

Nel metabolismo aerobio l'O₂ è l'accettore finale nel mitocondrio degli elettroni liberati dai composti carboniosi

Proteine leganti l'O₂ sono

EMOGLOBINA (Hb) nei globuli rossi

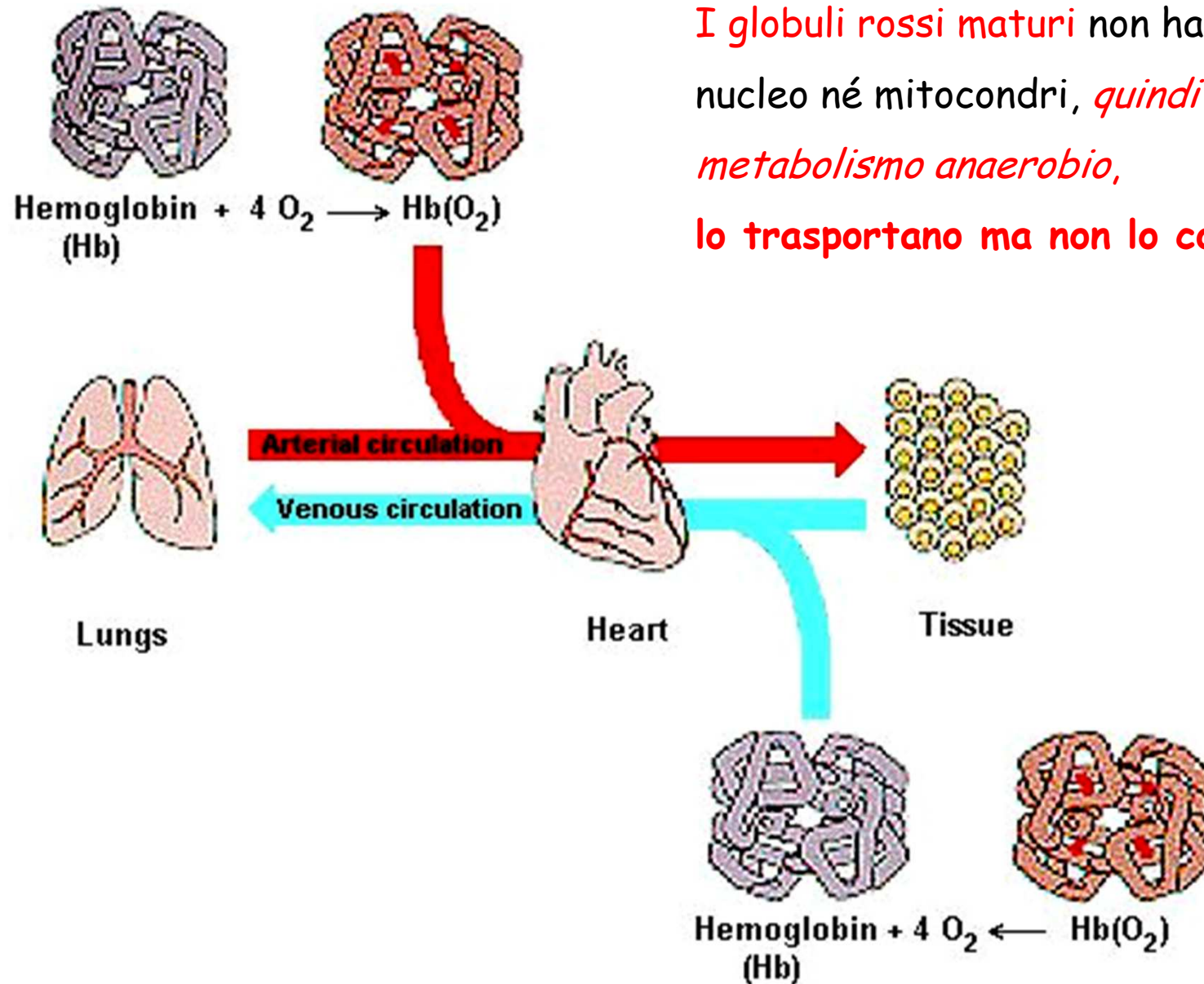
e

MIOGLOBINA nelle fibre muscolari

Come viene trasportato l'ossigeno nel sangue ?

- 98,5% dell'O₂ del sangue è legato a Emoglobina (Hb)
- 1,5% è fisicamente disciolto nel plasma
- In tutti gli animali superiori, il metabolismo è aerobico
- *Assunzione diretta di O₂ efficace solo in organismi unicellulari*
- Hb trasporta O₂ dai polmoni ai tessuti,
- *e dai tessuti ai polmoni può trasportare un po' di CO₂ e ioni H⁺*
- Se non ci fosse Hb, il cuore dovrebbe pompare sangue ad un flusso >100x maggiore
- Mioglobina (Mb): presente nei tessuti muscolari, funge da deposito di O₂

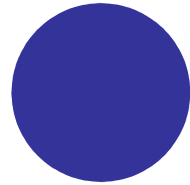
Hb e trasporto dell'ossigeno



I globuli rossi maturi non hanno né nucleo né mitocondri, *quindi hanno un metabolismo anaerobio*, lo trasportano ma non lo consumano

Differenze

mioglobina

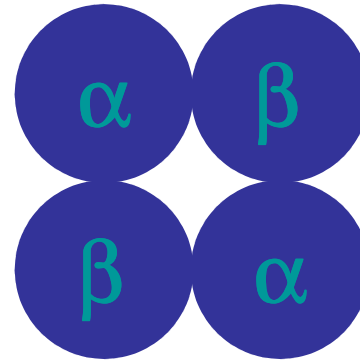


Muscolo

Deposito di O_2

Alta affinità per O_2

emoglobina



Globulo rosso

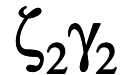
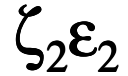
Trasporto di O_2

Bassa affinità per O_2

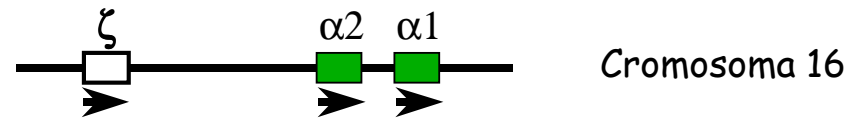
Proteina cooperativa
e allosterica

Developmental expression of the globin chains

- embryonic hemoglobins

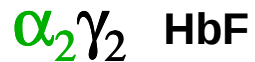


- the arrangement of the α -like genes and the β -like genes reflects their order of developmental expression

