciou outras interações entre os grupos laterais dos aminoácidos da enzima, alterando sua conformação.

Isso não quer dizer que essas possibilidades sejam excludentes. Por exemplo, o ajuste induzido pode tornar o sítio ativo complementar ao estado de transição da reação, ou, então, o ajuste induzido pode tornar o sítio ativo da enzima complementar ao substrato, mas deixando-o em um ambiente diferente do meio aquoso no qual ele (o substrato) se encontrava. Em casos, por exemplo, em que uma reação é favorecida em um meio hidrofóbico, ela passa a ser mais favorável se o sítio ativo “esconde” o substrato do meio aquoso.

ATIVIDADE



2. Como funciona uma enzima?



Imagine que você é um pesquisador que recebe, em seu laboratório, um estudante de graduação procurando estágio. Um dos projetos que você tem a oferecer a este estudante é a caracterização de duas enzimas purificadas de células de fígado; você mostrou uma imagem da estrutura tridimensional de cada uma das proteínas a ele. O estudante, recém-ingresso na faculdade, ficou olhando para a imagem e lhe perguntou em seguida:

– Como os substratos se ligam a estas enzimas?

Sabendo que uma das enzimas se liga de acordo com o modelo chave e fechadura e outra, por ajuste induzido, explique para o estudante como seus substratos interagem com as enzimas.

RESPOSTA COMENTADA

Na posição de um orientador solícito, você explicou a seu aluno que a enzima que se liga ao substrato obedecendo o modelo chave e fechadura possui seu sítio ativo geometricamente complementar ao substrato. Assim, a molécula do substrato se encaixa física e perfeitamente na região da enzima responsável pela catálise. Já a enzima que interage com o substrato por ajuste induzido tem seu sítio ativo com uma forma diferente da do substrato; quando essa molécula se liga à enzima, promove mudanças conformacionais na estrutura da proteína que fazem com que ela se ajuste à presença do substrato, colocando-o em contato com os resíduos do sítio ativo fundamentais à catálise da reação.

FATORES QUE PODEM INTERFERIR NAS REAÇÕES ENZIMÁTICAS

Como você viu até agora, a formação do sítio ativo e sua interação com o substrato dependem de interações moleculares que mantêm ou influenciam na estrutura tridimensional da enzima.

A estrutura íntegra de uma proteína – aquela na qual a proteína é capaz de exercer suas funções – é chamada *estrutura nativa*. Esta estrutura nativa pode ser afetada por vários fatores, em consequência de esses fatores produzirem distúrbios extensos na estrutura tridimensional da proteína. Esses distúrbios capazes de tornar uma proteína não-funcional – e, no caso das enzimas, uma enzima não-catalítica – provocam o que chamamos de desnaturação de proteínas. A desnaturação de proteínas (incluindo as enzimas) pode se dar por:

- aquecimento;
- variações de pH;
- presença de solventes orgânicos;
- detergentes;
- moléculas como **URÉIA** ou **GUANIDINA**.

URÉIA E GUANIDINA

São agentes desnaturantes de proteínas. O mecanismo de atuação destes dois compostos ainda é controverso, mas acredita-se que a ação desnaturante da uréia e do hidrócloro de guanidina possa ser decorrente de elevações na solubilidade de grupos da proteína, desestabilizando sua estrutura.

Sobre os efeitos do aquecimento e das variações de pH, vamos ver mais detalhes daqui a pouco. Solventes orgânicos, como, por exemplo, o etanol, bem como os detergentes, perturbam a estrutura da enzima por favorecerem a exposição das regiões apolares (normalmente mantidas no interior da estrutura da proteína) ao meio externo. Isso altera dramaticamente a estrutura da enzima e de seu sítio ativo, de forma que a atividade catalítica é perdida.

Outros agentes desnaturantes, como a uréia ou a guanidina, são ótimos formadores de pontes de hidrogênio. Como pontes de hidrogênio são importantes para manter a estrutura nativa das proteínas, estas substâncias promovem a sua desnaturação.

Todas estas condições (incluindo o aquecimento e as variações de pH) levam ao rompimento das interações não-covalentes entre os resíduos de aminoácidos, presentes na proteína, que são responsáveis por sua estrutura, pela geometria do sítio ativo e pelo posicionamento dos grupos funcionais presentes neste.

MAIS ÁCIDO, MAIS BÁSICO – COMO ISSO INTERFERE NA ATIVIDADE DAS ENZIMAS?

As enzimas apresentam um pH ótimo para o seu funcionamento, no qual sua atividade catalítica é máxima. Em pHs maiores ou menores, sua atividade diminui.

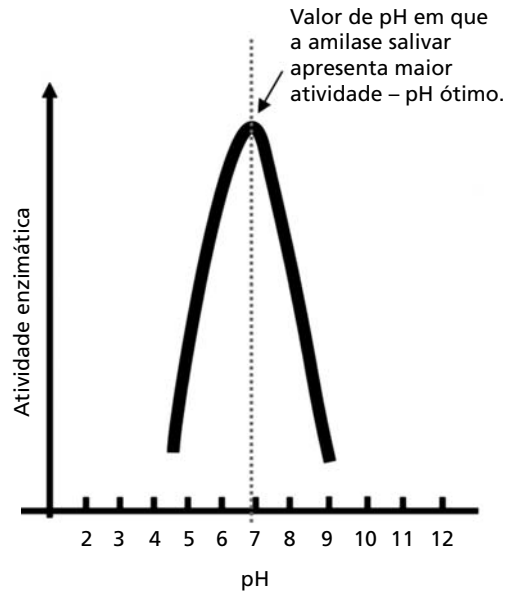
Isso acontece porque as cadeias laterais de alguns aminoácidos apresentam grupos protonáveis, ou seja, grupos que podem ser protonados ou desprotonados em função do pH do meio (você viu esse assunto nas Aulas 9 e 10, sobre titulação de aminoácidos). Esses grupos podem:

- (1) fazer parte do sítio ativo, e a mudança no seu grau de protonação irá influenciar diretamente a ligação do substrato; ou
- (2) podem ser importantes para a estabilização da estrutura da enzima como um todo, indiretamente influenciando na estrutura do sítio ativo.

Além disso, variações de pH também podem causar mudanças de ionização do substrato, afetando sua ligação à enzima.

Para ver um exemplo do efeito do pH sobre a atividade de uma enzima, veja o **Gráfico 20.1**:

Gráfico 20.1: Atividade da enzima amilase salivar em função do pH do meio em que ela se encontra



No gráfico que você acabou de ver, apresentamos o efeito do pH sobre a atividade da amilase salivar (também conhecida como ptialina). Esta enzima está presente na nossa saliva e é responsável pela quebra de amido, durante a mastigação. Se você reparar, o gráfico mostra que esta enzima funciona tão melhor quanto mais perto de 7,0 o pH estiver.

A faixa de pH na qual a enzima funciona melhor pode fornecer pistas sobre que aminoácidos estão envolvidos na sua atividade. Mudanças de atividade em pHs próximos a 7,0 devem ser decorrentes da protonação/desprotonação de resíduos dos His, enquanto mudanças de atividades em pHs mais básicos (em torno de 9,0) refletem a protonação/desprotonação de Arg e Lis e, em pHs mais ácidos (próximos a 3,0), resultam da protonação/desprotonação de Glu ou Asp.

No caso da amilase salivar que você acabou de ver, o pH é ótimo em torno de 7,0. Isso ocorre por causa da combinação de resíduos ácidos presentes em um domínio desta proteína (domínio A) e básicos presentes no outro domínio da proteína (domínio B), ambos importantes para a catálise de uma reação por essa enzima.

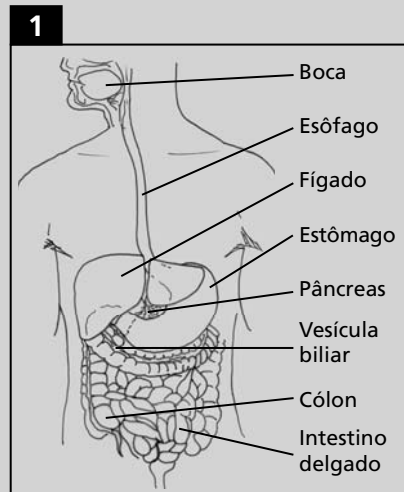


ATIVIDADE

3

3. De onde é cada enzima?

Analise as informações a seguir:



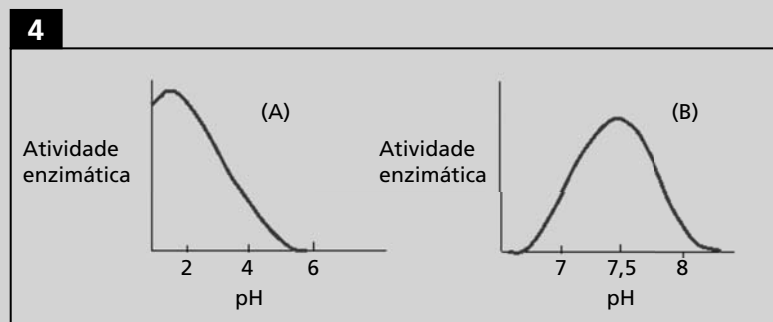
2

Pepsina
Enzima responsável pela quebra de proteínas no estômago de diversos animais, incluindo os mamíferos. É secretada na cavidade estomacal junto com o suco gástrico.

Quimotripsina
Enzima liberada no intestino delgado junto com o suco pancreático. Atua quebrando proteínas inteiras ou parcialmente digeridas, dando origem a peptídeos ainda menores.

3

Secreção digestória	pH aproximado
Saliva	7,0
Suco gástrico	2,0
Suco pancreático	7,8 a 8,2
Bile	7,2
Suco entérico	6,5 a 7,5



Com base nas informações apresentadas, identifique as enzimas A e B (qual é a pepsina e qual é a quimotripsina). Como você chegou a esta conclusão?

RESPOSTA COMENTADA

Esta atividade era um grande quebra-cabeças. Para chegar à resposta, você provavelmente deve ter se dado conta de que, se a pepsina é uma enzima presente no suco gástrico (quadro 2), o seu pH de atuação deve ser em torno de 2,0, que é o pH dessa secreção digestória (quadro 3). Analisando os gráficos (quadro 4), podemos concluir que a pepsina é a enzima A, por ser esta a que apresenta atividade em pH ácido. Uma informação a mais: o motivo para a pepsina funcionar somente em pHs ácidos é que essa enzima é secretada no estômago em uma forma precursora – o pepsinogênio. É o pH ácido que ativa essa enzima, transformando-a em pepsina, a qual é capaz de quebrar as proteínas que ingerimos naquele belo bife do almoço.

O mesmo caminho você deve ter feito para justificar a identificação da enzima B como quimotripsina. Esta enzima está presente no suco pancreático (quadro 2), o qual tem pH em torno de 8,0 (quadro 3). A enzima B (quadro 4) tem sua atividade mais alta em torno deste valor de pH.

A figura do quadro 1 era só para você se localizar quanto ao posicionamento dos órgãos do aparelho digestório mencionados no restante da atividade.

MAIS QUENTE, MAIS FRIO – O QUE ACONTECE COM AS ENZIMAS?

O aumento da temperatura causa um aumento na velocidade das reações catalisadas por enzimas, assim como ocorre para todas as reações químicas. Isso acontece porque o calor (energia térmica) se converte em energia cinética para as moléculas. Esse aumento da energia de movimento fornece às moléculas energia para se sobreporem a barreira energética de uma reação. Assim, para uma reação, quanto mais quente, melhor.

Devemos lembrar que as enzimas são proteínas. Essas moléculas desnaturam em decorrência do aquecimento (não deixe de ler o box a seguir), de forma que sua atividade tende a diminuir quando a temperatura aumenta além da temperatura normal do organismo (no caso dos humanos, em torno de 37°C). A consequência destes dois efeitos opostos pode ser vista no **Gráfico 20.2**. Esse gráfico mostra o efeito da temperatura sobre a atividade de uma enzima.

Proteínas desnaturadas!

