

**Mioglobina**  
**Emoglobina**

## **Eventi successivi alla comparsa dell'O<sub>2</sub>**

- **Possibilità di ottenere circa 20 volte più energia dalla combustione del glucosio**
- **Sviluppo di un sistema circolatorio per la distribuzione dell'ossigeno: infatti, l'assenza di tale sistema limita le dimensioni di un organismo a 1 mm, perché la diffusione dell'ossigeno sarebbe troppo lenta**
- **Acquisizione di molecole trasportatrici di ossigeno per superare le limitazioni dovute alla sua bassa solubilità in acqua. Nel sangue, la presenza di Hb aumenta la capacità di trasporto di O<sub>2</sub> da 5 a 250 ml/litro**

**RESPIRAZIONE** : assunzione di O<sub>2</sub> dall'ambiente e rilascio di CO<sub>2</sub>

La **RESPIRAZIONE CELLULARE** è un **processo redox** attraverso il quale vengono trasferiti atomi di idrogeno da un composto contenente C, H all'ossigeno

- **Es.:** trasferimento di elettroni dal glucosio all'ossigeno



Il trasferimento avviene gradualmente attraverso una serie di passaggi

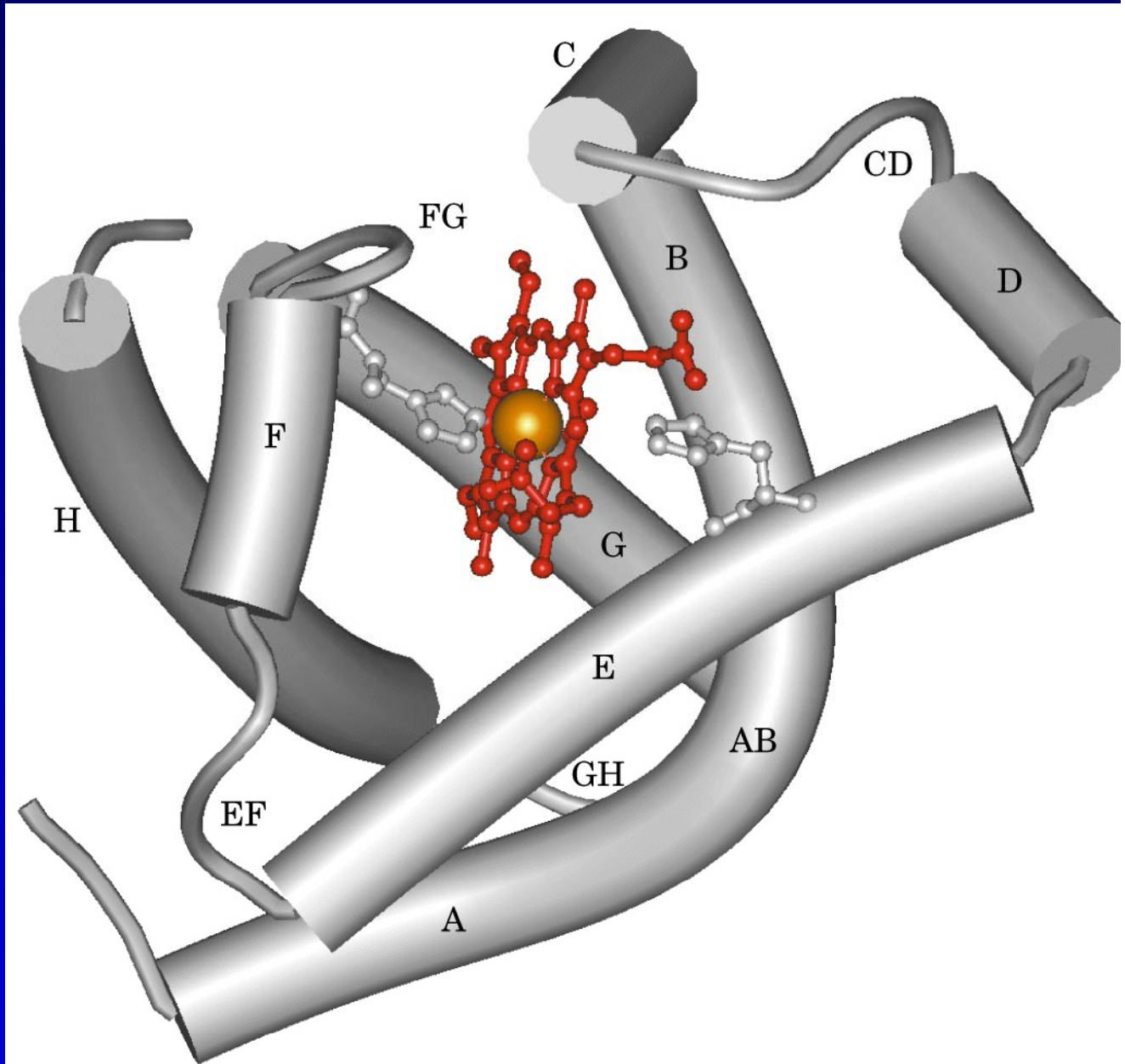
E' un processo controllato e graduale

**RESPIRAZIONE CELLULARE** : reazioni che comportano il consumo di O<sub>2</sub> e la formazione di CO<sub>2</sub>

## **MIOGLOBINA: IL DEPOSITO DI O<sub>2</sub>**

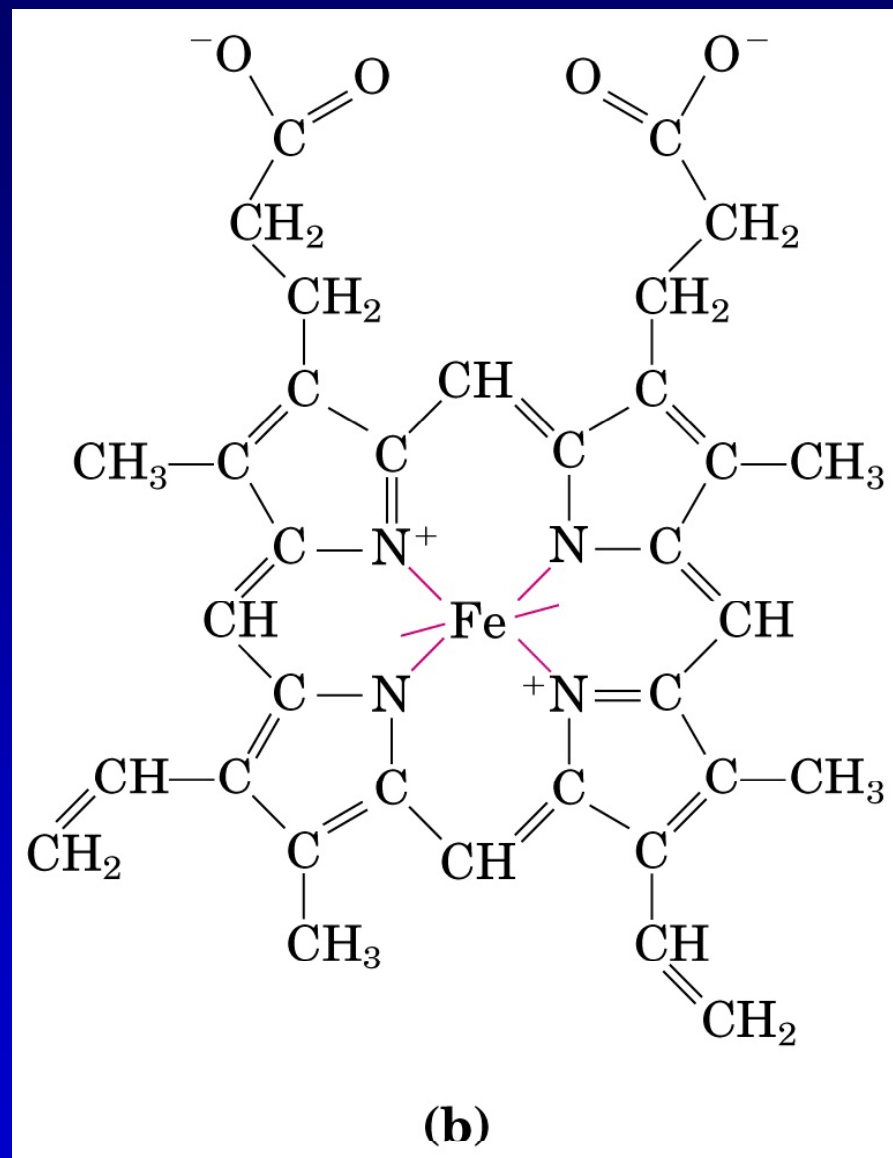
- **La mioglobina è una proteina globulare citoplasmatica che lega e accumula l'O<sub>2</sub> nelle cellule muscolari**
- **Rilascia l'ossigeno quando la pressione parziale di O<sub>2</sub> (pO<sub>2</sub>) nella cellula muscolare è insufficiente a sostenere il metabolismo aerobico (es: durante un'intensa attività fisica)**