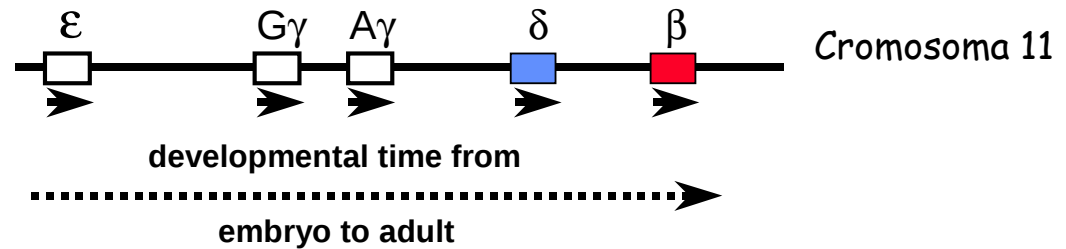


Il feto prende l'O₂ dalla placenta

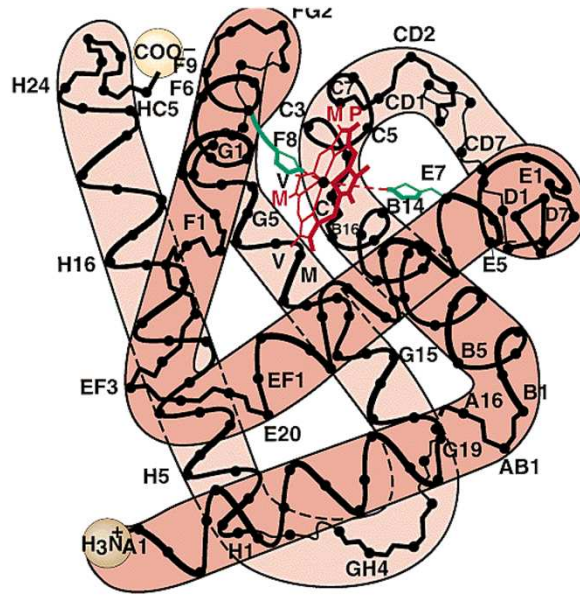
- fetal hemoglobins



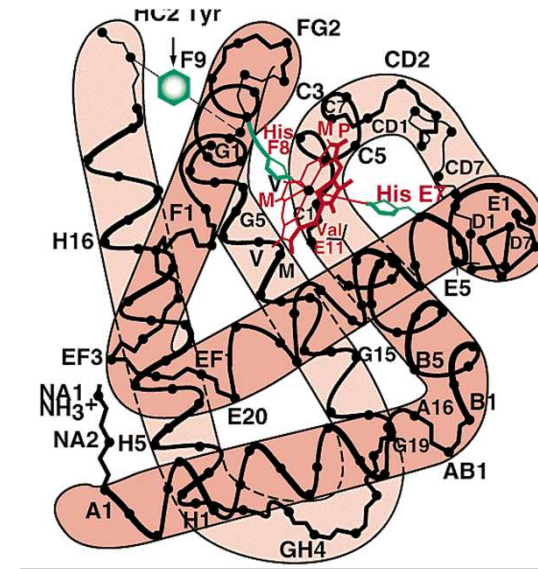
- adult hemoglobins



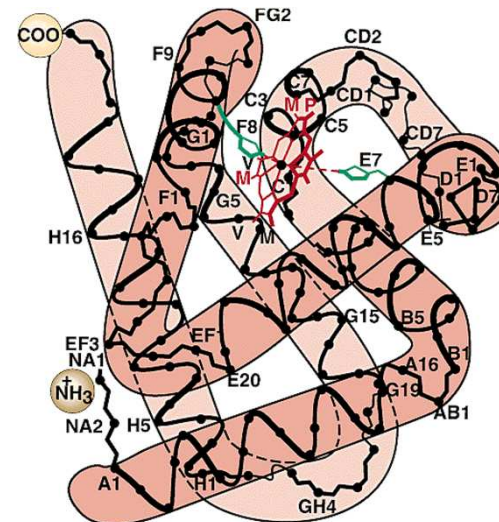
Struttura secondaria e terziaria



Mioglobina



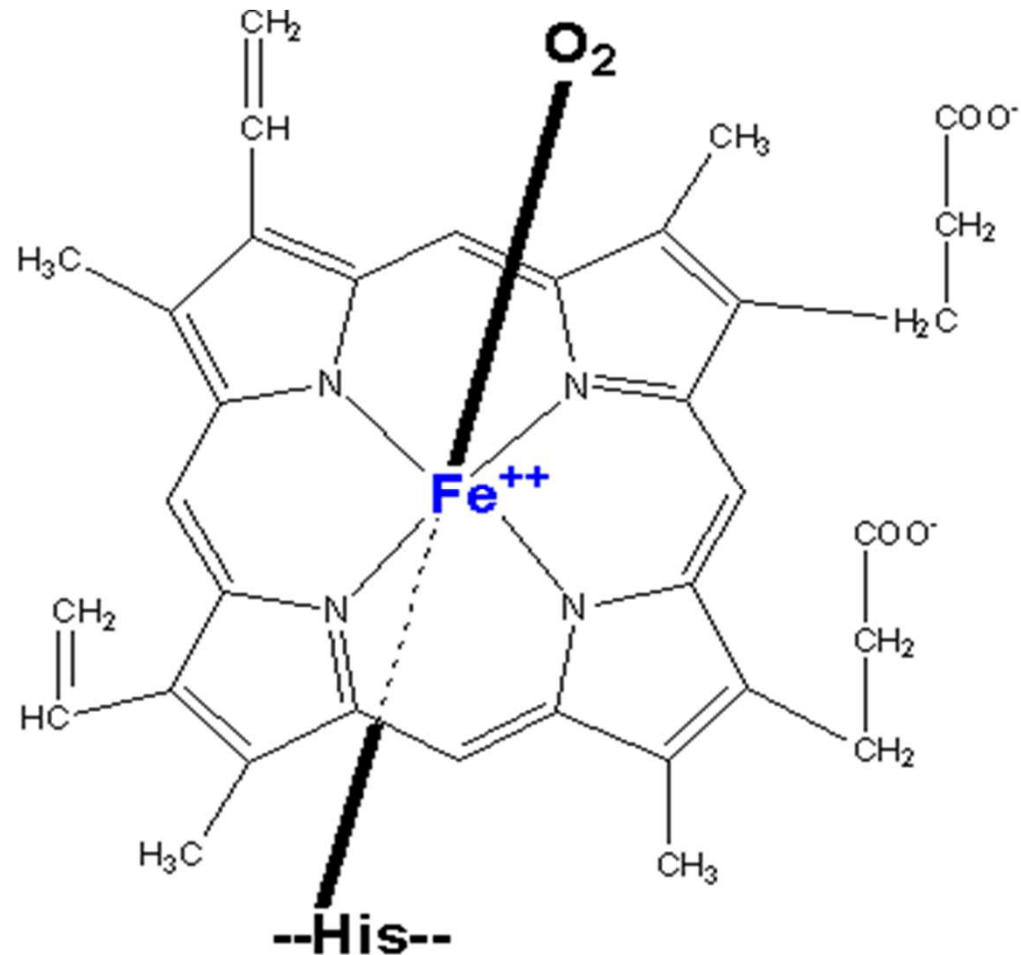
Hb
 α globina



Hb
 β globina

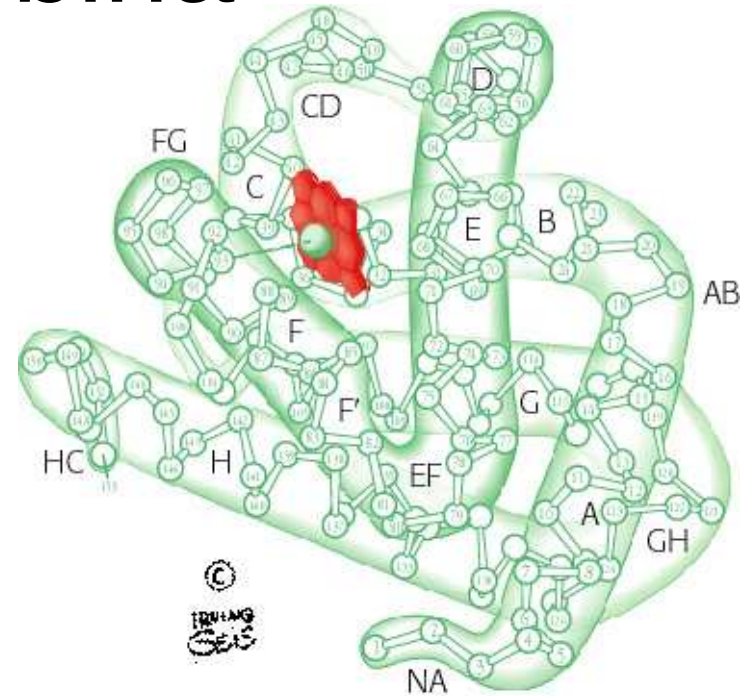
Legame di Hb/Mb con O₂

- Legame reversibile, debole
- Con O₂ molecolare (si ossigena, non si ossida)
- Tramite Fe⁺⁺
- Fe⁺⁺ chelato in protoporfirina IX
- Protoporfirina IX + Fe⁺⁺ = eme