Falamos até agora em desnaturação de proteínas por detergente, por pH, por temperatura. Como visualizar isso no dia-a-dia? Mais uma vez, você vai ver como sempre esteve próximo a conceitos importantes da Bioquímica sem nem se dar conta. Duvida? Olhe as imagens a seguir:

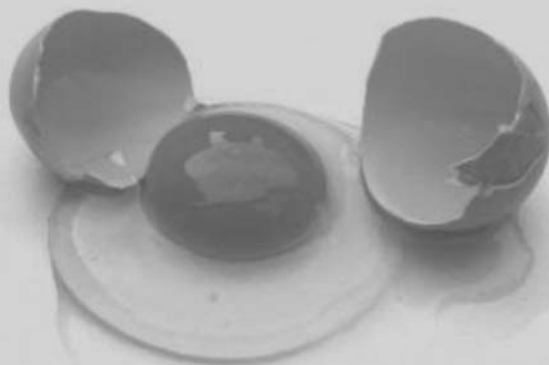


Foto: Steve Woods

Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/831221>

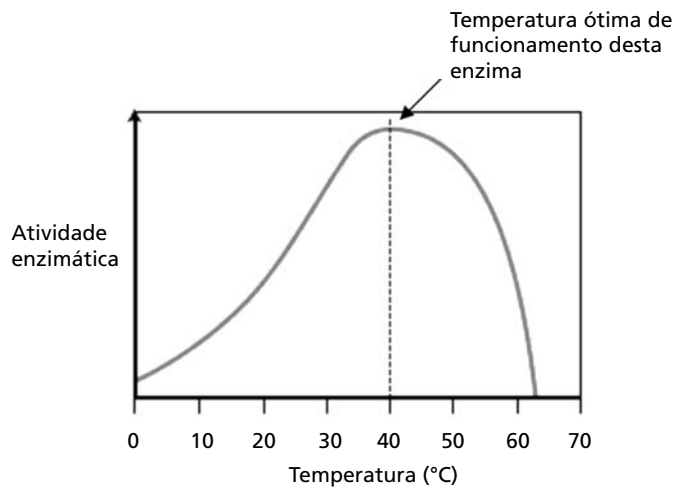


Foto: Marco Michelini

Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/552765>

Qual a diferença entre a primeira e a segunda imagem? A desnaturação térmica da proteína que compõe a clara do ovo – a albumina.

Gráfico 20.2: Efeito da temperatura na atividade de uma enzima hipotética.



No exemplo do **Gráfico 20.2**, você pode notar que há dois momentos: um em que a atividade enzimática aumenta, e outro em que ela diminui. De 0 a 40°C, conforme a temperatura aumenta, a atividade da enzima também aumenta. Em outras palavras, o efeito do aquecimento na reação é o de aumentar sua velocidade. No entanto, se continuamos aumentando a temperatura do meio em que está acontecendo a reação, a atividade da enzima começa a diminuir – esta proteína está sofrendo desnaturação e, por esse motivo, sua atividade começa a ficar comprometida. Administrando mais calor ao meio, causaremos uma desnaturação completa da proteína, e mais nenhuma atividade é detectada.

Não sei se você se lembra, mas, na Aula 2, comentamos sobre alguns problemas de se ter febre alta, e mencionamos a desnaturação de proteínas e perda de atividade de algumas enzimas. Agora que você acabou de entender o porquê de a febre ser realmente um perigo (por aumentar a temperatura do nosso corpo e poder causar a perda de atividade de diversas enzimas), vale a pena voltar e reler aquele trecho.

CONCLUSÃO

Quando você estiver cursando a disciplina Bioquímica II, vai aprender como funciona o metabolismo energético do seu organismo. Lá, você verá como acontece a quebra da glicose para obter energia, a respiração das células que utiliza o oxigênio que sorvemos do ar, a síntese e a degradação das gorduras, dentre outras vias metabólicas.

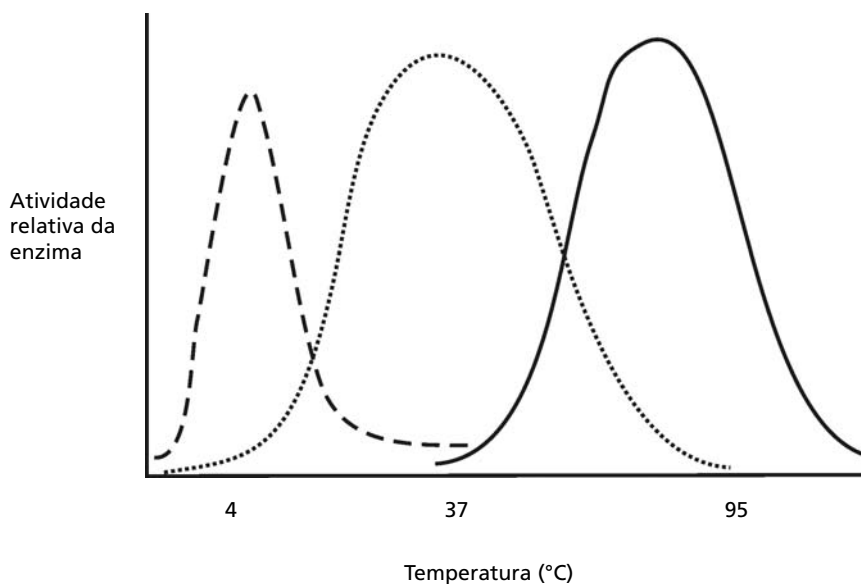
O que isso tem a ver com a aula de hoje? O fato de todos estes processos envolverem (e dependerem) da participação de milhares de enzimas diferentes. Daí a enorme importância de estudarmos como estas proteínas funcionam (e por que podem não funcionar).

ATIVIDADE FINAL



E agora?

Você acabou de aprender que as enzimas do nosso organismo apresentam uma temperatura ótima para sua atividade em torno de 37°C. Pois bem – faço um desafio a você. Observe o gráfico a seguir, que se refere às atividades (em função da temperatura) de três enzimas de seres vivos:



a. Qual(is) curva(s) pode(m) representar a(s) atividade(s) de uma enzima de mamífero? Por quê?

() tracejada () pontilhada () linha cheia

b. Pense nos ecossistemas do planeta Terra. Agora, diga um ser vivo que venha à sua cabeça que possa ter uma enzima cuja atividade máxima seja em uma temperatura em torno de 4°C. Escreva em sua resposta o ser vivo e seu *habitat*.

Ser vivo: _____

Habitat: _____

c. Você consegue imaginar um ser vivo que exista em uma temperatura próxima a 95°C, de forma que a atividade máxima de uma de suas enzimas aconteça nesta temperatura? Se conseguir, cite-o e diga onde ele vive.

Ser vivo: _____

Habitat: _____

RESPOSTA COMENTADA

Fazer esta atividade era importante para você se dar conta de que nos mamíferos, que têm sua temperatura corporal constante em torno de 37°C, é que a atividade máxima das enzimas acontecerá também a esta temperatura. Aumentar a temperatura acima de 40°C para um mamífero é iniciar um processo de desnaturação de suas enzimas; abaixá-la para menos de 34°C é fazer com que as enzimas deste organismo não funcionem direito, embora não tenham sido desnaturadas (estejam só inativas). Daí a preocupação com quadros de febre alta e hipotermia (baixa temperatura corporal).

Exatamente pelo que acabamos de dizer no parágrafo anterior é que a única curva que pode representar a atividade de uma enzima de mamífero, dentre as três apresentadas no gráfico da questão, é a de linha pontilhada (curva do meio).

Na letra (b), perguntamos sobre ecossistemas cuja temperatura seja 4°C. Lembre-se de que pensar nos ursos polares do Alasca assim como nos pingüins da Patagônia não responderá à questão, pois estes animais, embora vivam em ambientes frios, mantêm as suas temperaturas corporais constantes.

Algumas possibilidades de habitats e de seres vivos que se encaixam no perfil da enzima que mostramos são crustáceos que vivem nos

oceanos, a uma profundidade grande, na qual a luz do sol não é capaz de fornecer calor para aquecer a água (ou lugares onde, mesmo a presença do sol não é capaz de aquecer a água). Camarões, lagostas e lagostins, dentre outros, são seres em que você pode ter pensado. Peixes como o salmão e o bacalhau, que vivem em águas próximas ao pólo norte – e, portanto, bastante frias – também podem ter vindo à sua cabeça para responder à questão, e são opções corretas.

Se você pensou em algas, por ter pensado em oceanos e lagos, não acertou a questão por pouco! Estes seres vivos normalmente não vivem em profundidade, onde a temperatura é baixa, porque precisam da luz do sol para fazer fotossíntese.

E na letra c? Quase incrível, mas há organismos que vivem em temperaturas altíssimas, como as arqueias. Esses organismos são unicelulares e, por viverem em condições muito extremas de temperatura, pH e salinidade, são denominados extremófilos. As arqueias podem ser encontradas tanto em regiões muito frias (abaixo de zero grau, onde a água só não congela por estar submetida à alta pressão, como é o caso das fossas abissais) quanto muito quentes, como nos **GÊISERES** e lagos termais, como no parque de Yellowstone, nos Estados Unidos (se você não se lembra, este parque é aquele onde moram os ursos Zé Colméia e seu amigo Catatau). A temperatura nesses locais pode chegar a 95°C, exatamente a temperatura de atividade máxima da enzima que mostramos no gráfico desta questão.

GÊISER

Fonte de água quente que lança no ar jatos de água muito quente (ou vapor d'água) em intervalos de tempo regulares.



Foto: Cristiano Galbiati

Figura 20.7: Um gêiser borbulhando água.

Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/822419>



Foto: Cristiano Galbiati

Figura 20.8: Gêiser em atividade.
Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/766674>



Foto: Jeremy Doorten

Figura 20.9: Lago termal no Parque Nacional de Yellowstone.
Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/840559>

RESUMO

O sítio ativo de uma enzima é a região de sua estrutura à qual o substrato se liga e que promove a catálise da reação. Existem dois modelos que explicam a interação de uma enzima com seu substrato: o modelo chave e fechadura e o modelo de ajuste induzido.

Pelo primeiro modelo, a enzima tem seu sítio ativo de forma geométrica complementar ao substrato, de tal maneira que os dois se encaixam perfeitamente e a catálise da reação tem início. No entanto, este modelo não explica todas as reações enzimáticas, uma vez que a ligação do sítio ativo perfeitamente complementar ao substrato pode, em muitos casos, formar um complexo enzima/substrato de tal ordem estável que a reação se torna energeticamente inviável. Uma explicação para as reações que acontecem sem sítio ativo e substrato de geometria complementar é o ajuste induzido, onde o substrato, ao se ligar à enzima, provoca alterações na conformação desta proteína que fazem com que resíduos importantes à reação a ser catalisada se aproximem e esta aconteça.

Alguns fatores alteram a atividade catalítica de uma enzima, como o pH e a temperatura em que ela se encontra. Cada enzima possui um pH ótimo e uma temperatura ótima de funcionamento. No caso do pH, este valor dependerá do meio em que ela atua e dos resíduos de aminoácidos envolvidos na catálise. Já no caso da temperatura, o valor ótimo se refere em geral à temperatura do animal (no caso dos animais que controlam suas temperaturas corporais) ou do ambiente em que ele vive (no caso daqueles que não controlam a temperatura corporal).

INFORMAÇÃO SOBRE A PRÓXIMA AULA

Na próxima aula, você vai estudar mais sobre a velocidade de reação das enzimas, no campo de estudo que chamamos cinética enzimática. Até lá!

Cinética enzimática: partindo da prática para a teoria

AULA 21

Meta da aula

Apresentar teoria de cinética enzimática e relacioná-la aos resultados obtidos por você nas aulas práticas sobre este assunto.

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- 1 definir a constante de Michaelis (K_M);
- 2 relacionar K_M e afinidade de uma enzima por seu substrato;
- 3 identificar inibidores irreversíveis, reversíveis competitivos e reversíveis não-competitivos;
- 4 elaborar um relatório de aula prática.

Pré-requisito

Tenha em mãos o roteiro da aula prática com todos os resultados obtidos por seu grupo. Você vai precisar de tudo isso para confeccionar, ao final desta aula, um relatório.



Colocamos como um dos objetivos desta aula a elaboração do relatório da aula prática, porque é a partir dos fundamentos teóricos apresentados nela que você vai poder construir os gráficos solicitados em cada um dos itens de seu roteiro de prática e vai responder a todas as questões do estudo dirigido.

INTRODUÇÃO

Diversas doenças no nosso organismo podem ser causadas por disfunções nas atividades de algumas enzimas. Vejamos alguns exemplos:

Fenilcetonúria: doença causada por uma deficiência na enzima que metaboliza o aminoácido fenilalanina. Já comentamos sobre ela na Aula 8; só para relembrar, o acúmulo desse aminoácido pode causar retardo mental, retardo no desenvolvimento psicomotor, dentre outros problemas.

Adrenoleucodistrofia: doença causada pela deficiência na enzima que metaboliza gorduras de cadeias muito longas. Essas gorduras não metabolizadas se acumulam, especialmente no cérebro, e passam a interferir na capa de gordura que envolve os neurônios e isola o impulso nervoso, a bainha de mielina. É uma doença neurodegenerativa (para saber mais, veja o box *O óleo de Lorenzo*).

Hemólise (destruição de hemácias): dentre muitas causas possíveis para esta doença, uma delas é a deficiência em uma enzima que participa da via de síntese de açúcares de cinco carbonos, uma via metabólica importante nas hemácias. A deficiência nesta enzima, a glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), compromete a integridade das membranas das hemácias; o diagnóstico é feito monitorando a atividade da G6PD.

Doença de Gaucher: um produto do metabolismo de gorduras, os glucocerebrosídeos, não é metabolizado e se acumula nos tecidos, principalmente no fígado e baço. Isso causa anormalidades no funcionamento destes órgãos. O tratamento é feito pela reposição da enzima que não metabolizou os glucocerebrosídeos.

Tanto para monitorar o acontecimento de algumas doenças quanto para tratá-las, é importante conhecer bem o funcionamento das enzimas.