La **MIOGLOBINA** è costituita da una catena polipeptidica di 153 amminoacidi ripiegata in 8 segmenti (A-H) di  $\alpha$ -elica uniti tra loro da segmenti non elicoidali. La catena si ripiega su se stessa formando una "tasca" idrofobica che accoglie il gruppo **eme** che lega uno ione **Ferro**.

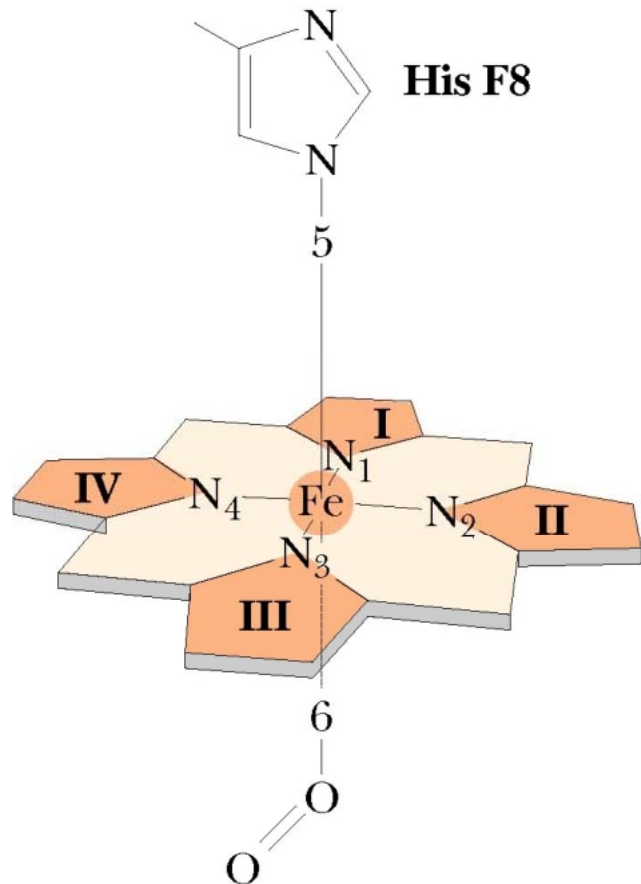


**L'EME è costituito da una struttura organica complessa (protoporfirina) molto apolare che interagisce con le catene laterali apolari della mioglobina disposte all'interno della tasca idrofobica**

**Lo ione Ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ , ridotto) si trova al centro dell'eme coordinato a 4 atomi di azoto dell'anello porfirinico**