Eme e globina

L'eme è legato
covalentemente alla
proteina in una tasca
idrofobica

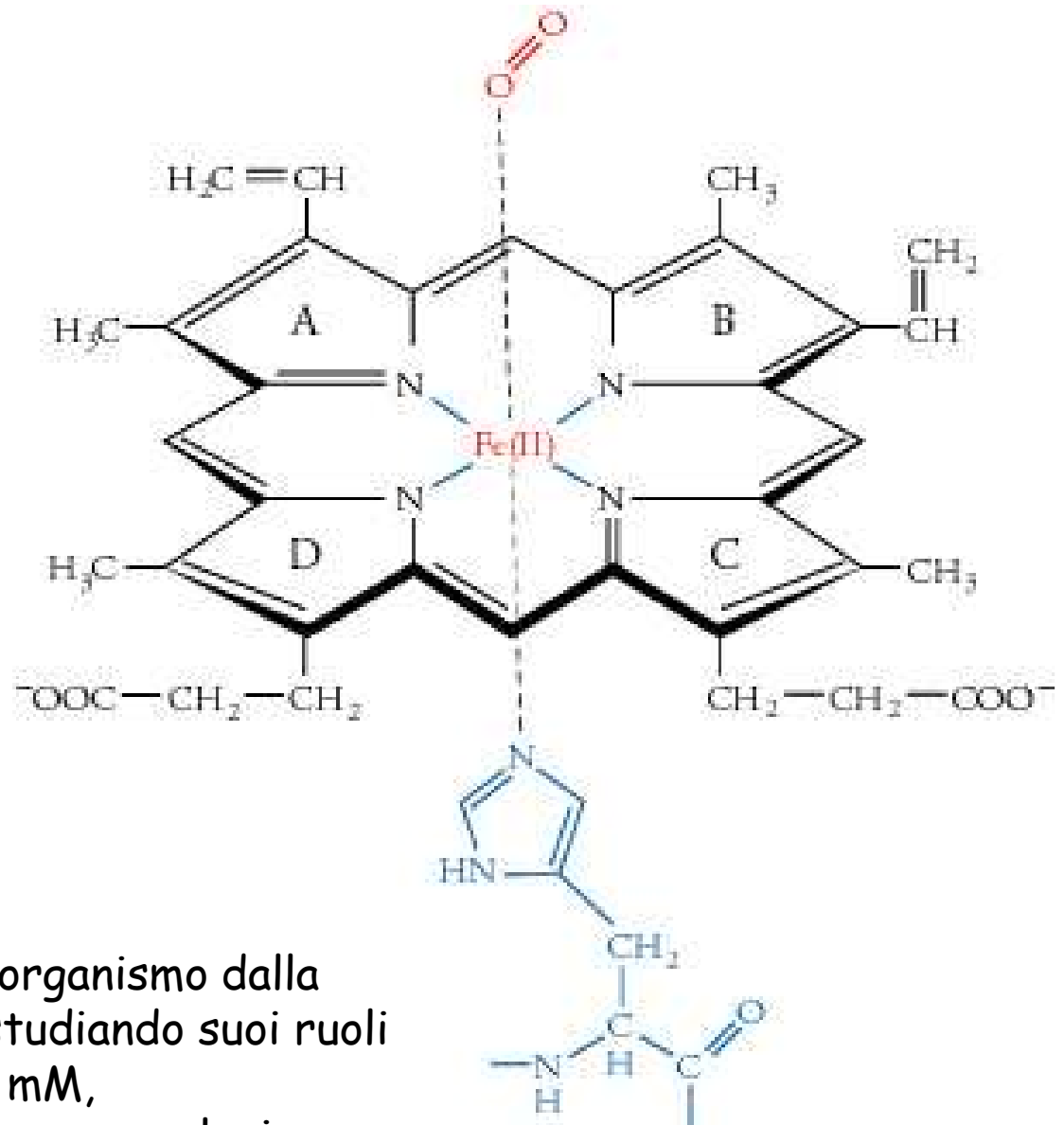


Fe⁺⁺ può fare 6 legami

- 4 con protoporfirina IX
- 1 con His della globina
- 1 con:
 - H₂O → metaglobina
 - O₂ → ossiglobina
 - CO → carbossiglobina

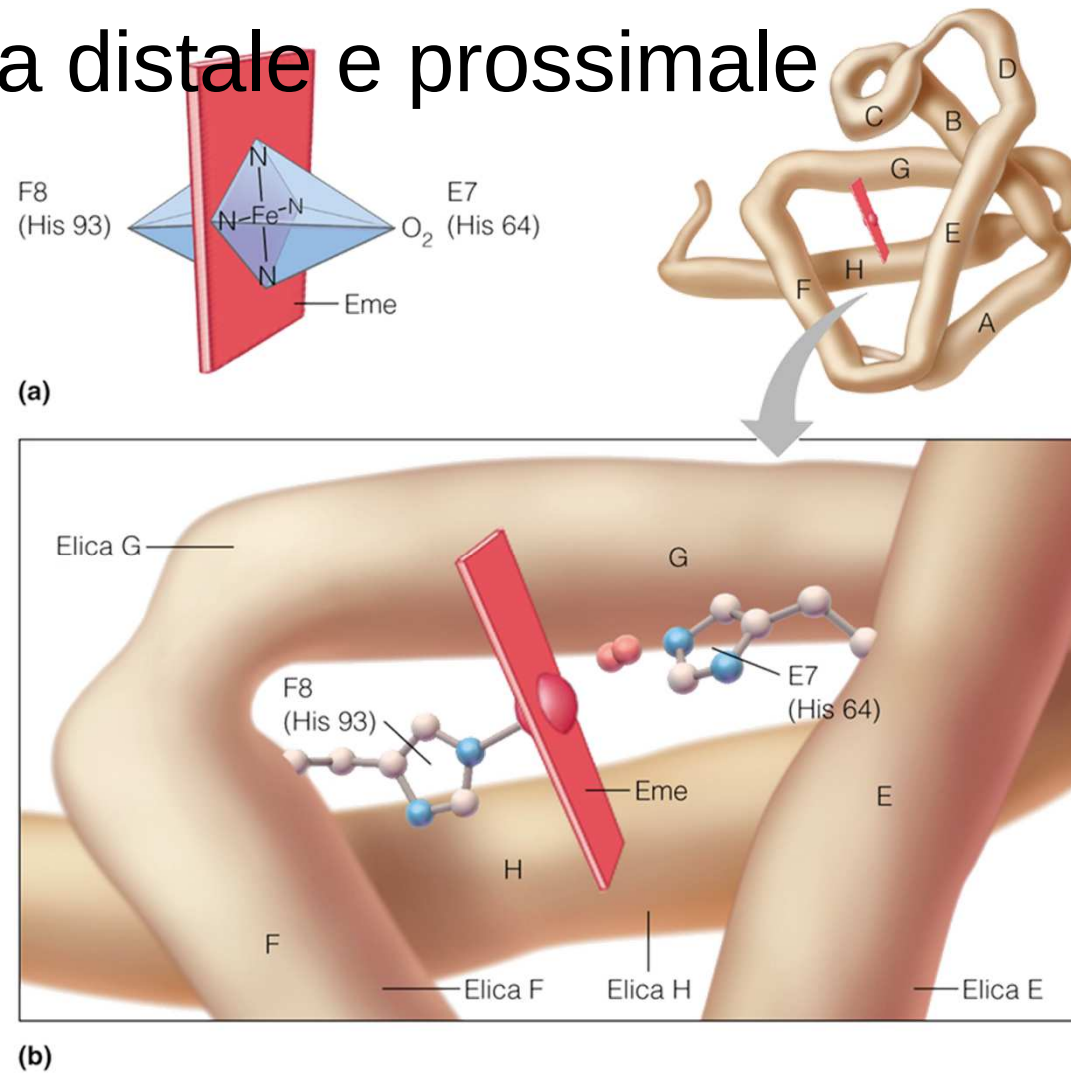
CO (monossido di carbonio) è un gas tossico, incolore e inodore che si forma quando il carbone o un suo composto brucia in difetto d'aria, usato nell'industria, 350 mM letale in pochi min

in realtà CO è prodotto nel nostro organismo dalla degradazione dell'eme e si stanno studiando suoi ruoli fisiologici, a concentrazioni 0,3-20 mM, x es. nella regolazione della pressione, coagulazione e infiammazione



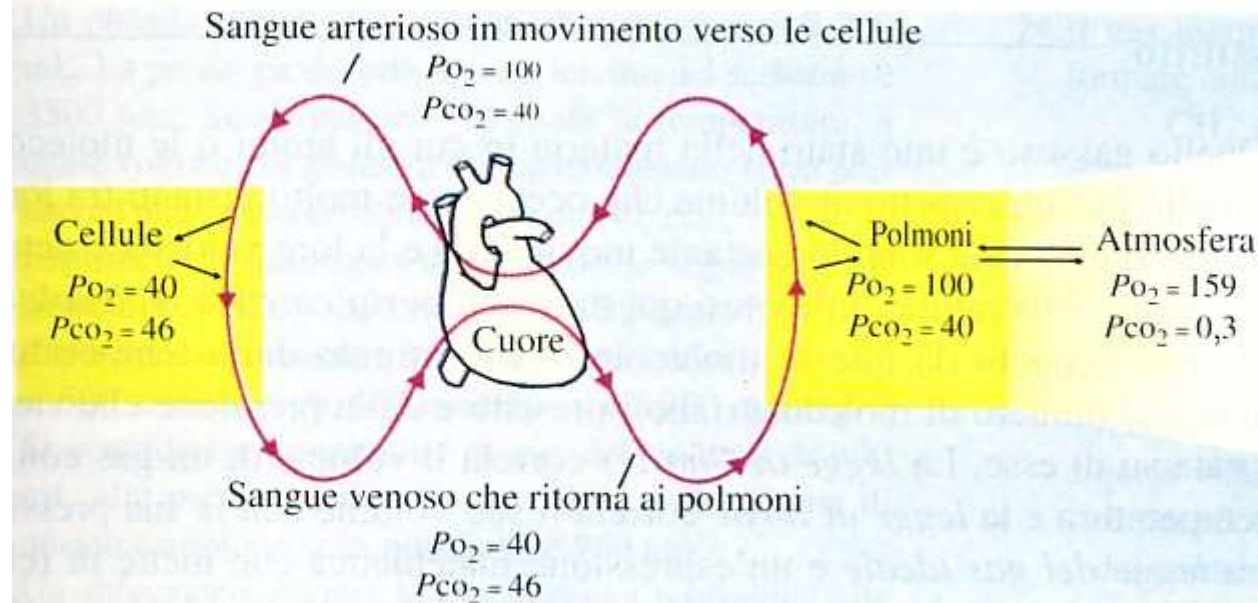
Eme e globina

- Istidina distale e prossimale



Metaglobina

- Si forma quando $\text{Fe}^{++} \rightarrow \text{Fe}^{+++}$
- Non si combina con O_2
- Reazione lenta in vivo:
 - La globina impedisce l'ossidazione dell'eme (effetto *hamburger*)
 - Sistemi enzimatici del globulo rosso che riducono il Fe^{+++} a Fe^{++}
- Formazione di metaemoglobina *in vivo*
 - Contaminanti ossidanti (nitrati/nitriti nell'acqua)