Você já viu na Aula 21, com detalhes, que o pH e a temperatura do meio de reação afetam bastante a atividade da enzima; na aula prática, você mesmo pode testar o efeito da temperatura sobre a atividade enzimática.

O tipo de estudo que você fez na aula prática, chamado cinética enzimática, é a abordagem mais clássica para o estudo das enzimas, e até hoje é fundamental para a total compreensão do funcionamento dessas proteínas.

Que tal entender os princípios básicos da cinética enzimática aproveitando os resultados obtidos na aula prática?



NICK NOLTE SUSAN SARANDON
LORENZO'S OIL



SOME PEOPLE MAKE THEIR OWN MIRACLES.

O óleo de Lorenzo

Este filme conta a história de um garoto sobre quem se descobriu, aos seis anos, que tinha problemas mentais conseqüentes de uma doença, diagnosticada como adrenoleucodistrofia (ADL). Esse mal, incurável, provoca a degeneração do cérebro e leva o doente à morte em poucos anos. Os pais do menino, representados por Susan Sarandon e Nick Nolte, ficam descontentes com os prognósticos médicos e resolvem estudar a doença por conta própria.

O filme foi feito em 1992, sob a direção de George Miller, e vale a pena conferir!

MAIS SUBSTRATO = REAÇÃO MAIS RÁPIDA?

Uma das experiências mais comuns no estudo de uma enzima é a medida de sua atividade em função da concentração de seu substrato. Esta experiência é feita da seguinte forma:

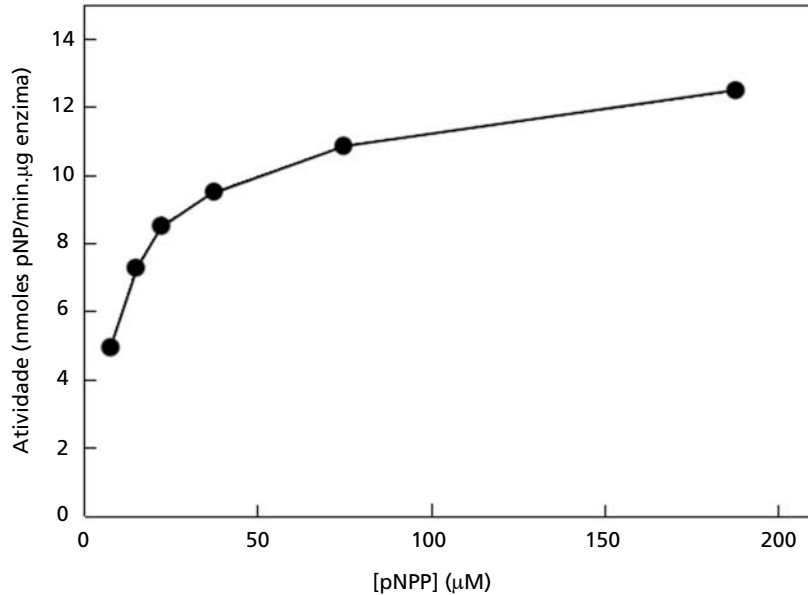
1. Em diferentes tubos de ensaio, coloca-se as mesmas quantidades de enzima, variando apenas a quantidade de substrato.
2. Após determinado tempo de reação (previamente estimado para a enzima em questão de acordo com suas características cinéticas), mede-se a quantidade de produto formado. Para isso, é possível usar diferentes metodologias, cuja escolha depende do produto da reação. No caso da aula prática, o produto era colorido e sua formação podia ser medida em um espectrofotômetro, lembra-se?

Observe o gráfico obtido quando a atividade da enzima fosfatase alcalina foi medida em função da variação da concentração de seu substrato, o **p-NPP**.

p-NPP

p-NPP, ou para-nitro-fenol-fosfato, é um composto que serve de substrato para a enzima fosfatase alcalina, e que é amplamente utilizado para ensaios químicos envolvendo essa proteína. Quando é metabolizado pela enzima, o p-NPP se transforma em para-nitro-fenol, p-NP, que é um composto de cor amarela, visualizável por espectrofotômetro.

Gráfico 21.1: Atividade da enzima fosfatase alcalina em função da quantidade de substrato (p-NPP) adicionada ao meio de reação



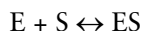
Quanto mais substrato adicionamos à reação, maior a atividade da enzima. Assim, fica claro que um fator importante para a velocidade da reação é a concentração de substrato, que representaremos, a partir de agora, como $[S]$. Entretanto, um complicador para tais medidas é o fato de que a $[S]$ varia durante o curso da reação, já que o substrato vai sendo convertido em produto.

Uma maneira de contornar este problema é sempre medir o produto da reação quando ela ainda está acontecendo em sua velocidade inicial (V_0 – lê-se “vê zero”), ou seja, quando a diminuição da concentração de substrato ainda é insignificante. Isso é possível se adicionarmos todos os componentes da reação ao tubo de ensaio e, somente aí, colocarmos a enzima e medirmos a formação do produto. O intervalo de tempo entre colocar a enzima e medir a formação do produto é um parâmetro chave. Na nossa experiência, usamos um tempo de reação que garantia que estávamos trabalhando em velocidade inicial. Com este procedimento, garantimos que a variação na $[S]$ fosse insignificante e, por isso, podemos considerar seu valor constante.

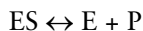
Observando o **Gráfico 21.1**, você pode ver que, em concentrações relativamente baixas de substrato, a velocidade inicial da enzima (V_0) aumenta quase que linearmente em função do aumento da $[S]$. À medida que aumentamos a $[S]$, a resposta de V_0 – aumentando – é cada vez menor, até que, em determinado ponto, o aumento de V_0 é praticamente nulo. Neste momento, a enzima alcançou sua capacidade máxima de catálise. O platô que você vê no **Gráfico 21.1** corresponde ao alcance da velocidade máxima da reação, ou $V_{\text{máx}}$ (lê-se “vê máxima”).

Dois importantes cientistas do início do século XX, **LEONOR MICHAELIS** e **MAUDE MENTEN**, descobriram que a formação do complexo enzima-substrato (ES), que você aprendeu com tantos detalhes na Aula 20, influencia diretamente a velocidade máxima de catálise de uma enzima em uma reação. Eles propuseram que a enzima, inicialmente, se combinava com o substrato de forma rápida e reversível. O passo seguinte, mais lento, era a dissociação de ES, gerando enzima livre e produto:

Enzima se liga ao substrato, formando de maneira reversível um complexo:



O substrato é convertido em produto, que se dissocia lentamente da enzima, que fica livre para uma nova catálise:



LEONOR MICHAELIS (1875-1949)

Leonor Michaelis, bioquímico alemão, dedicou-se em toda sua carreira ao estudo de parâmetros físico-químicos aplicados à Biologia e à Medicina.

Além da famosa equação para explicar a cinética das reações enzimáticas, ele foi fundamental para que hoje seja possível fazer ondas permanentes nos cabelos.

Ele descobriu que a proteína queratina – que compõe os cabelos – é solúvel em uma determinada substância, o ácido tioglicólico.

Essa substância é utilizada na primeira etapa do permanente, reduzindo as pontes dissulfeto.

MAUDE LEONORA MENTEN (1879-1970)

Maude Leonora Menten, médica canadense, foi uma das cientistas mais versáteis e inovadoras da Química no início do século XX. Viajou, na companhia de Michaelis, para Berlim, onde desenvolveu junto com este pesquisador seu trabalho mais notável: a equação de Michaelis e Menten. O mais interessante é que, a despeito de sua paixão pela investigação científica, ela também se dedicava à música, às artes (existem algumas telas suas expostas em uma galeria de arte em Pittsburgh, nos EUA) e, pode acreditar, à escalada de montanhas.



Como a segunda reação é mais lenta, ela é a etapa que limita a conversão de substrato em produto. A velocidade de formação do produto será proporcional à concentração de ES, ou seja, a rapidez com que o complexo ES se desfaz determina a velocidade de formação do produto.

Com o que dissemos, você agora sabe que uma enzima pode existir sob duas formas: livre ou associada ao substrato. Quando a concentração de substrato no meio de reação é baixa, a maior parte das enzimas está livre; logo, a velocidade da reação será proporcional unicamente à [S].

Já quando oferecemos muito substrato ao meio de reação, ou seja, quando a [S] é muito maior do que a concentração de enzima, todas as enzimas se encontram na forma ES. Nesse ponto, a velocidade máxima da reação é alcançada.

Quando uma reação atinge sua $V_{\text{máx}}$, dizemos que a [S] é **SATURANTE**. Afinal, se todas as enzimas estão ocupadas com substrato, aumentar mais ainda a [S] não irá resultar em nenhum aumento da velocidade da reação.

Quando uma enzima é misturada com seu substrato em concentração saturante, rapidamente se inicia a formação de diversos complexos ES. Este período da reação é denominado pré-estado estacionário, e ele é marcado pelo aumento expressivo da concentração de ES. O pré-estado estacionário é seguido do **ESTADO ESTACIONÁRIO**, no qual a concentração de ES é constante ao longo do tempo (**Figura 21.1**) (a duração do pré-estado estacionário é tão curta que é quase impossível medi-lo).

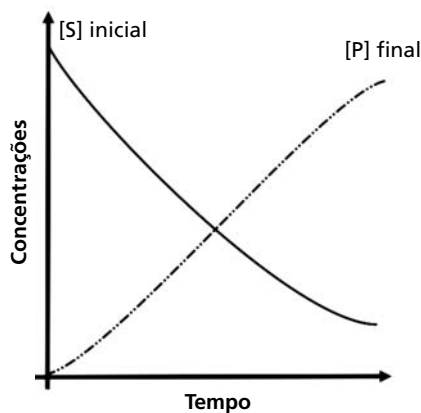
SATURANTE

A concentração de substrato dita saturante é aquela que ocupa todos os sítios ativos das enzimas presentes em um meio de reação.

ESTADO ESTACIONÁRIO

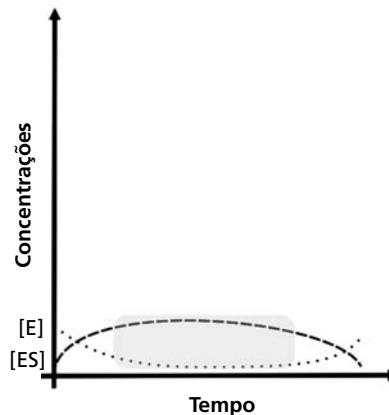
Momento da reação em que a concentração do complexo ES é constante. O conceito de estado estacionário foi formulado por dois pesquisadores, Briggs e Haldane, em 1925. Haldane, inclusive, foi um enzimólogo importante, que você já conheceu na Aula 20, quando mencionamos que ele participou da elucidação do mecanismo de ligação da enzima ao seu substrato.

Gráfico A, representando as concentrações de substrato e produto em função do tempo.



— Substrato
- - - Produto

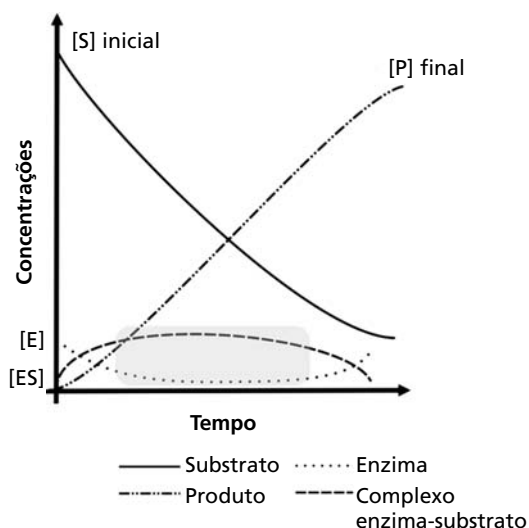
Gráfico B, representando as concentrações de enzima livre e de enzima associada ao substrato, ao longo do tempo.



..... Enzima
- - - Complexo enzima-substrato



Gráfico C, mostrando os tempos em que acontecem os processos apresentados nos gráficos A e B, uma vez que são dependentes uns dos outros.



— Substrato Enzima
- - - Produto - - - Complexo enzima-substrato

Figura 21.1: Variações da concentração de produto, substrato, enzima e do complexo enzima-substrato em uma reação, ao longo do tempo. No gráfico A, você vê que a concentração de substrato diminuiu ao longo do tempo, ao passo que a do produto, aumenta. No gráfico B, você pode observar que a concentração de enzima livre no início da reação diminui rapidamente e só retorna a seus valores iniciais no final da reação. Nesse meio tempo, toda a enzima está envolvida na reação, associada ao substrato formando o complexo ES. A região sombreada neste gráfico indica o estado estacionário, e a região imediatamente antes do sombreado, o momento pré-estado estacionário. O gráfico C mostra a junção dos outros dois, para que você possa acompanhar ao mesmo tempo todas as variações de concentração de enzima, substrato, complexo ES e produto ao longo da reação, uma vez que estes processos acontecem e estão relacionados.

Somente quando o substrato começa a sair da concentração saturante (por ter sido convertido em produto) é que a reação sai do estado estacionário. Normalmente, nesta situação, ela se encaminha para o seu fim: o substrato praticamente acaba, grande quantidade de produto é formada e o complexo ES se desfaz, deixando a enzima (E) livre novamente.