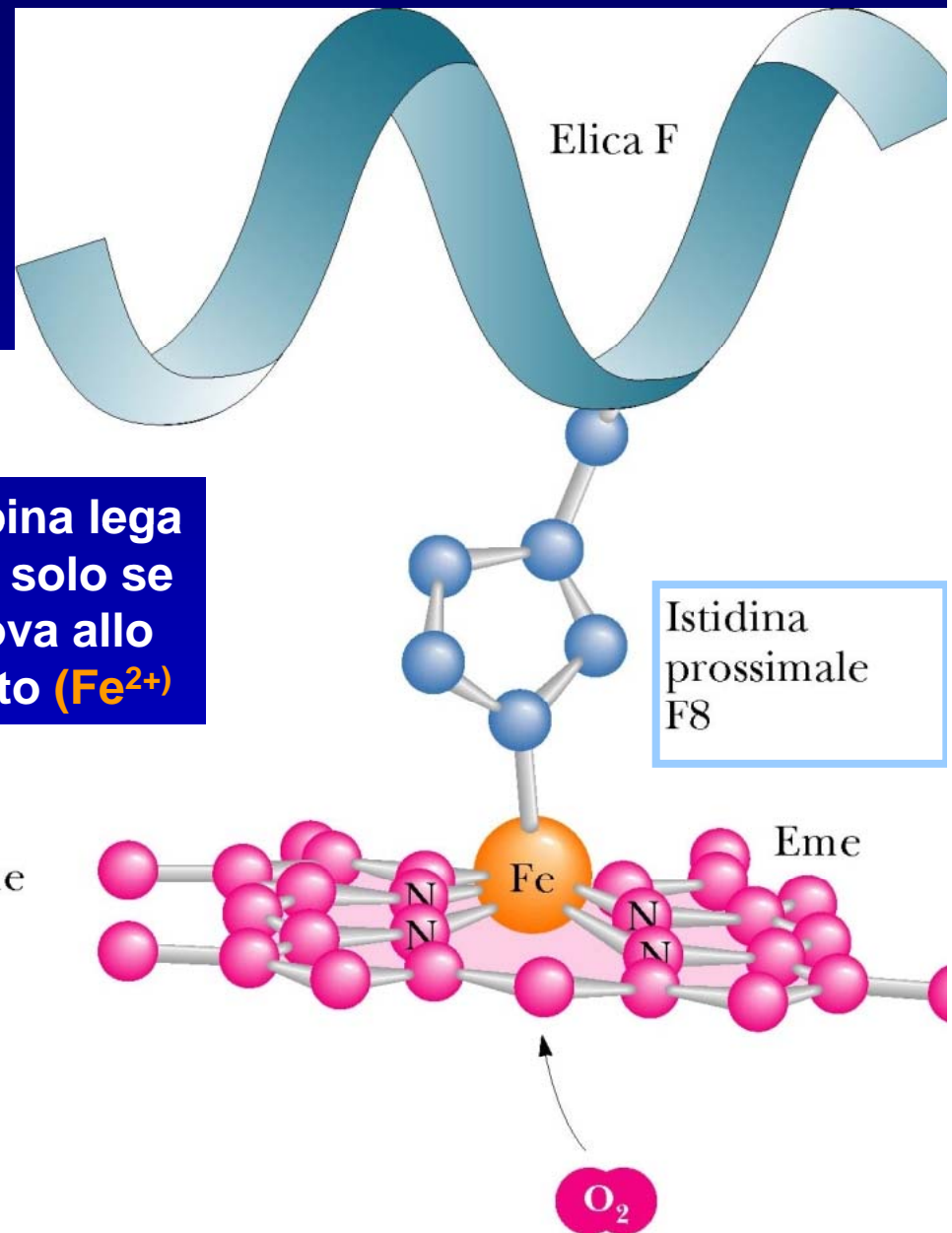


L'atomo di Ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ) forma altri 2 legami di coordinazione: 1 con l'atomo di azoto di un residuo di Istidina (His F8 o prossimale) (al di sopra del piano) e 1 con l' $\text{O}_2$  (al di sotto del piano)