**FIGURA 9.8**

Movimenti dell'ossigeno e dell'anidride carbonica nel sistema circolatorio e respiratorio dell'uomo. Il trasferimento di gas disciolti nel sangue avviene verso le regioni a minor concentrazione relativa. Lo scambio attraverso la barriera capillare è così efficace che l'equilibrio viene raggiunto pressoché istantaneamente al passaggio del sangue (Le pressioni sono espresse in torr)

EMOGLOBINA (Hb) e MIOGLOBINA (Mb)

Curva di equilibrio per l'ossigeno e
P50;

Mb vs. Hb

- $\text{Mb} + \text{O}_2 \rightleftharpoons \text{MbO}_2$
- Curva di legame iperbolica (reazione bimolecolare)
- **Hb**: le 4 subunità si legano con O_2 in maniera sequenziale, e con affinità diversa

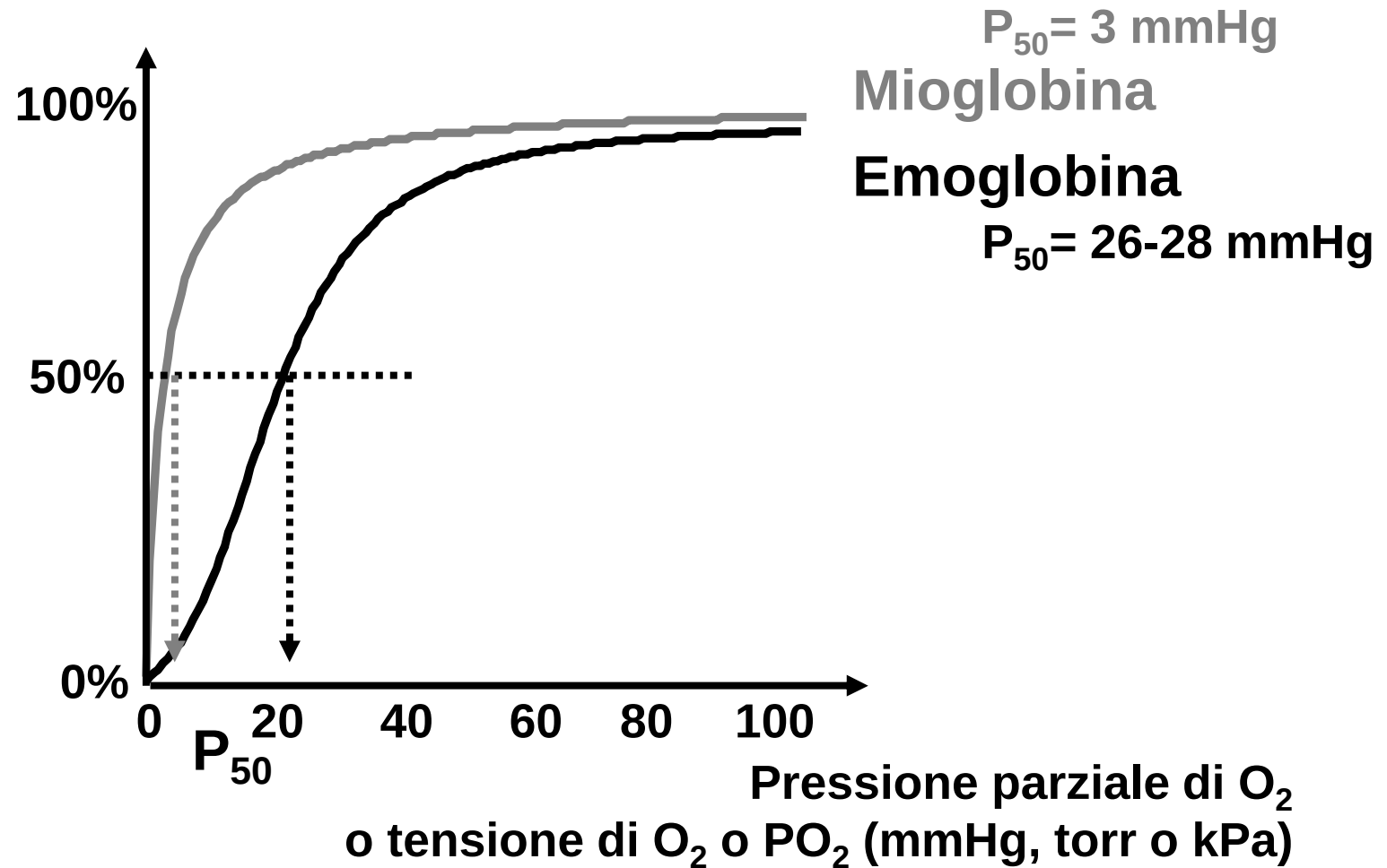


c'è cooperatività tra le subunità

(indicata anche dalla curva di legame sigmoide)

Curva di legame per O₂

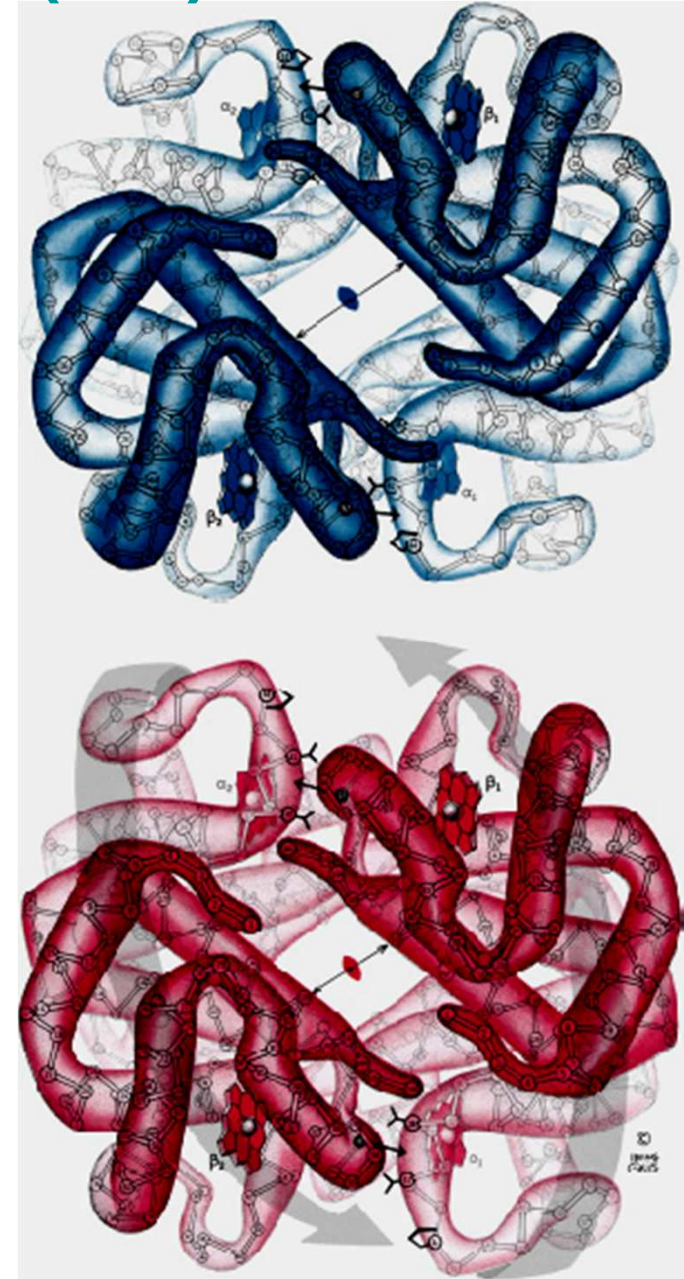
$\text{HbO}_2/(\text{Hb}+\text{HbO}_2)$, % o unità