Na verdade, essas variações entre os estados durante uma reação são quase que instantâneas. Assim, em condições laboratoriais, sempre que fazemos a medida da cinética da reação catalisada por uma enzima, mesmo em V_0 , estamos trabalhando com a reação já no estado estacionário.

Elucidando numericamente uma reação enzimática – a equação de Michaelis e Menten

A fim de relacionar a velocidade de uma reação enzimática com a concentração de substrato usada, Leonor Michaelis e Maud Menten, pesquisadores que começaram a elucidar a cinética das reações enzimáticas como mencionamos antes, propuseram a seguinte fórmula, batizada de equação de Michaelis e Menten:

Equação de Michaelis e Menten

$$V_0 = \frac{V_{\text{máx}} [S]}{K_M + [S]}$$



Caso você queira conhecer mais profundamente a equação, assim como a sua dedução matemática, consulte qualquer livro de Bioquímica, como os que você encontra na biblioteca do seu pólo (por exemplo, Lehninger – *Princípios de Bioquímica*). O importante para nós, nesta aula, é entender como podemos usá-la para determinar os parâmetros cinéticos de uma enzima, que servirão para compreendermos seu funcionamento. Além disso, é fundamental você ter sempre em mente que todos esses estudos e deduções são sempre feitos em condições que garantam que a velocidade da reação medida é a velocidade inicial, ou seja, que ainda não há uma variação significativa da [S].

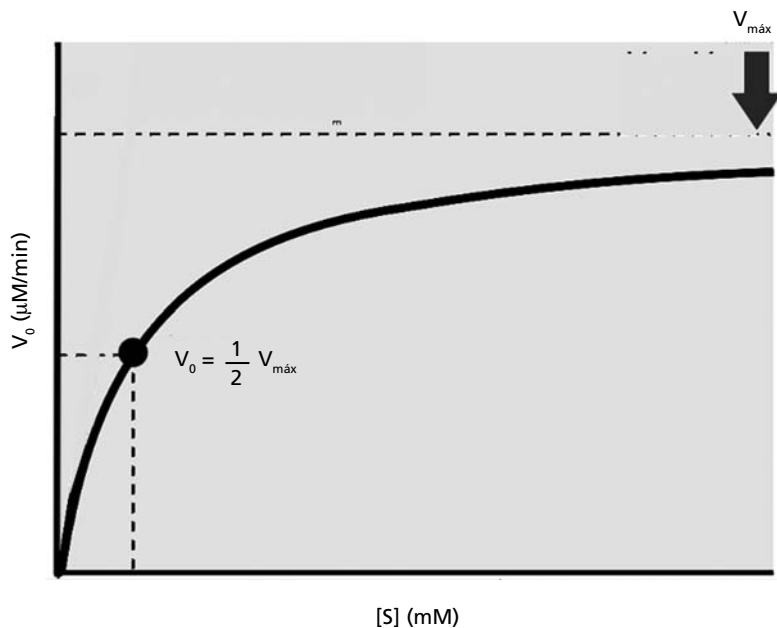
Embora pareça complicada, esta equação apenas relaciona, numericamente, os parâmetros de uma reação sobre os quais já conversamos na seção anterior desta aula: velocidade inicial, velocidade máxima e concentração de substrato ([S]). A novidade nessa expressão

matemática é o termo K_M , do qual não falamos ainda, mas que tem uma enorme importância para o estudo da cinética das enzimas.

O K_M é a constante de Michaelis, que corresponde à relação entre as constantes de velocidade de formação e dissociação do complexo ES (como você poderá ver melhor se estudar a dedução da equação de Michaelis e Menten). Este parâmetro da cinética de uma enzima pode nos trazer muitas informações sobre seu funcionamento, mas vamos com calma. Primeiro, vamos conhecer uma estratégia para se obter o valor de K_M .

Imagine que façamos um gráfico no qual estejam relacionadas velocidade inicial da reação e concentração de substrato (**Gráfico 21.2**):

Gráfico 21.2: Relação entre a velocidade inicial da reação e a concentração de substrato consumida durante uma reação



Como você pode ver neste gráfico, para uma determinada concentração de substrato, a velocidade inicial da reação apresenta valor numérico igual à metade do valor da $V_{\text{máx}}$ que esta reação alcançará. Escrevendo isso por uma fórmula, como no gráfico, temos:

$$V_0 = \frac{1}{2} V_{\text{máx}}$$

Então, para esta [S], podemos substituir o termo V_0 na equação de Michaelis e Menten pela expressão $V_0 = \frac{1}{2} V_{\text{máx}}$:

$$V_0 = \frac{V_{\text{máx}} [S]}{K_M + [S]} \rightarrow \frac{1}{2} V_{\text{máx}} = \frac{V_{\text{máx}} [S]}{K_M + [S]}$$

Você deve se lembrar de que, matematicamente, é possível dividir os dois lados de uma equação por um mesmo número sem alterar seu resultado. Assim, veja o que acontece quando dividimos os dois lados da equação por $V_{\text{máx}}$:

$$\frac{1 V_{\text{máx}}}{2 V_{\text{máx}}} = \frac{V_{\text{máx}} [S]}{K_M + [S] V_{\text{máx}}} \rightarrow \frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_M + [S]}$$

Agora, podemos fazer a multiplicação cruzada do denominador de um lado com o numerador do outro:

$$\frac{1}{2} (K_M + [S]) = [S] \rightarrow K_M + [S] = 2 [S]$$

Continuando a resolver a expressão...

$$K_M + [S] = 2 [S]$$

$$K_M = 2[S] - [S]$$

Logo...

$$K_M = [S]$$

Esta expressão nos mostra que o valor do K_M é equivalente à concentração do substrato que faz com que a velocidade inicial da reação seja metade da velocidade máxima da reação.

Uma enzima que precise de uma quantidade de substrato pequena para alcançar a metade da sua $V_{\text{máx}}$ é uma enzima capaz de se associar com facilidade ao seu substrato. Já uma enzima que precise de muito substrato para que sua velocidade inicial chegue à metade da $V_{\text{máx}}$ é uma enzima que não se associa ao seu substrato tão facilmente. Essa facilidade, maior ou menor, de uma enzima se associar ao seu substrato é chamada afinidade.

Quando dissemos que o K_M fornece informações importantes sobre a cinética de uma enzima, era neste ponto que queríamos chegar: a afinidade de uma enzima por seu substrato.

Se o K_M equivale à concentração de substrato com a qual a velocidade inicial da reação é metade da $V_{máx}$, uma enzima com K_M muito alto precisa de muito substrato para atingir metade da sua velocidade máxima. Já um valor de K_M baixo significa que a enzima atinge essa velocidade na presença de pouco substrato.

Podemos concluir, a partir destas informações, que o valor de K_M é inversamente proporcional à afinidade da enzima por seu substrato: quanto maior o K_M , menor a afinidade da enzima por seu substrato; quanto menor o K_M , maior a afinidade.



O K_M equivale ao valor da concentração de substrato que faz com que a reação atinja metade da sua $V_{máx}$. Quanto menor for a quantidade de substrato para isso acontecer, maior é a afinidade da enzima por seu substrato.

Assim:

Enzima com ALTO K_M = enzima com BAIXA afinidade pelo substrato.

Enzima com BAIXO K_M = enzima com ALTA afinidade pelo substrato.

É possível que você, agora, esteja um pouco zozinho com tantos conceitos e tantos números em uma aula só. Por isso, nada melhor do que fazer uma atividade para consolidar o que você estudou até agora, verificar se já tem tudo claro na cabeça ou precisa reler algum trecho da aula. Mãos à obra!

ATIVIDADE



1. Qual é mais afim?



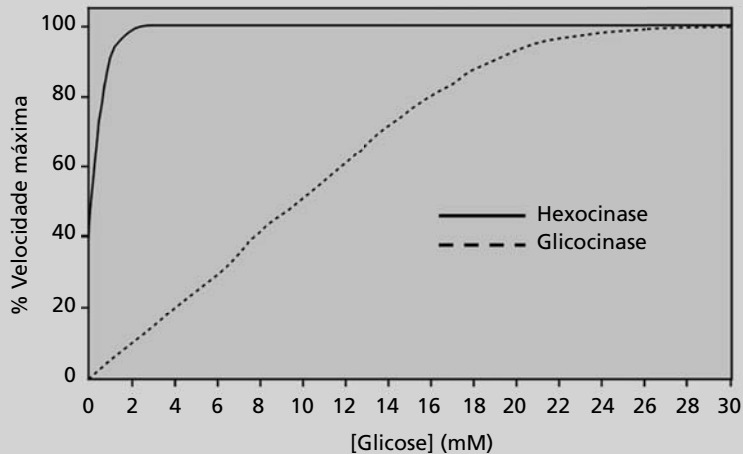
Um dos passos mais importantes do metabolismo de glicose dentro de uma célula é “etiquetar” essa glicose para ela poder ser usada pelas vias de destino e, ao cabo, gerar energia etc. Essa “etiqueta” que é colocada na glicose é a adição de um grupamento fosfato no sexto carbono da cadeia que forma este açúcar. Veja um esquema da reação:

Glicose → glicose-6-fosfato

Existem diferentes isoformas da enzima que catalisa a conversão da glicose em glicose-6-fosfato (G6P). Essas isoformas são enzimas levemente diferentes, que catalisam a mesma reação, e que são expressas em tecidos diferentes no nosso corpo.

No cérebro, a isoforma é denominada *hexocinase*, enquanto no fígado a enzima é denominada *glicocinase*. Veja a cinética das reações catalisadas por estas duas enzimas:

Atividade das enzimas hexocinase e glicocinase em função da concentração de seu substrato, a glicose.



Analisando o gráfico e com as informações que demos no enunciado, responda:

a. Qual das duas enzimas precisa de uma maior concentração de substrato para atingir sua velocidade máxima?

Hexocinase Glicocinase

b. O que é K_M ?

c. Pela análise do gráfico, qual das duas enzimas apresenta maior K_M ?

Hexocinase Glicocinase

d. Qual enzima apresenta maior afinidade pelo seu substrato (glicose)?

Hexocinase Glicocinase

RESPOSTAS COMENTADAS

a. Observando o gráfico, você deve ter percebido que a glicocinase alcança a velocidade máxima em uma concentração de substrato bem mais alta do que a hexocinase.

b. Como você bem sabe, o K_M representa o valor da concentração do substrato em que a enzima atinge metade da sua $V_{m\acute{a}x}$.

c. Se você realmente entendeu a definição de K_M , não deve ter tido nenhuma dificuldade em responder à esta pergunta. Isto porque,

se a glicocinase chega à velocidade máxima em uma concentração muito mais alta de substrato do que a hexocinase, a concentração de substrato que ela precisa para atingir metade da $V_{\text{máx}}$ também é mais alta. Portanto, seu K_M é mais alto do que o da hexocinase! Na verdade, o K_M da hexocinase para glicose é de 0,1 mM, enquanto o K_M da glicocinase para a glicose é de 10 mM.

d. Pelo gráfico e pela análise do K_M das duas enzimas, é possível concluir que a hexocinase apresenta muito maior afinidade pela glicose do que a glicocinase. Afinal, quem tem maior K_M tem menor afinidade pelo substrato, e vice-versa.

Só por curiosidade, a diferença na afinidade das duas enzimas e os tecidos em que elas se encontram têm um motivo fisiológico. A concentração basal de glicose no sangue é de aproximadamente 4,5 mM. Assim, na faixa fisiológica de concentração de glicose, o cérebro pode usar a glicose em velocidade máxima, enquanto o fígado não. Isso é importante porque o fígado pode usar gorduras para gerar energia para suas células, mas o cérebro não, pois as moléculas de gordura se associam a proteínas para circularem, o que as impede de atravessar a barreira que há entre o sangue e o cérebro (barreira hemato-encefálica).

Como calcular precisamente os valores de K_M e $V_{\text{máx}}$ para uma reação?

A equação de Michaelis e Menten pode ser algebricamente transformada em outras equações de maior utilidade experimental. Uma transformação simples e muito útil é feita invertendo-se os numeradores com os denominadores. Assim:

Equação de Michaelis e Menten:
$$V_0 = \frac{V_{\text{máx}} [S]}{K_M + [S]}$$



Equação de Michaelis e Menten
com numeradores e
denominadores invertidos:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_M + [S]}{V_{\text{máx}} [S]}$$

Separando os componentes do numerador do lado direito da expressão, temos:

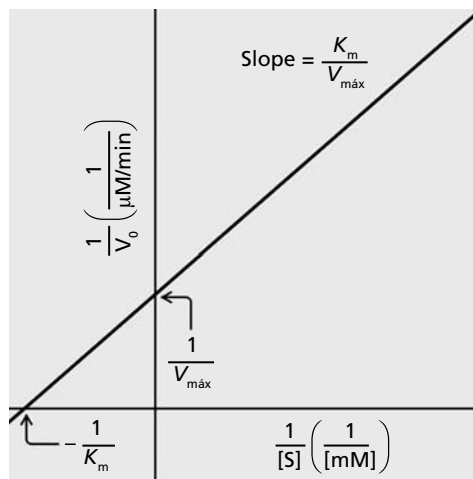
$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_M}{V_{\text{máx}} [S]} = \frac{[S]}{V_{\text{máx}} [S]}$$

Repare que na parcela do lado direito temos [S] sendo dividida por [S]. Assim, esta equação pode ser simplificada:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_M}{V_{\text{máx}} [S]} = \frac{1}{V_{\text{máx}}}$$

Esta equação que obtivemos é denominada **equação de Lineweaver-Burk**, em homenagem aos pesquisadores que a deduziram. Ela é também chamada de “duplo recíproco”, assim como o gráfico que ela gera, já explicaremos por quê. Você deve estar achando que não faz nenhuma diferença aplicar a equação de Michaelis e Menten ou a de Lineweaver-Burk à cinética de uma enzima. No entanto, a grande diferença aparece quando você plota os dados, obtidos experimentalmente, em um gráfico: a equação de Michaelis e Menten gera uma **hipérbole**, ao passo que a de Lineweaver-Burk gera uma reta, muito mais fácil de analisar. Veja um exemplo:

Gráfico 21.3: O duplo recíproco – um gráfico para cinética enzimática em forma de reta, obtido a partir do uso da equação de Lineweaver-Burk. No eixo y, o inverso da velocidade inicial ($1/V_0$); no x, o inverso da concentração de substrato ($1/[S]$).



No gráfico gerado a partir da equação de Michaelis e Menten, não é trivial encontrar o ponto exato em que a velocidade inicial se iguala à metade da velocidade máxima. Em outras palavras, não é fácil encontrar, naquele tipo de gráfico, o valor de $V_{\text{máx}}$ e do K_M . No entanto, no gráfico do duplo recíproco, os dados obtidos geram uma reta, a qual cruza o eixo y (que, neste caso, é o inverso da V_0) e o eixo x (que, neste tipo de gráfico, é o inverso da [S]).

O valor em que a reta cortar o eixo y equivalerá ao inverso da velocidade máxima. O valor em que a reta cortar o eixo x equivalerá ao inverso de $-K_M$. Além disso, a inclinação da reta pode ser obtida apenas dividindo-se o K_M pela $V_{\text{máx}}$.

Assim, só de olhar um gráfico do duplo recíproco e de fazer alguns cálculos bastante simples, encontramos as informações importantes sobre a cinética de uma enzima: o seu K_M e sua $V_{\text{máx}}$.

Até agora, você viu como varia a velocidade de reação de uma enzima em função da concentração de seu substrato. Você viu que, aumentando-se a concentração de substrato, uma enzima tem sua velocidade de reação aumentada até alcançar a $V_{\text{máx}}$.

No entanto, é possível que uma enzima, em condições ideais de temperatura e pH e na presença de seu substrato, não seja capaz de realizar sua catálise. Por quê? Veja na seção a seguir.

INIBIÇÃO DA ATIVIDADE DAS ENZIMAS

Uma enzima pode, mesmo na presença de seu substrato e em condições ótimas para o seu funcionamento, não realizar catálise, ou ter sua velocidade de reação diminuída. Isso pode acontecer se, no meio de reação, houver aquilo que chamamos de inibidor enzimático.

Um inibidor enzimático é uma molécula capaz de se associar à enzima e reduzir ou até zerar sua velocidade de catálise, isto é, de gerar produto a partir do substrato.

Existem dois tipos de inibidor: os irreversíveis e os reversíveis.

1. Inibidores irreversíveis – são aqueles que se ligam à enzima, modificando sua estrutura de tal forma que inutilizam permanentemente essa proteína.

2. Inibidores reversíveis – são aqueles que podem se dissociar da enzima e, de acordo com a maneira como isso acontece, estão subdivididos em:

a. Inibidores reversíveis competitivos: competem com o substrato pela ligação ao sítio ativo da enzima. Assim, se aumentamos a concentração de substrato, favorecemos o acontecimento da catálise por dois mecanismos:

– aumentando a chance de enzimas livres se associarem ao substrato em vez de ao inibidor;

– deslocando o inibidor da enzima. Por afinidade, o substrato pode fazer com que a enzima se dissocie do inibidor e se associe a ele e, a partir daí, aconteça a reação.

b. Inibidores reversíveis não-competitivos: são aqueles que se associam à enzima em uma parte de sua estrutura diferente daquela onde se liga o substrato. Esta ligação promove alterações na enzima, de forma que a catálise seja comprometida e que, mesmo aumentando a concentração de substrato, nenhuma mudança no acontecimento da reação seja observada.

ATIVIDADE FINAL



Inibidores enzimáticos

Nos trechos a seguir, relatamos os três mecanismos de inibição enzimática possíveis: irreversível, reversível competitivo e reversível não-competitivo. Identifique que letra corresponde a que tipo de inibição e sublinhe a frase que lhe revelou o mecanismo:

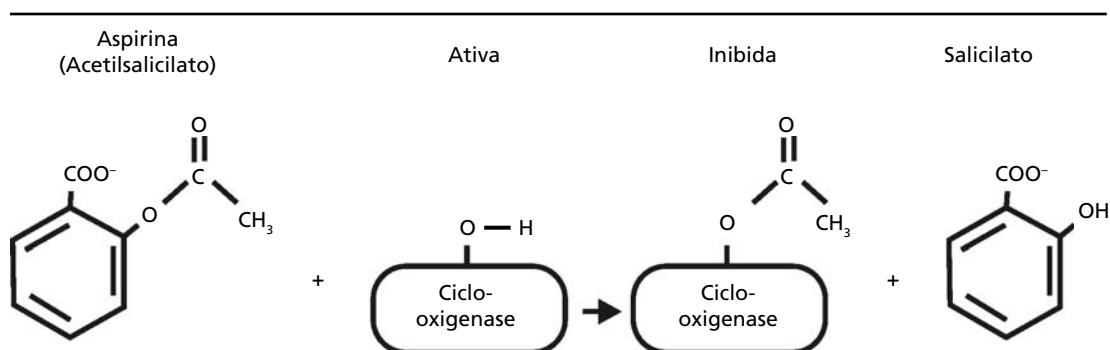
a. A produção das hemácias no nosso organismo depende da produção de heme, composto capaz de se ligar ao oxigênio possibilitando o transporte deste gás pelo nosso organismo, como você viu na Aula 16. Uma das enzimas da via de síntese do heme se chama ALAD.

Em locais onde há contaminação por metal pesado como o chumbo, os organismos, em contato com esse metal, podem sofrer de anemia. Isso porque o chumbo se liga a um sítio da estrutura da ALAD, de onde não pode ser removido pelo aumento da concentração de ALA (substrato da enzima). No entanto, poderia ser removido por uma molécula capaz de “grudar” metais.

Inibição _____

b. A aspirina é um medicamento para dores de cabeça que atua em uma enzima da via de processos inflamatórios, a ciclooxigenase.

Funciona assim:



A aspirina (ácido acetilsalicílico) se liga à enzima ciclooxigenase, que fica modificada permanentemente, impedindo a continuação da via de síntese de moléculas que promovem a sensação de dor (prostaglandinas).

Inibição _____

c. A angiotensina 2 é uma molécula que promove a vasoconstrição e, conseqüentemente, o aumento da pressão arterial. Ela é produzida por uma reação catalisada pela enzima conversora de angiotensina (ECA):



Medicamentos como o captopril e o enalapril são capazes de inibir a enzima ECA, controlando a pressão arterial. No entanto, esta inibição só funciona por um determinado período de tempo, necessário para a concentração de angiotensina 1 aumentar e disparar sua conversão em angiotensina 2.

Inibição _____

RESPOSTA COMENTADA

Como você viu nesta aula, há três mecanismos de inibição enzimática. Em um, o inibidor é capaz de promover uma alteração permanente na estrutura da enzima, de forma que, mesmo que ele se desligue dela, essa enzima continua inativada. Este tipo de inibição é chamado irreversível e é o que acontece quando tomamos uma aspirina para dor de cabeça.

Em outro, o inibidor se liga à enzima, mas pode ser deslocado caso a concentração de substrato para esta enzima seja aumentada. Este tipo de inibição, a inibição competitiva reversível, é o que faz remédios para controle de hipertensão como o captopril e o enalapril.

Por fim, o terceiro tipo de inibição é caracterizado pela ligação do inibidor à enzima em um sítio diferente daquele em que se liga o substrato. Embora diferente, esta ligação afeta a atividade da enzima. Aumentar a concentração de substrato não influencia, neste caso, a velocidade da reação, pois ele não é capaz de deslocar o inibidor da estrutura da enzima. Este tipo de inibição é chamado reversível não-competitiva e é o caso do chumbo que, ligado à ALAD, inibe a sua atividade sem que o aumento da concentração de ALA faça qualquer diferença neste quadro.

RESUMO

A concentração de substrato é um dos fatores que influenciam a velocidade de uma reação enzimática. A adição de mais substrato ao meio de reação aumenta a velocidade desta reação até um certo ponto. Quando concentração de substrato ($[S]$) é suficiente para ocupar todas as moléculas de enzima, dizemos que a reação está com uma $[S]$ saturante; nestas condições, a enzima atinge sua velocidade máxima de catálise.

Dois pesquisadores, Michaelis e Menten, se dedicaram intensamente a desvendar a cinética das reações enzimáticas. Eles chegaram à conclusão de que, durante a reação, rapidamente se forma um complexo entre enzima e substrato, chamado ES; com a formação deste complexo é possível que o produto da reação seja formado. Este se dissocia da enzima, que volta à sua forma livre, etapa esta que é mais lenta e, por isso, a limitante da reação. Michaelis e Menten propuseram uma equação que relaciona os parâmetros velocidade inicial, velocidade máxima

e concentração de substrato, levando em consideração uma constante chamada constante de Michaelis, o K_M .

O valor do K_M corresponde à concentração de substrato com a qual a reação atinge metade da sua $V_{m\acute{a}x}$. Ele pode ser entendido também como uma medida de afinidade da enzima pelo seu substrato: quando mais baixo o K_M , maior a afinidade da enzima por seu substrato, e vice-versa.

A equação de Michaelis e Menten foi objeto de estudo de outros cientistas também. Uma derivação dela foi elaborada por Lineweaver e Burk, que propuseram uma equação cujo gráfico fornece os dados em uma reta, e não uma hipérbole. Este tipo de gráfico, o duplo recíproco, fornece os valores de K_M e $V_{m\acute{a}x}$ de forma mais fácil de calcular do que o gráfico gerado pela equação de Michaelis e Menten.

Embora o aumento da concentração de substrato, em geral, desencadeie o funcionamento da enzima, há situações em que isso não acontece. Estas situações estão relacionadas à presença de um composto chamado inibidor, que se associa à enzima (ou modifica sua estrutura), impedindo seu funcionamento. Há três tipos de inibidores: os que modificam as enzimas definitivamente (irreversíveis), os que competem com o substrato pela enzima (reversíveis competitivos) e os que não competem com o substrato pela enzima (reversíveis não-competitivos).

Você realmente sabe o que são vitaminas?

Meta da aula

Apresentar o que são vitaminas e seus papéis no bom funcionamento do organismo.

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- 1 definir vitaminas;
- 2 identificar a importância desses compostos para o organismo;
- 3 identificar alimentos que sejam fontes de determinadas vitaminas.

Pré-requisito

Antes de começar a estudar esta aula, é importante que você volte à Aula 20 e relembre o que é sítio ativo de uma enzima, bem como a participação dos aminoácidos da enzima na catálise de uma reação.



Foto: Sanja Gjenero

Fonte: www.sxc.hu/photo/732221



Foto: Meliha Gojak

Fonte: www.sxc.hu/photo/774158



Foto: Kotz

Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/771855>



Foto: Meliha Gojak

Fonte: www.sxc.hu/photo/774156

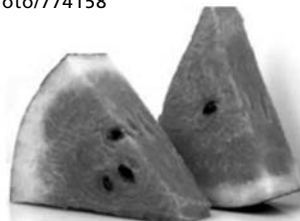


Foto: Meliha Gojak

Fonte: www.sxc.hu/photo/840735

INTRODUÇÃO

Provavelmente todos nós ouvimos, quando crianças, que devíamos comer frutas e legumes porque estes alimentos contêm vitaminas, que são importantes para crescermos fortes e saudáveis etc.

É bem possível também que você já tenha visto em pacotes de biscoitos, normalmente voltados para o público infantil, a expressão “biscoito vitaminado”.

Às vezes, damos preferências a esses produtos vitaminados, valorizamos a adição de vitaminas aos alimentos, mas... sabemos de fato o que são estes compostos? Sabemos qual é a importância das vitaminas para o organismo?

Por que é tão comum escutarmos que as crianças precisam tanto de vitaminas?

O que acontece quando esses compostos faltam no nosso organismo?

Não tinha parado para pensar nisso ainda? Ficou curioso? Então você tem um bom motivo para começar a estudar esta aula!