Hb T (tesa) : Bassa affinità per O₂

Transizione deossio-ossigenata emoglobina

- Cambiamento della struttura quaternaria
- Le catene β si avvicinano
- Restringimento della cavità centrale della molecola
- Destabilizzazione del legame fra i dimeri α - β



Hb R (rilassata) : Alta affinità per O₂

Mb vs Hb

	<u>Mb</u>	<u>Hb</u>
Struttura	1 catena polipeptidica	$\alpha_2\beta_2$
Affinità per O₂	Alta	Bassa
Cooperatività e allosterismo	NO	SI
Curva di legame con O₂	Iperbolica	Sigmoide
Localizzazione	Intracellulare (muscoli)	Intracellulare (eritrociti)

ALLOSTERISMO NELL'EMOGLOBINA

Presenza di siti
di legame e di
siti regolatori

Consequente a Meccanismi molecolari
durante la transizione deossi-
ossiemo globina



- **Effettori allosterici:**

Effettore **positivo** l'ossigeno stesso
(facilita il legame di altro ossigeno)

Effettori allosterici negativi:

Fattori che influenzano la transizione ossi→desossi

- temperatura
- H^+ (Effetto Bohr)
- CO_2
- 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG)

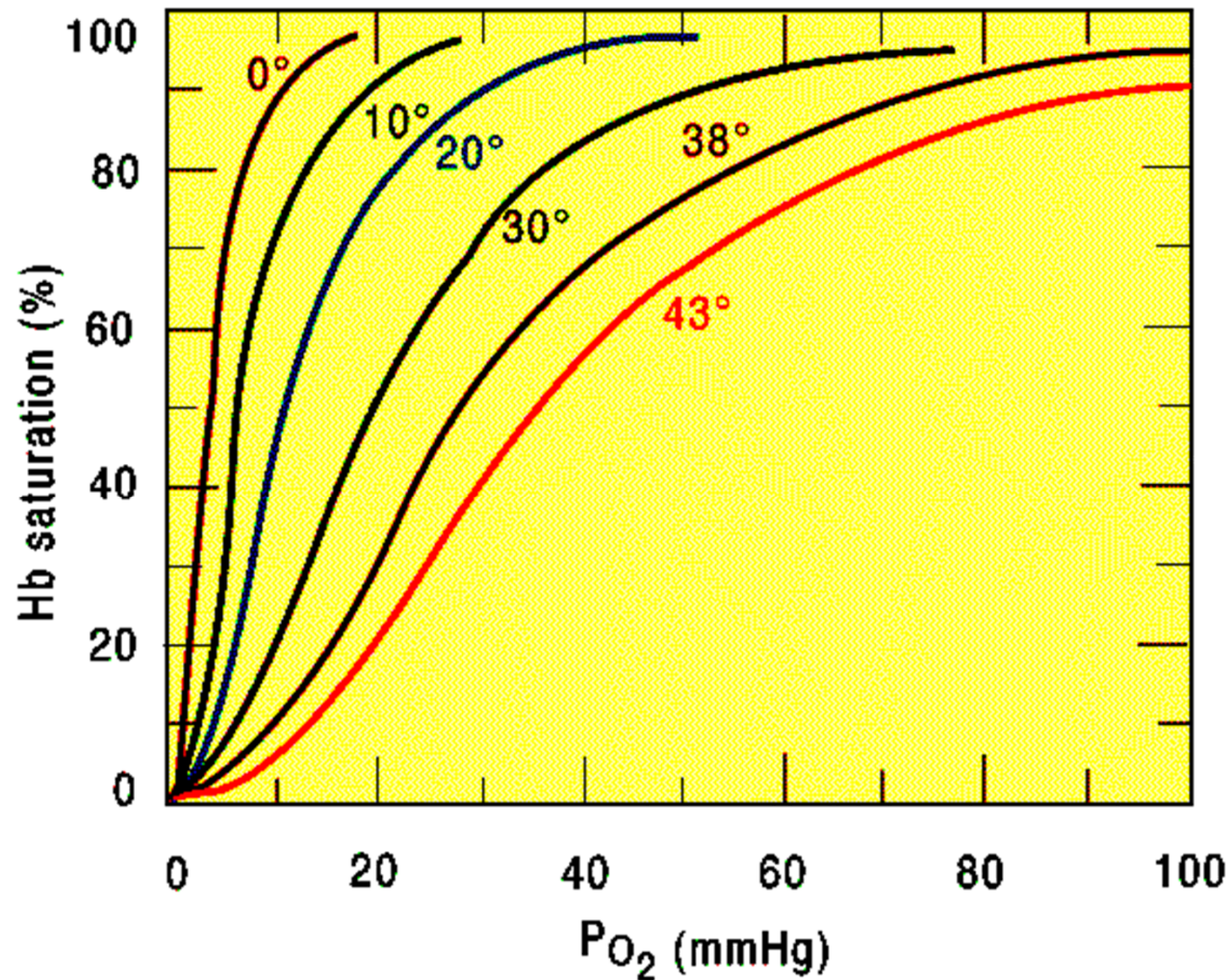
Tutti inibiscono la reazione $Hb + O_2$

- Spostano la curva di dissociazione a destra
- Aumentano P_{50}

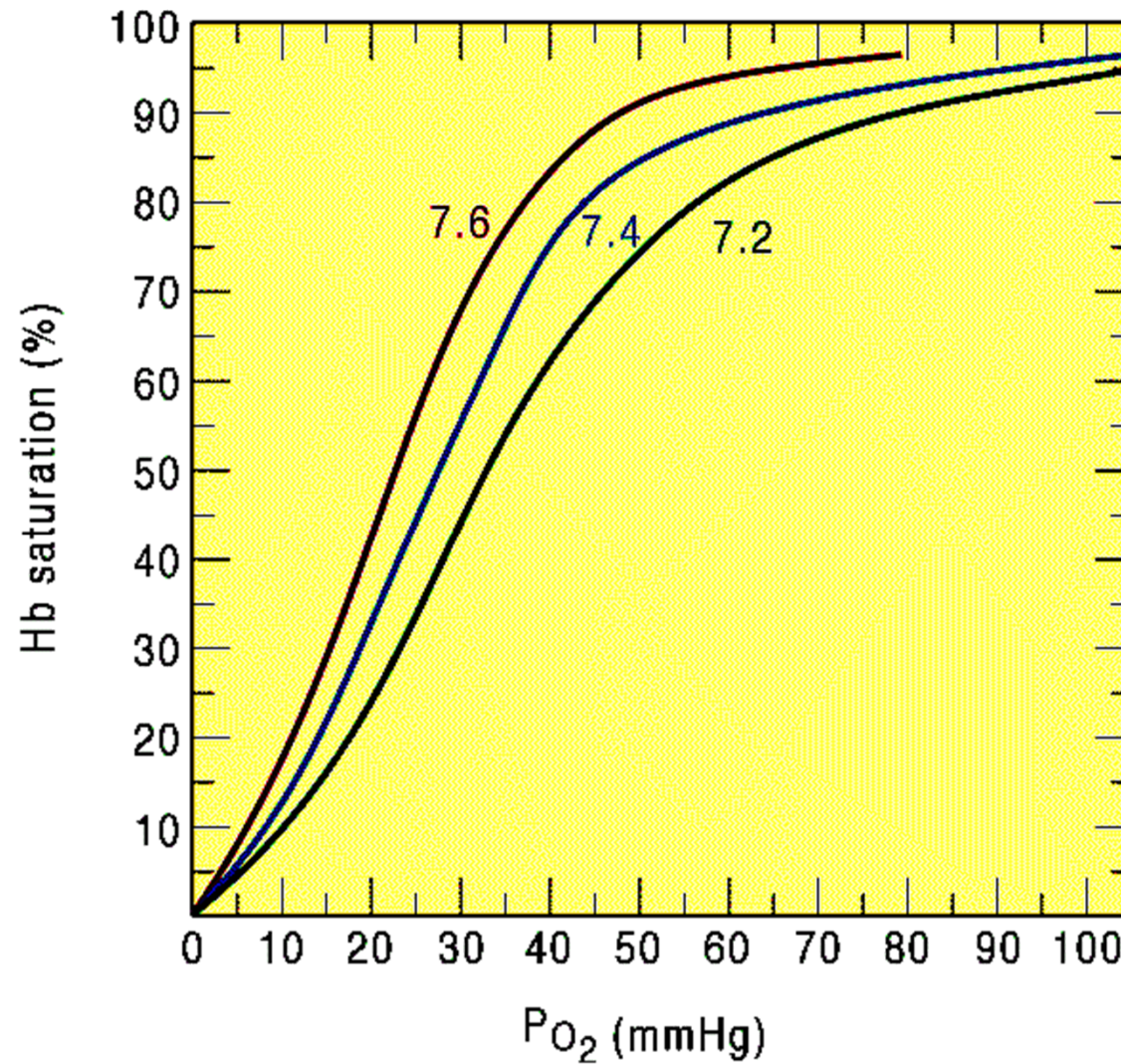


Quindi facilitano non il legame ma il rilascio di Ossigeno

Effetto della temperatura

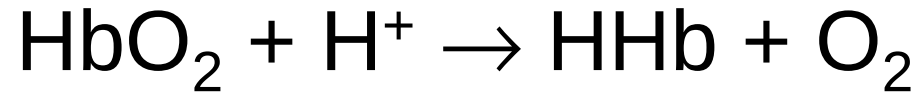


Effetto del pH

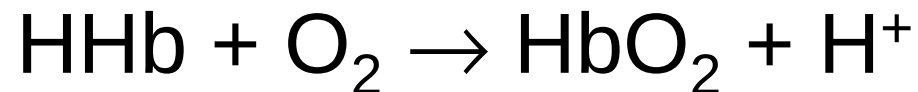


Effetto Bohr

- L'aumento di H^+ favorisce il rilascio di O_2



- $Hb + O_2$ libera H^+

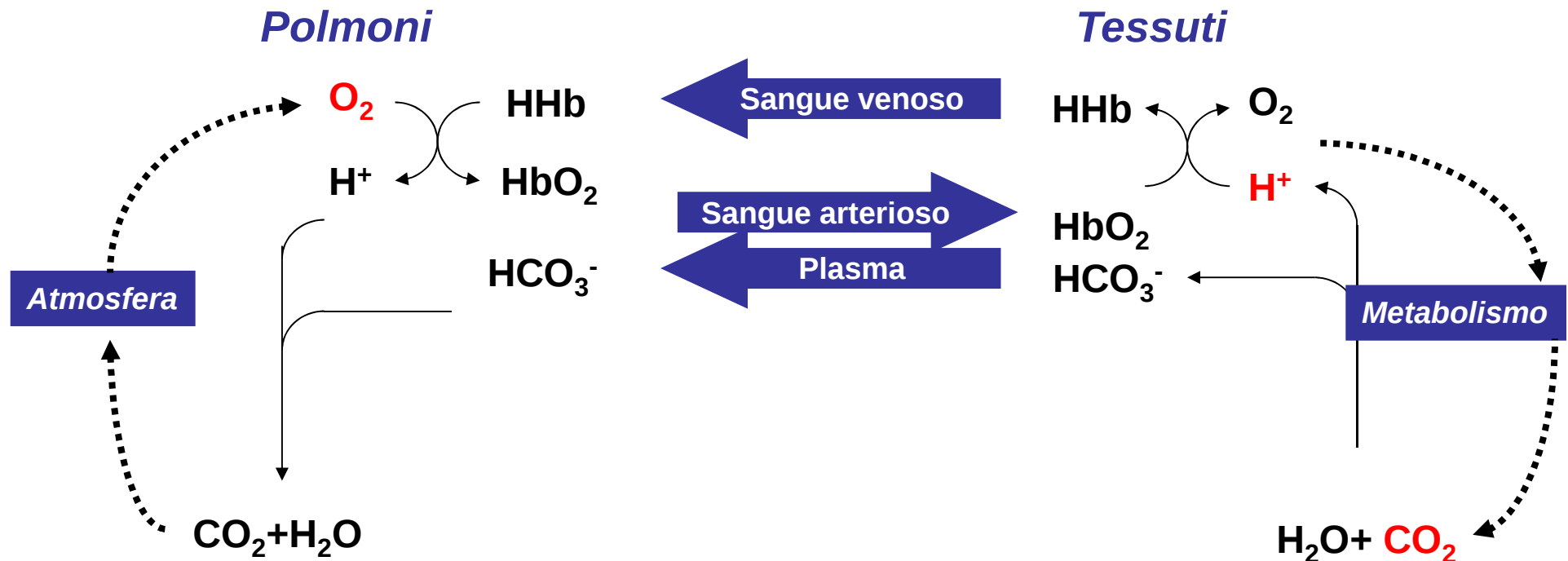


Favorisce il rilascio di O_2 quando si accumula acido lattico (scarsa ossigenazione)

Forme in cui CO_2 si presenta nel sangue

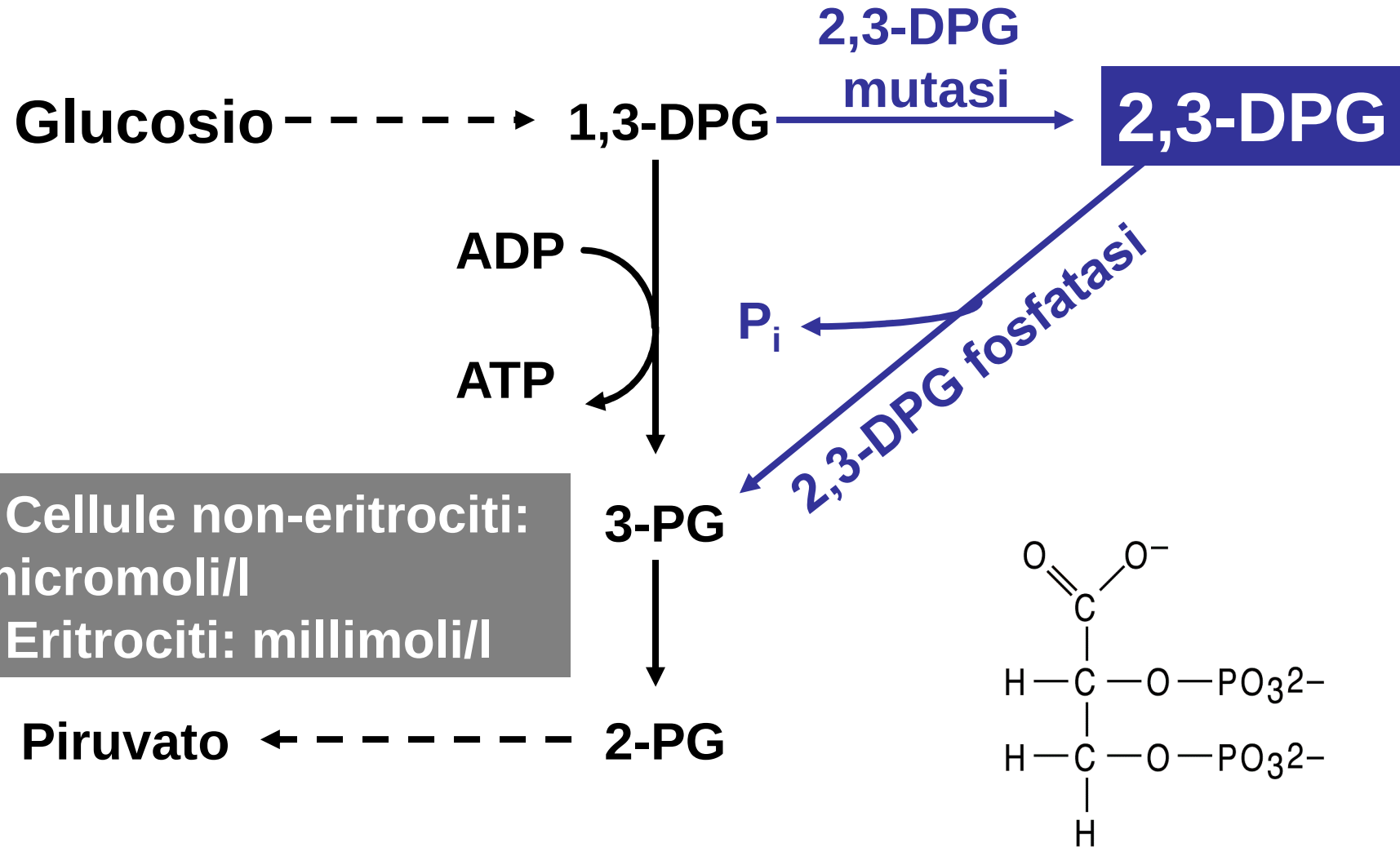
- Bicarbonato (HCO_3^-)
- CO_2 libera
- Carbammati (CO_2 + aminogruppi N-terminali di Hb)
 - NB: CO_2 e O_2 NON si legano allo stesso sito di Hb!