AS FAMOSAS VITAMINAS

As vitaminas são moléculas orgânicas pequenas não sintetizadas pelo nosso corpo (ou sintetizadas em quantidades insignificantes), mas essenciais ao bom funcionamento do organismo. São obtidas a partir do consumo de diversos alimentos, especialmente frutas e legumes. As vitaminas foram batizadas com este nome porque são essenciais à vida (por isso o prefixo latino *vita* que, em português, significa vida) e porque a primeira delas observada, pelo pesquisador polonês **CASIMIR FUNK**, possuía grupamentos amina (NH_3) em sua estrutura.

Existem diversos tipos de vitaminas, que podem ser divididas em três grupos: hidrossolúveis, lipossolúveis e **nutrientes tipo vitaminas**. As vitaminas hidrossolúveis são, como o próprio nome diz, solúveis em água; as lipossolúveis não são solúveis em água, de forma que elas geralmente estão associadas a lipídeos ou gorduras e são absorvidas a partir da ingestão destes. Esses dois tipos de vitaminas (hidro e lipossolúveis) não são sintetizados em nosso corpo (ou são sintetizados em quantidades insuficientes para as funções que desempenham). Isso, inclusive, é o que as diferencia dos nutrientes tipo vitamina, o terceiro tipo de vitaminas. Os nutrientes tipo vitamina são sintetizados em nosso corpo em quantidades suficientes para as funções que desempenham, podendo ser lipo ou hidrossolúveis. Veja a **Tabela 22.1**, que apresenta as vitaminas divididas de acordo com essa classificação:

Tabela 22.1: Vitaminas de acordo com sua classificação em hidrossolúveis, lipossolúveis e nutrientes tipo vitamina

Vitaminas hidrossolúveis	Vitaminas lipossolúveis	Nutrientes tipo vitaminas
Tiamina (B1)	Vitamina A	Inositol
Riboflavina (B2)	Vitamina D	Colina
Piridoxina (B6)	Vitamina E	Carnitina
Vitamina B12 (cobalamina)	Vitamina K	Ácido lipóico
Ácido nicotínico (niacina ou PP)		p-aminobenzoato (PABA)
Ácido pantotênico		Coenzima Q
Biotina		
Ácido fólico		
Vitamina C		



CASIMIR FUNK (1884-1967)

Bioquímico polonês que observou que havia uma relação entre deficiências alimentares e algumas doenças. Em 1911, ele administrou extratos obtidos de arroz em pombos que apresentavam uma doença chamada beribéri, curando os animais. Como havia grande quantidade de aminas no extrato que ele utilizou, concluiu que naquele extrato havia uma “amina vital”, que, por isso, foi batizada por ele de vitamina. Funk caracterizou a primeira vitamina que a ciência conheceu: a niacina, uma vitamina do complexo B.

PABA

Nutriente tipo vitamina que auxilia no crescimento dos cabelos e na manutenção da pele em boas condições. Você já deve ter ouvido falar em PABA por causa dos filtros solares, pois muitos deles contêm esta substância. Ocasionalmente, os filtros solares contendo PABA causam irritação da pele em algumas pessoas.

Cada uma destas vitaminas tem uma função no nosso organismo, e é isso que você verá na próxima seção!



ATIVIDADE



1. Sobre as vitaminas...

Veja as descrições a seguir:

- É um composto cuja estrutura apresenta um grupamento amina e que é fundamental para o nosso organismo. Essa substância não só participa da composição de moléculas importantes no nosso organismo como atua, ela própria, como um neurotransmissor; é sintetizada no nosso organismo a partir de modificações químicas em outras moléculas que servem de fonte de carbono;
- É um composto cuja estrutura apresenta um grupamento amina e que é fundamental para o nosso organismo, embora não a sintetizemos. Essa substância participa de reações químicas importantes e, sem ela, o bom funcionamento do organismo fica comprometido.

a. Qual destes dois trechos se refere a uma vitamina? Por quê?

b. Toda vitamina apresenta um grupamento amina necessariamente?

c. Uma alimentação balanceada é aquela que possui uma proporção adequada entre proteínas, gorduras, carboidratos, além das vitaminas, é claro. Por que motivo consumir vitaminas como a vitamina A em uma dieta com abstenção de lipídeos é praticamente o mesmo que não consumir esta vitamina, ao passo que o consumo de vitamina B não “percebe” esta ausência das gorduras?

RESPOSTAS COMENTADAS

a. Como você viu na primeira seção desta aula, vitaminas são nutrientes que são essenciais à dieta, pois não são sintetizadas pelo nosso organismo (ou o são, mas em quantidades insuficientes para suprir as necessidades do corpo). Assim, o trecho que se refere a uma vitamina é o trecho 2.

b. A resposta é não. O nome vitamina foi dado em função da estrutura dos primeiros compostos desse tipo que foram descobertos – os quais continham grupamentos amina. Atualmente, os cientistas já revelaram a estrutura de outras vitaminas e nem todas possuem uma amina na sua estrutura.

c. Como você viu, as vitaminas são divididas em três grupos: hidrossolúveis, lipossolúveis e nutrientes tipo vitaminas. As vitaminas lipossolúveis só são solubilizadas, como o próprio nome diz, em gorduras. Isso significa que elas só podem ser absorvidas pelo organismo se, junto com elas, no trato digestivo, houver lipídeos. Esse é o caso da vitamina A. Já a vitamina B é hidrossolúvel, e a presença ou ausência de lipídeos não faz diferença para sua absorção. O que esperávamos que você desse como resposta neste item da atividade era: porque a vitamina A é lipossolúvel e precisa de gorduras para ser absorvida, enquanto a vitamina B é hidrossolúvel e, para sua absorção, não há necessidade de gorduras.

PARA QUE SERVEM AS VITAMINAS?

Podem parecer estranho, mas, antes de começar a explicar para que servem as vitaminas no nosso corpo, é preciso lembrar o que você aprendeu nas aulas anteriores, sobre enzimas.

As enzimas são proteínas capazes de aumentar a velocidade de uma reação química, por diminuírem a energia de ativação existente entre o substrato e seu estado de transição.

São diversas as atividades enzimáticas: quebrar proteínas em peptídeos (proteases); duplicar o DNA (polimerases); quebrar o ATP para liberar energia dentro da célula (ATPases); adicionar novos grupamentos químicos aos substratos, por exemplo fosfatos (fosforilases ou cinases) ou grupamentos carboxilas (carboxilases) etc.

Todas estas atividades só acontecem quando o substrato encontra o sítio ativo da enzima; são os aminoácidos presentes no sítio ativo que possibilitam à enzima exercer sua função.

Um ponto importante é que, dos vinte aminoácidos que compõem as proteínas, apenas nove possuem grupamentos R (grupamentos laterais) com características químicas que possibilitam a mediação de reações enzimáticas (veja o box a seguir).

Aminoácidos “ativos”!

Como você viu na Aula 20, uma reação enzimática acontece a partir da interação do sítio ativo da enzima com seu substrato. No sítio ativo, portanto, deve haver aminoácidos capazes de interagir com o substrato. Como você acabou de ver, apenas nove aminoácidos podem participar de reações enzimáticas como mediadores. São eles: histidina, ácido glutâmico, ácido aspártico, serina, treonina, tirosina, lisina, arginina e cisteína. Por que estes? Por que eles possuem grupamentos laterais que podem agir como ácidos e bases, recebendo prótons ou outros grupos químicos e os transferindo para o substrato da enzima.

Com isso, temos um problema: existe uma infinidade de reações que acontecem no organismo, e várias delas envolvem reações químicas que não podem ser realizadas por esses nove aminoácidos. Como resolver este problema?

Como realizar reações enzimáticas que não podem ser catalisadas pelos nove aminoácidos capazes de realizar transferência de grupamentos químicos?



<http://www.sxc.hu/photo/264245>

Quando uma reação não pode ser mediada por nenhum dos nove aminoácidos formadores de sítios ativos, entram em cena outras moléculas capazes de auxiliar na transferência de grupamentos: as coenzimas. Coenzimas são moléculas orgânicas pequenas que se ligam ao sítio ativo das enzimas e agem junto com elas para catalisar reações bioquímicas.

Neste momento, imagino que você já esteja vislumbrando onde é que entram as vitaminas nesta história... Muito simples: diversas vitaminas são precursoras ou atuam diretamente como coenzimas. Veja a **Tabela 22.2**:

Tabela 22.2: Vitaminas que dão origem ou atuam diretamente como coenzimas

Vitaminas hidrossolúveis	Vitaminas que compõem o COMPLEXO B	Vitaminas	Funções
		Tiamina (B1)	Precursora da coenzima tiamina pirofosfato
Riboflavina (B2)		Precursora da coenzima flavina mononucleotídeo e flavina adenina dinucleotídeo	
Piridoxina (B6)		Precursora da coenzima piridoxal fosfato	
Vitamina B12 (cobalamina)		Precursora da coenzima deoxiadenosil cobalamina	
Ácido nicotínico (niacina ou PP)		Precursora da coenzima nicotinamida adenina dinucleotídeo e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato	
Ácido pantotênico		Precursora da coenzima A (CoA)	
Biotina		Precursora da coenzima biocitina	
Ácido fólico		Precursora da coenzima ácido tetrahidrofólico	
Nutrientes tipo vitamina		Ácido lipóico	Coenzima na descarboxilação oxidativa de cetoácidos
	p-aminobenzoato (PABA)	Componente do ácido fólico, que é precursor de uma coenzima	
	Coenzima Q	Importante para o transporte de elétrons na mitocôndria	

COMPLEXO B

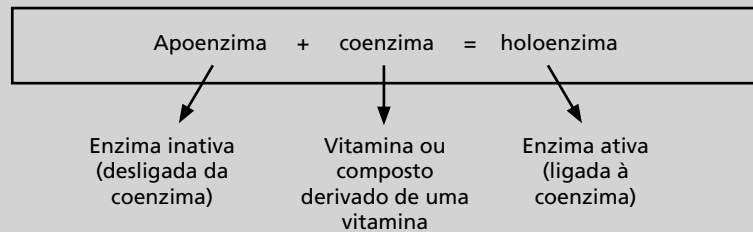
Grupo de vitaminas batizadas com a letra B seguida de um número (ex. B1, B2, B6, B12). Todas as vitaminas do complexo B são hidrossolúveis e são precursoras ou atuam diretamente como coenzimas.

Embora haja, listado nesta tabela, um número grande de reações e compostos de que você nem imagina o significado (e não se preocupe, pois não é relevante saber agora), é importante você saber que as vitaminas são fundamentais como coenzimas de uma série de reações metabólicas. Só para você ter uma idéia, o ácido nicotínico, por exemplo, dá origem à coenzima que sintetiza um dos nucleotídeos que compõem a estrutura do DNA e do RNA. Como uma célula poderia se dividir e sintetizar uma nova molécula de DNA sem esta coenzima necessária para produzir nucleotídeo? Como uma célula poderia sintetizar proteínas se não houvesse nucleotídeo para sintetizar o RNA_m?

A vantagem de se ter compostos como as vitaminas participando de reações enzimáticas é que, por essas moléculas possuírem natureza variada, aumentam o repertório de possíveis reações a serem catalisadas pelas enzimas.



As enzimas que participam de reações com o auxílio de coenzimas são chamadas apoenzimas quando não estão ligadas à coenzima e holoenzimas quando estão ligadas a essa.



ATIVIDADE



2. Para que servem?



Um pesquisador percebeu que ao colocar a proteína que ele estudava em um meio de reação contendo tampão e uma mistura de vitaminas e um determinado composto A. Este composto A desaparecia, e um composto B era formado. Com isso e mais alguns estudos, ele concluiu que sua proteína era uma enzima.

Utilizando técnicas para revelar a estrutura tridimensional desta proteína, ele descobriu que o sítio ativo dela era composto pelos seguintes aminoácidos: glicina, asparagina, metionina e alanina.

Sabendo que estes aminoácidos não são capazes de mediar diretamente reações enzimáticas, como podemos justificar o fato de que esta proteína seja capaz de exercer sua atividade de conversão do composto A em B?

RESPOSTA COMENTADA

Como você acabou de ver nessa seção da aula, um dos papéis mais importantes das vitaminas é o de atuarem como coenzimas ou precursores de coenzimas, as quais medeiam reações enzimáticas que não podem ser mediadas por aminoácidos. Esse papel das vitaminas é fundamental uma vez que, no nosso organismo, temos uma infinidade de reações a serem catalisadas e apenas nove aminoácidos capazes de fazê-lo. Daí a grande importância de estes compostos estarem presentes na nossa alimentação.

OUTRAS FUNÇÕES DAS VITAMINAS

Reparou que, na Tabela 22.2, não estão listadas todas as vitaminas que mencionamos na Tabela 22.1?

Nem todas as vitaminas atuam no nosso organismo como coenzimas. Observe a Tabela 22.3.

Tabela 22.3: Vitaminas que não são coenzimas e suas funções

	Vitaminas	Funções
Hidrossolúvel	C	Proporciona o aumento da absorção de ferro pelo intestino; especula-se que influencie o sistema imunológico no combate a viroses.
Lipossolúvel	A	Atua na formação dos ossos, em funções da retina associadas à visão noturna e na QUERATINIZAÇÃO da pele.
	D	Age como um hormônio regulando as concentrações de cálcio no sangue.
	E	Antioxidante. Atua impedindo que radicais tóxicos ataquem biomoléculas importantes para o organismo.
	K	Participa da produção de uma molécula importante para a coagulação do sangue.
Nutriente tipo vitamina	Inositol	Participa do metabolismo de lipídeos no fígado e da estrutura de fosfolipídeos que compõem as membranas das células.
	Colina	Possui as mesmas funções do inositol e, ainda, é parte da estrutura de um NEUROTRANSMISSOR importante – a acetilcolina.
	Carnitina	É importante para o metabolismo de gorduras.

QUERATINIZAÇÃO

Processo de impermeabilização da pele por acúmulo de queratina.

NEUROTRANSMISSOR

Molécula secretada entre dois neurônios (na sinapse); é liberada por um e capturada, em seguida, por outro, proporcionando a transmissão de informações entre essas células.

Embora não sejam coenzimas, as vitaminas apresentadas na Tabela 22.3 também são importantíssimas para o bom funcionamento do organismo. Elas estão envolvidas em uma gama de processos fisiológicos e, qualquer desequilíbrio envolvendo estas vitaminas, acarreta uma série de transtornos, incluindo alguns graves, como a possibilidade de cegueira. Aprenda mais sobre avitaminoses (isto é, falta das vitaminas) na próxima seção.

E QUANDO FALTAM VITAMINAS...

As vitaminas, como já dissemos, não são sintetizadas no nosso organismo, e precisam ser obtidas através da alimentação. Quando não comemos vitaminas suficientes, podemos sofrer algumas conseqüências, que variam de acordo com a vitamina da qual carecemos.

Existem dois tipos de carências de vitaminas: a primária e a secundária. A carência primária acontece quando o indivíduo não ingere vitaminas suficientes na sua dieta; já a secundária ocorre quando o organismo perde (ou tem reduzida) a sua capacidade de absorver as vitaminas que ingeriu. Esse tipo de carência, normalmente, está associado a hábitos de vida como o fumo e o consumo excessivo de álcool, dentre outros.

E o que acontece com um indivíduo se sua dieta for pobre em vitaminas? Quais são as conseqüências?

A resposta para esta pergunta depende do tipo de vitamina que faltar no organismo. Nesta aula, vamos nos ater àquelas avitaminoses que mais freqüentemente geram casos clínicos. São elas as carências de:

- Tiamina (B1).
 - Niacina (B3).
 - Cobalamina (B12).
 - Vitamina C (ácido ascórbico).
 - Vitamina A (retinol).
 - Vitamina D.
-
- Hidrossolúveis
- Lipossolúveis

Independente de estas serem as avitaminoses mais freqüentes, é importante termos em mente que todas as vitaminas são importantes, e apenas uma dieta balanceada, que contenha carnes, verduras, legumes e cereais, é capaz de fornecer a quantidade diária de vitaminas de que necessitamos.

Veja agora mais detalhes sobre as conseqüências da carência das sete vitaminas que listamos anteriormente. Em seguida, você verá uma tabela indicando os alimentos mais indicados para se obter não apenas estas, mas todas as vitaminas.

Carência de tiamina (vitamina B1)

A tiamina, ou vitamina B1, dá origem à coenzima tiamina pirofosfato (TPP). Este composto é importante para que uma molécula de açúcar que tenhamos obtido a partir da alimentação possa ser completamente oxidada e gerar mais energia para a célula.

A falta desta vitamina causa o **BERIBÉRI**, que se caracteriza pelo acúmulo de fluidos corpóreos, inchamento do corpo, dor, paralisia e, em casos extremos, morte.

Essa doença não precisa ser tratada com medicamentos complexos. Seu tratamento é a reposição da vitamina ao organismo do indivíduo acometido.

BERIBÉRI

Esta palavra vem do cingalês, língua falada no Sri Lanka, onde beri significa “eu não posso”. Desta forma, beribéri (“eu não posso” duas vezes) mostra como as pessoas acometidas pela deficiência desta vitamina ficam incapacitadas e fracas.

Carência de niacina (vitamina B3 ou PP)

A niacina é precursora de um composto chamado NAD. Esta molécula é fundamental ao organismo, pois ela é necessária a uma série de reações químicas, incluindo a oxidação de açúcares, a síntese e a degradação de lipídios, a geração de energia durante a respiração celular dentre muitos outros.

A ausência da niacina acarreta uma doença da pele chamada pelagra. A pelagra é também conhecida como “doença dos três D”, por causar **DERMATITE**, diarreia e demência. Em casos mais extremos, pode chegar a ser “a doença dos quatro D”, quando leva o paciente à morte (que, em inglês, é *death*).

O tratamento da pelagra é feito pela administração de altas doses de niacina, juntamente com doses elevadas de outras vitaminas do complexo B, cuja carência também provocam sintomas como os da pelagra (por exemplo: falta de vitamina B6 causando dermatite).

DERMATITE

Segundo o dicionário eletrônico Houaiss, é uma “inflamação da pele, caracterizada por eritema, edema e presença de vesículas no local exposto”. Ou seja, uma pessoa com dermatite apresenta vermelhidão, inchaço e feridas em forma de placas arredondadas na pele.

Cobalamina (vitamina B12)

Esta vitamina é fundamental para a síntese de um dos nucleotídeos que compõem as moléculas de DNA. Assim, uma deficiência dessa vitamina acarreta em deficiências de crescimento, por exemplo.

ANEMIA PERNICIOSA

Doença hereditária causada pela falta de vitamina B12 no organismo, que não é absorvida por problemas nas células do estômago, que secretam um fator que facilita a absorção desta vitamina quando ela chega ao intestino. Com toda anemia, os doentes apresentam uma diminuição do número de hemácias circulantes no sangue e, conseqüentemente, perda da eficiência no transporte de oxigênio.

Além disso, essa vitamina tem um papel importante na origem de novas células sanguíneas. Quando falta B12 no organismo, por exemplo, por uma deficiência na dieta ou na capacidade de o intestino absorver esta vitamina, é comum as pessoas desenvolverem um tipo de anemia chamado **ANEMIA PERNICIOSA**.

É comum que vegetarianos (daqueles que não comem nenhum tipo de alimento de origem animal) sofram as conseqüências da falta de B12. Isso acontece porque essa vitamina é presente apenas em alimentos de origem animal.

A anemia perniciosa causada pela falta de B12 deve ser tratada pela administração de altas doses dessa vitamina.

Uma particularidade da B12 é que a sua carência, normalmente (e excluindo-se o caso dos vegetarianos), é do tipo secundária, ou seja, está ligada a uma deficiência na sua absorção, e não ao seu baixo consumo. Por causa disso, a maioria dos pacientes que desenvolvem os sintomas da carência de B12 precisam ter sua alimentação suplementada com essa vitamina pelo resto da vida; caso não o façam, voltam a ter anemia perniciosa.

Vitamina C (ácido ascórbico)

A vitamina C participa da síntese de colágeno nas nossas células, como co-fator da reação catalisada pela prolil-hidroxilase, que, como você viu na Aula 15, transforma a prolina em hidroxil-prolina, aminoácido presente nas hélices do colágeno. Sua ausência causa uma fragilidade na pele da gengiva que acarreta em inchaço, sangramento (hemorragia) e má fixação dos dentes. Este quadro caracteriza uma doença chamada escorbuto (veja como essa doença foi descoberta no boxe a seguir).

Além desses sintomas, uma pessoa com escorbuto também pode apresentar feridas que não cicatrizam, espalhadas por todo o corpo.

Para tratar essa doença, é necessário administrar as doses corretas de vitamina C, uma vez que mais do que isso não é aproveitado pelo organismo.

Estamos em pleno mar...

Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/763855>



Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/849277>

Doenças com os sintomas do escorbuto foram visualizadas em seres humanos desde o Antigo Egito. No entanto, o ponto que marcou a caracterização desta doença foi a época das grandes navegações (século XVI). Neste período, uma grande tripulação saía de sua terra natal em busca de novos territórios e passava um enorme tempo no mar. Durante o período em que estavam embarcados, os tripulantes tinham acesso apenas a alimentos que não eram frescos – vegetais de nenhuma natureza era consumido nessas grandes jornadas e os tripulantes acabavam padecendo de deficiência de vitamina C, expressa pelo início de hemorragias na boca que não paravam e se agravavam cada vez mais. A maior parte dos tripulantes morria.

Foi um cirurgião inglês, a bordo de uma expedição, que descreveu o tratamento dos acometidos por escorbuto com limões e laranjas como eficaz, prevenindo a morte de milhares de pessoas.

Foi no início do século XX que descobriram haver uma “vitamina antiescorbútica” – que foi, por causa disso, batizada de ácido ascórbico (se aproximando de escorbuto em inglês, *scurvy*).

Vitamina A (retinol)

A vitamina A, também conhecida como retinol, funciona como hormônio e como um composto fundamental para a síntese de um pigmento que ajuda nossos olhos a captar luz – a rodopsina. A vitamina A também regula a expressão gênica e o desenvolvimento do tecido epitelial, incluindo a pele.

Na ausência desta vitamina, a síntese de rodopsina é prejudicada e o indivíduo tem dificuldade de se adaptar a pouca disponibilidade de luz no ambiente. Por isso, um dos sintomas da carência de vitamina A é chamado cegueira noturna. Além disso, a carência da vitamina A faz com que a produção de lágrimas seja prejudicada. Isso faz com que nossos olhos fiquem ressecados, uma doença chamada xerofthalmia (*xero* = seco, *ftalmia* = relativo a olho).

Mais uma vez, o tratamento se dá pela administração desta vitamina ao paciente (para saber outras funcionalidades da vitamina A, veja o box a seguir).

Fugindo da acne

Algumas drogas usadas no tratamento da acne severa contêm ácido retinóico, um derivado da vitamina A. Isso porque essa vitamina tem caráter ácido e realiza uma leve escamação da pele, além de auxiliar na síntese de colágeno, melhorando o aspecto da pele.

Vitamina D

A vitamina D dá origem, na presença de luz UV, a um hormônio chamado de 1,25-diidroxicalciferol, que controla a captação de cálcio no intestino, bem como os níveis de cálcio nos rins e ossos. Por interferir na captação de cálcio, esse hormônio influencia no bom crescimento dos ossos. Ele é importantíssimo para crianças em fase de crescimento. Crianças que possuem problemas na via de biossíntese da vitamina D apresentam graves dificuldades de formação óssea (raquitismo).

O raquitismo é mais comum em crianças que vivem em áreas de clima frio. Isso porque, nestas regiões, a incidência de luz solar é menor, ou seja, há menos luz disponível para participar da reação de síntese do hormônio diidroxicalciferol.

A deficiência em vitamina D pode ser tratada com suplementos dessa vitamina.



ATIVIDADE



3. Faltou vitamina, sobrou problema...

Como você acabou de estudar, as vitaminas são importantes no nosso organismo pelos diversos papéis que desempenham. A seguir, você vê duas colunas; na primeira, estão os nomes de algumas vitaminas e, na segunda, alguns quadros clínicos decorrentes da ausência de alguma vitamina. Sua tarefa é relacioná-las.

Primeira coluna:

- (1) Vitamina A
- (2) Vitamina D
- (3) Vitamina C
- (4) Vitamina B1 (tiamina)
- (5) Vitamina B3/ PP (niacina)
- (6) Vitamina B12 (cobalamina)

- () Lana, 32 anos, apresenta fraquezas e declara desmaiar com freqüência. Diz se alimentar bem, comer frutas e verduras orgânicas e variadas; não ingere carne vermelha. Exame de sangue mostra quadro de anemia perniciosa.
- () João, 40 anos, trabalhava como segurança noturno e foi demitido por quase ter deixado a casa que protegia ser assaltada. Queixa-se de estar sempre piscando por tempos prolongados, devido a um incômodo nos olhos. Além disso, declarou que o incidente que causou sua demissão aconteceu porque ele não tinha enxergado a aproximação do bandido.
- () Maria das Dores, 72 anos, queixa-se de estar com as pernas doloridas e bastante inchadas. Seu pé direito não apresenta mais mobilidade e sua função locomotora está bastante comprometida.
- () Rafaela, 6 anos, apresenta estatura de 98 cm e já sofreu várias fraturas nas pernas e braços, embora – declara a mãe – seja menos levada do que as outras colegas de escola. Apresenta pele pálida e declara não tomar sol com freqüência.
- () Joaquim, 9 anos, está apresentando problemas de aprendizagem e, por vezes, não reconhece seus pais. Estes declaram que a criança tem diarreia com freqüência e que, há dois meses, apresenta uma vermelhidão na pele que, embora medicada com anti-alérgicos, não foi curada.
- () José, 26 anos, funcionário da bolsa de valores, procurou consultório médico por estar freqüentemente resfriado e, recentemente, ter começado a apresentar sangramentos na gengiva. Declarou que sua alimentação é feita às pressas, geralmente em lanchonetes do tipo *fast-food*.