Trasporto isoidrico di CO₂

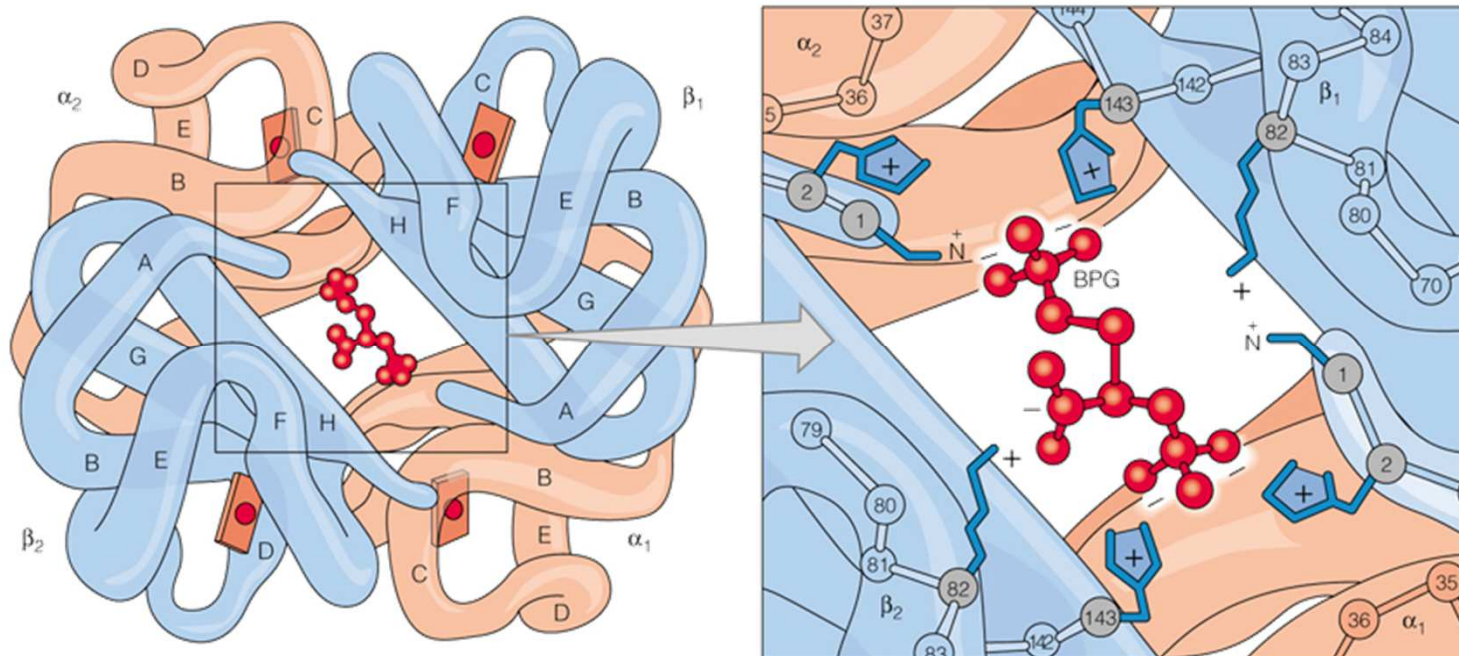
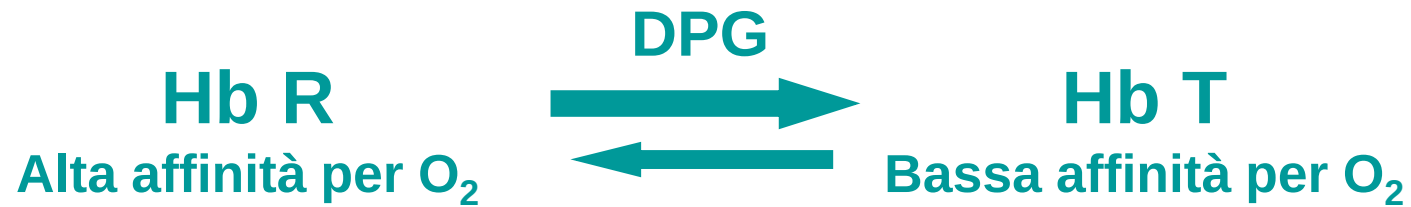


- CO₂ e H⁺ diminuiscono l'affinità Hb-O₂
- Tessuti: CO₂ alta, affinità Hb-O₂ bassa → rilascio di O₂
- Polmoni: CO₂ bassa, affinità Hb-O₂ alta → assunzione di O₂

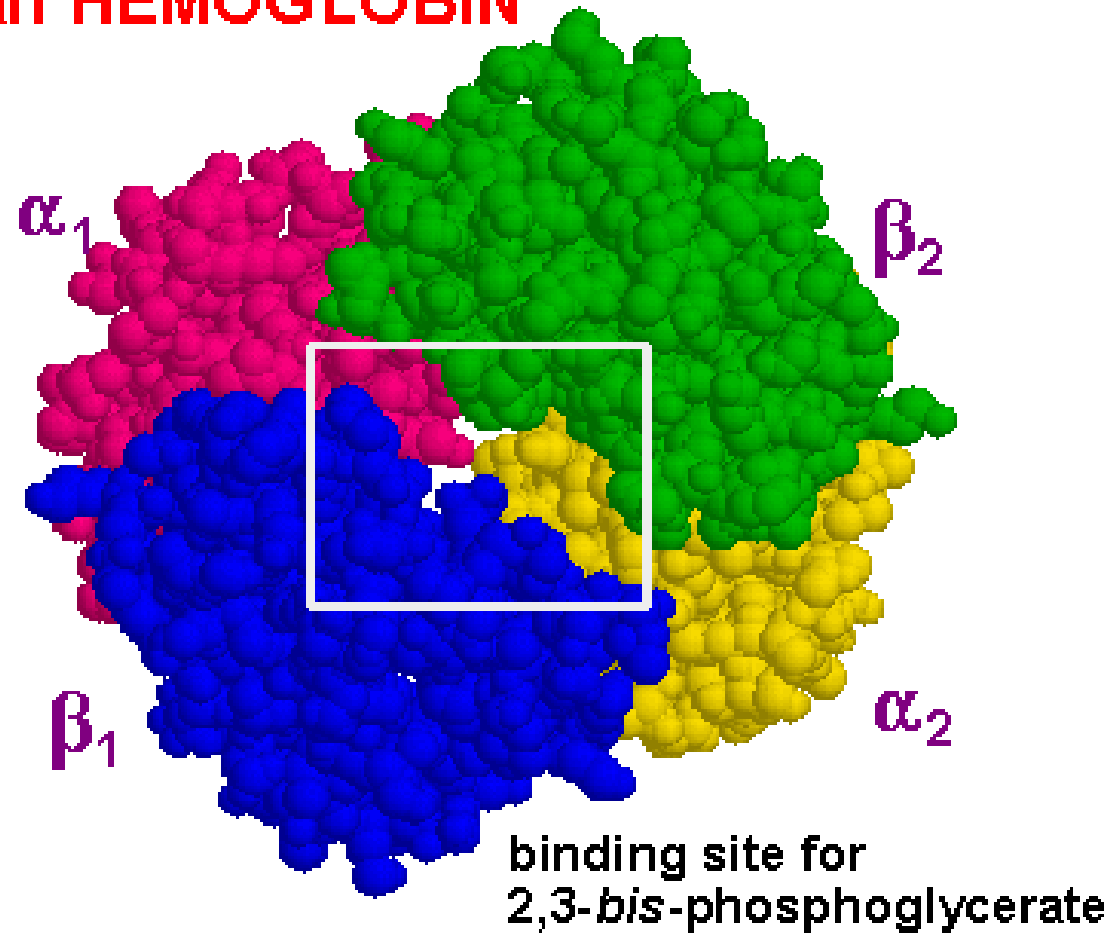
2,3-disfosfoglicerato (DPG)



DPG stabilizza la forma T dell'Hb



human HEMOGLOBIN

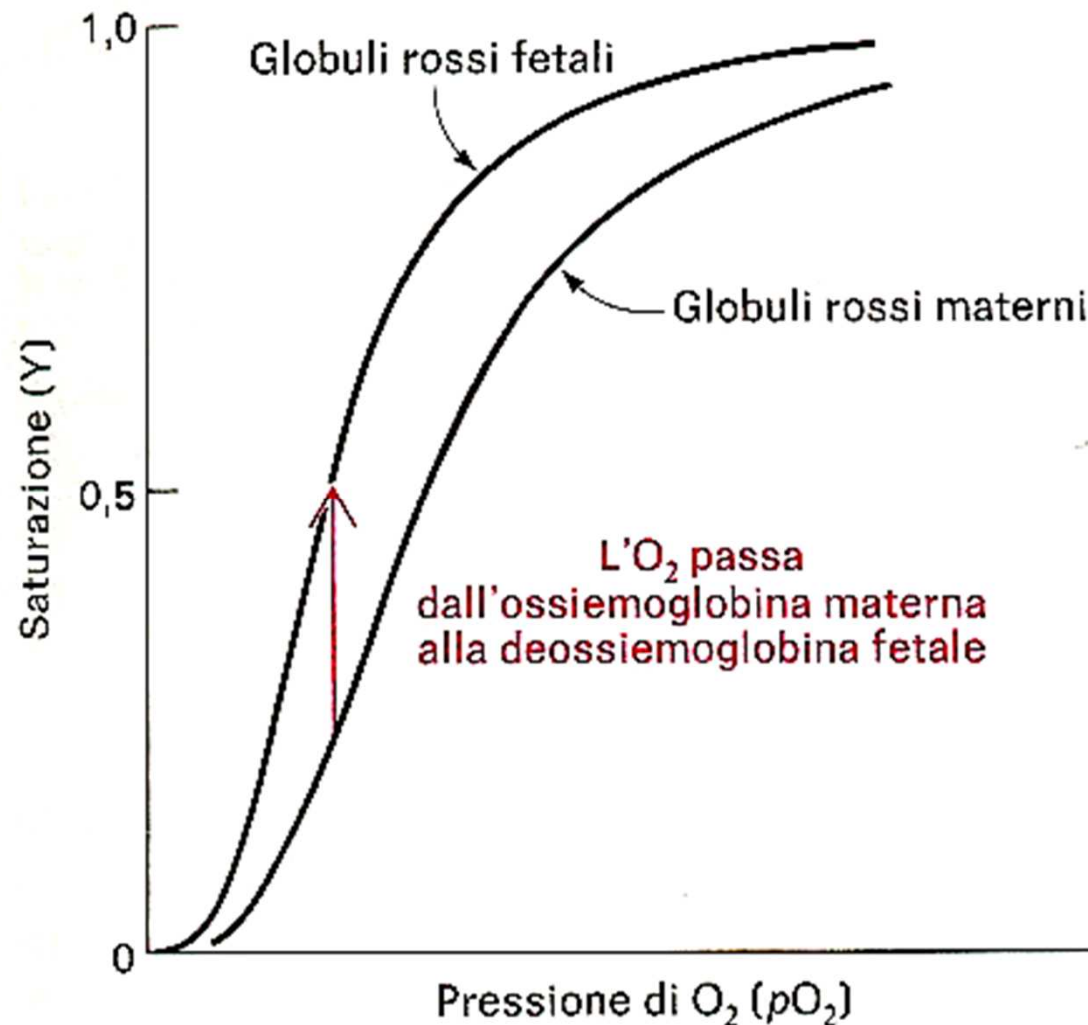


Vantaggio fisiologico dello spostamento a destra (bassa affinità per O_2) della curva $Hb+O_2$

- A parità di PO_2 venosa e arteriosa, una diminuzione dell'affinità $Hb+O_2$ aumenta il rilascio di O_2 ai tessuti
- La gittata cardiaca richiesta per portare una certa quantità di O_2 ai tessuti é minore
- I tessuti possono operare ad una PO_2 maggiore

Emoglobina fetale e 2,3-DPG

- HbF lega meno fortemente il DPG ($\beta \rightarrow \gamma$)
- Sangue fetale con affinità per O_2 maggiore del sangue adulto
- Il feto “strappa” O_2 al sangue materno attraverso la placenta

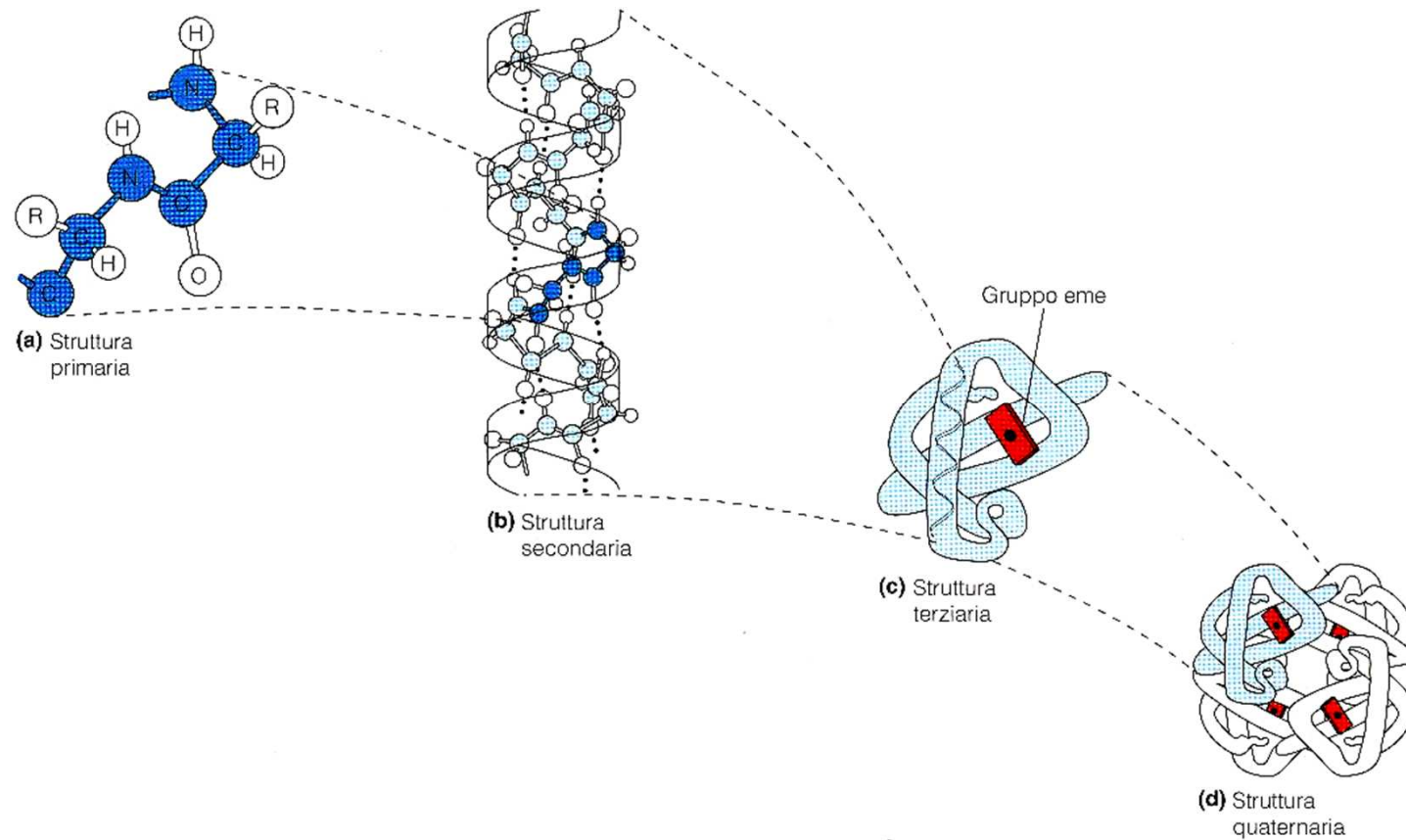


Monossido di carbonio (CO)

- Si lega all'eme con affinità 300x superiore a quella dell'O₂: diminuisce la quantità di Hb disponibile per O₂
- Terapia: ventilazione con 100% O₂
- NB: CO e O₂ si legano allo stesso sito di Hb

Dalla sequenza degli aminoacidi alla patologia

Ogni variazione della sequenza di aminoacidi può alterare la struttura quaternaria e la funzione di Hb e Mb



Patologia molecolare di Hb

“difetti qualitativi”

- Sostituzione di residui in superficie: solitamente innocui (mutazioni silenti), **eccetto HbS**  Anemia falciforme
- **Sostituzioni di residui interni: destabilizzano la struttura quaternaria (formazione di precipitati o corpi di Heinz, interazione con membrana, lisi, anemia emolitica)**
- Modificazioni che stabilizzano metHb: impediscono formazione di HbO₂, cianosi
- **Sostituzioni nell'interfaccia $\alpha\beta$: impediscono transizioni T/R (spesso a favore di R), alta affinità per O₂, scarso rilascio di O₂, ipossia periferica, policitemia**

Talassemie

“difetti quantitativi”

- β -talassemia: mancata espressione della catena β
 - Letale nell'omozigote (Morbo di Cooley)
 - Per alcuni anni, i pazienti esprimono la catena γ (persistenza ereditaria dell'Hb fetale)
- α -talassemia: mancata espressione della catena α
 - Produzione di β_4 (Hb H) o γ_4 (Hb Bart), funzionali, ma senza transizioni allosteriche né effetto Bohr
- Anche le talassemie proteggono dalla malaria (vantaggio per gli eterozigoti e quindi propagazione del gene)