RESPOSTA COMENTADA

De acordo com as descrições que demos dos quadros clínicos desencadeados pela falta de algumas vitaminas no organismo, você não deve ter tido muitas dificuldades para realizar esta atividade.

Lana sofre de anemia perniciosa e sua fraqueza e desmaios são derivados desse quadro de deficiência nas suas hemácias.

Ela apresenta carência de vitamina B12 porque não come carne vermelha, e esta é uma fonte importante deste nutriente.

João está com um quadro de xerofthalmia e de cegueira noturna, típicos da carência de vitamina A.

Maria das Dores está com avitaminose de B1 e está sofrendo de beribéri. Se ela não se cuidar rapidamente – fazendo uma reposição desta vitamina - poderá até morrer.

Rafaela está raquítica e com fragilidade óssea, conseqüências da falta de vitamina D, que influencia na captação de cálcio pelos ossos e no crescimento.

Joaquim está com dermatite, diarreia e quadros temporários de demência, sintomas que caracterizam a pelagra, doença causada pela falta de vitamina B3.

Por fim, José está com escorbuto, sintoma típico da carência de vitamina C; essa carência certamente tem relação com sua má alimentação, rica em calorias e pobre em alguns nutrientes essenciais.

ONDE OBTER VITAMINAS?

Todos nós sabemos desde crianças que as frutas e legumes são boas fontes de vitaminas. No entanto, não são todas as vitaminas que são abundantes em qualquer vegetal, assim como há algumas que somente estão presentes em carnes. Na **Tabela 22.4**, resumimos as fontes das quais você pode obter cada uma das vitaminas que mencionamos nesta aula, incluindo as que não comentamos em detalhes na seção anterior.

Tabela 22.4: Alimentos como fontes de vitaminas

Vitaminas	Fontes
A	Fígado de aves, animais e cenoura
D	Óleo de peixe, fígado, gema de ovos
E	Verduras, azeite e vegetais
K	Fígado e verduras
B1	Cereais, carnes, verduras, levedo de cerveja
B2	Leites, carnes, verduras
Ácido pantotênico	Fígado, cogumelos, milho, abacate, ovos, leite, vegetais
B6	Carnes, frutas, verduras e cereais
B12	Fígado, carnes
C	Laranja, limão, abacaxi, kiwi, acerola, morango, brócolis, melão, manga
Biotina	Noz, amêndoa, castanha, levedo de cerveja, leite, gema de ovo, arroz integral
Ácido fólico	Cogumelos, hortaliças verdes
niacina	Ervilha, amendoim, fava, peixe, feijão, fígado

Obs.: Os nutrientes tipo vitamina são sintetizados pelo organismo em quantidades suficientes para suprir as necessidades do corpo.

CONCLUSÃO

Agora você sabe por que as vitaminas são importantes no nosso organismo. Elas participam como coenzimas (ou precursores destas) de diversas reações enzimáticas e como base para a síntese de moléculas fundamentais ao bom funcionamento do organismo, como é o caso do hormônio que controla a absorção de cálcio e do retinol que forma o pigmento do nosso olho capaz de perceber luz no ambiente. Quando alguém lhe perguntar sobre a importância das vitaminas, você realmente saberá explicar.

ATIVIDADE FINAL



Como resolver o problema?

Na atividade anterior, você identificou, pelos sintomas, quais eram as vitaminas que faltavam nos organismos de Lana, João, Maria das Dores, Rafaela, Joaquim e José. O médico deles já receitou um suplemento vitamínico. No entanto, esse suplemento só pode ser consumido enquanto persistirem os sintomas. A fim de que não apresentem problemas novamente, indique para cada um deles pelo menos um alimento que devem ingerir com frequência para não ficarem doentes de novo.

Lana _____

João _____

Maria das Dores _____

Rafaela _____

Joaquim _____

José _____

RESPOSTA COMENTADA

Para realizar essa atividade, você precisava apenas consultar a **Tabela 22.4**. De acordo com as avitaminoses apontadas para cada uma dessas pessoas por você e por nossa resposta comentada da Atividade 3, era só escolher um alimento para sugerir a cada um dos seis pacientes. Se esta situação toda fosse verdade, seu problema seria convencer a macrobiótica Lana a comer carne vermelha e ao José que, embora seu ritmo de trabalho na Bolsa de Valores seja enlouquecedoramente acelerado, ele deveria comer uma saladinha de frutas de sobremesa.

RESUMO

As vitaminas são pequenas moléculas orgânicas essenciais ao bom funcionamento do organismo e que não são sintetizadas por este em quantidades suficientes para atender às necessidades do corpo. Estes compostos podem ser divididos em três grupos: hidrossolúveis, lipossolúveis e nutrientes tipo vitaminas.

Muitas vitaminas atuam como coenzimas ou como precursoras de coenzimas, moléculas que participam de reações enzimáticas auxiliando na transferência de grupamentos químicos. Outras, participam de processos diversificados no organismo, por exemplo absorção de ferro no intestino, coagulação sangüínea, proteção contra radicais livres, composição de neurotransmissores etc.

Dada a importância destes compostos no organismo, a carência de vitaminas pode acarretar uma série de quadros clínicos. Alguns deles são o beribéri, a pelagra, a cegueira noturna e o raquitismo.

Para evitar a carência de vitaminas, é importante fazer uma dieta balanceada, diversificando alimentos como grãos, carnes, legumes e verduras.

INFORMAÇÃO SOBRE A PRÓXIMA AULA

Na próxima aula, você começará a aprender um pouco sobre a classe de biomoléculas que serve de reserva de energia no nosso organismo: os lipídeos.

Bioquímica I

Referências

Aula 11

CARR, Steven M. *Protein, structure and function*. Memorial University of Newfoundland, Canadá. Disponível em: <http://www.mun.ca/biology/scarr/2250_Proteins.html>. Acesso em: 29 fev. 2008.

NELSON, David L.; COX, Michael M. 2000. *Lehninger: principles of biochemistry*. 3.ed. New York: Worth Publishers, 2000.

KRAUTWURST, D. et al. Identification of ligands for olfactory receptors by functional expression of a receptor library. *Cell*, v. 95, p. 917–926, 1998.

PIMENTA, Adriano Monteiro de Castro. *Os desafios do proteoma*. Disponível em: <http://biodados.icb.ufmg.br/sebio/proteomics_ciencia_hoje.pdf>. Acesso em: 29 fev. 2008.

Aula 12

NELSON, David L.; COX, Michael M. 2000. *Lehninger: principles of biochemistry*. 3.ed. New York: Worth Publishers, 2000.

Aula 13

ALZHEIMER - Med. Disponível em: <<http://www.alzheimermed.com.br>>. Acesso em: Acesso em: 29 fev. 2008.

Laboratório Nacional de Luz Síncrotron. Disponível em: <www.lnls.br>. Acesso em: Acesso em: 29 fev. 2008.

NELSON, David L.; COX, Michael M. 2000. *Lehninger: principles of biochemistry*. 3.ed. New York: Worth Publishers, 2000.

NUSSENZVEIG, Micheline. Determinada a estrutura do ribossomo: descoberta fundamental para a biologia celular ajuda a entender origem da vida. *Revista Ciência Hoje*. Disponível em: <<http://cienciahoje.uol.com.br/controlPanel/materia/view/1866>>. Acesso em: 29 fev. 2008.

Aula 14

FONSECA, Lúbia Cristina et al. Effects of the solvent composition on the stability of proteins in aqueous solutions. *Quím. Nova*, São Paulo, v. 29, n. 3, 2006.

NELSON, David L.; COX, Michael M. 2000. *Lehninger: principles of biochemistry*. 3.ed. New York: Worth Publishers, 2000.

NOBEL Prize. Disponível em: <www.nobelprize.org>. Acesso em: 29 fev. 2008.

LODISH, Harvey et al. *Molecular cell biology*. 4.ed. New York: W.H. Freeman Company, 2000.

Aula 15

Associação Brasileira de Osteogenesis imperfecta. Disponível em: <<http://www.aboi.org.br>>. Acesso em: 29 fev. 2008.

Manual Merck. Disponível em: <<http://www.manualmerck.net/?url=/artigos/%3Fid%3D295%26cn%3D1561>>. Acesso em: 29 fev. 2008.

NELSON, David L.; COX, Michael M. 2000. *Lehninger: principles of biochemistry*. 3.ed. New York: Worth Publishers, 2000.

NOMURA, ML et al. Síndrome de Ehlers-Danlos e gravidez: relato de caso. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, v.25, n.10, p. 745-748, 2003. .

Aula 16

NELSON, David L.; COX, Michael M. 2000. *Lehninger: principles of biochemistry*. 3.ed. New York: Worth Publishers, 2000.

Aula 17

ALZHEIMER - Med. Disponível em: <<http://www.alzheimermed.com.br>>. Acesso em: Acesso em: 29 fev. 2008.

BBC-Brasil. Disponível em: <<http://www.bbc.co.uk/portuguese/>>. Acesso em: 29 fev. 2008.

JOHNSON, R.T.; GIBBS, C.J. Creutzfeldt-Jakob disease and related transmissible spongiform encephalopathies. *N. Engl. J. Med.*, v. 339, n. 27, p. 1994-2004, 1998. .

NELSON, David L.; COX, Michael M. 2000. *Lehninger: principles of biochemistry*. 3.ed. New York: Worth Publishers, 2000.

Aula 18

NOBEL Prize. Disponível em: <www.nobelprize.org>. Acesso em: 29 fev. 2008.

HEAPHY, Shaun. *Virus structure*. Universidade de Tulane. 1999. Disponível em: <<http://www.tulane.edu/~dmsander/WWW/224/Structure224.html>>. Acesso em: 29 fev. 2008.

World health organization. Disponível em: <<http://www.who.int>>. Acesso em: 29 fev. 2008.

BBC-Brasil. Disponível em: <<http://www.bbc.co.uk/portuguese/>>. Acesso em: 29 fev. 2008.

Aula 19

NELSON, David L.; COX, Michael M. 2000. *Lehninger: principles of biochemistry*. 3.ed. New York: Worth Publishers, 2000.

Aula 20

FISHER, S.Z. et al. Structure of human salivary α -amylase crystallized in a C-centered monoclinic space group. *Acta Crystallographica*, v. 62, p. 88–93, 2006.

FONSECA, LB et al. Efeito da composição do solvente sobre a estabilidade de proteínas em soluções aquosas. *Quim. Nova*, v. 29, n. 3, p. 543-548, 2006.

MCADOWALL, Jennifer. A-amilase: proteína do mês. Disponível em: <http://www.ebi.ac.uk/interpro/potm/2006_2/Page1.htm>. Acesso em: 29 fev. 2008.

NELSON, David L.; COX, Michael M. 2000. *Lehninger: principles of biochemistry*. 3.ed. New York: Worth Publishers, 2000.

Aula 21

Arquivo de filmes: O óleo de lorenzo. Disponível em: <www.webcine.com.br/filmessi/lorenzozos.htm>. Acesso em: 29 fev. 2008.

Manual Merck: a livraria médica Online: Disponível em: <<http://www.manualmerck.net/?url=/artigos/%3Fid%3D295%26cn%3D1561>>. Acesso em: 29 fev. 2008.

Manual Merck. <http://www.merck.com/mmpe/sec11/ch131/ch131h.html>.

Manual Merck. <http://www.merck.com/mmpe/sec19/ch296/ch296d.html>.

Manual Merck. <http://www.merck.com/mmhe/sec23/ch282/ch282d.html>.

Manual Merck. <http://www.merck.com/mmpe/sec19/ch296/ch296i.html>.

NELSON, David L.; COX, Michael M. 2000. *Lehninger: principles of biochemistry*. 3.ed. New York: Worth Publishers, 2000.

Aula 22

Laboratório de Ensino de Ciências e Tecnologia. *A vitamina C*. Disponível em: <http://darwin.futuro.usp.br/site/frutas/quadroteorico/c_vit.htm>. Acesso em: 29 fev. 2008.

Manual Merck Brasil. *Distúrbios da nutrição e do metabolismo*. Cap. 135: Vitaminas e minerais. Disponível em: <http://www.msd-brazil.com/msd43/m_manual/mm_sec12_135.htm>. Acesso em: 29 fev. 2008.

Manual Merck. Introduction: vitamins. Disponível em: <<http://www.merck.com/mmhe/sec12/ch154/ch154a.html>>. Acesso em: 29 fev. 2008.

Revista de Química da Universidade Federal de Santa Catarina. *As vitaminas*. Disponível em: <http://www.qmc.ufsc.br/quimica/pages/especiais/revista_especiais_vitaminas.html>. Acesso em: 29 fev. 2008.

ISBN 978-85-7648-667-1



9 788576 486671



UENF
Universidade Estadual
do Norte Fluminense



Universidade Federal Fluminense

uff



UNIRIO



Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo
à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro



**GOVERNO DO
Rio de Janeiro**

SECRETARIA DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA



**UNIVERSIDADE
ABERTA DO BRASIL**

Ministério
da Educação

BRASIL
UM PAÍS DE TODOS
GOVERNO FEDERAL