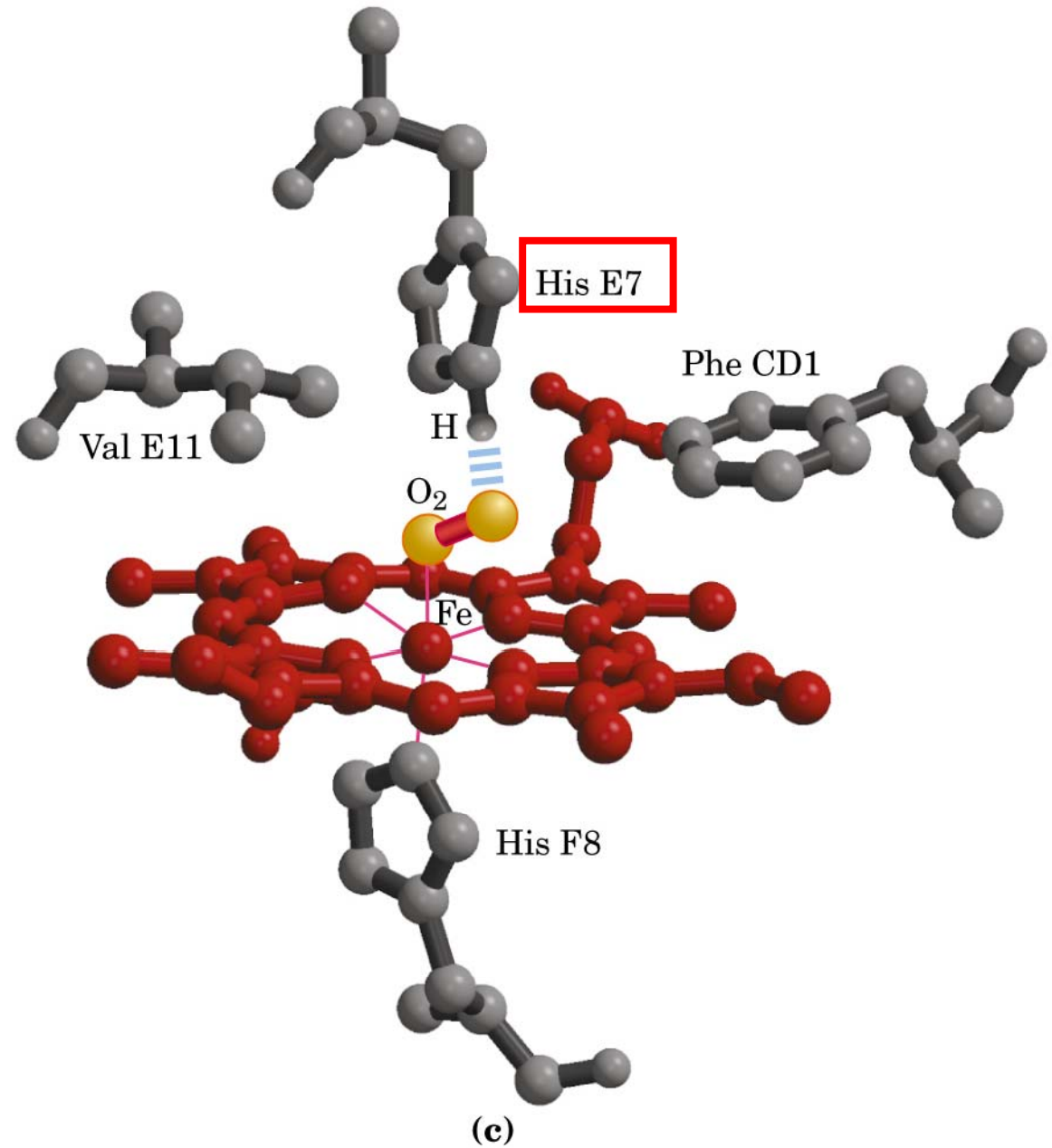


La mioglobina lega l'ossigeno solo se il Fe si trova allo stato ridotto ( $\text{Fe}^{2+}$ )

Piano dell'eme

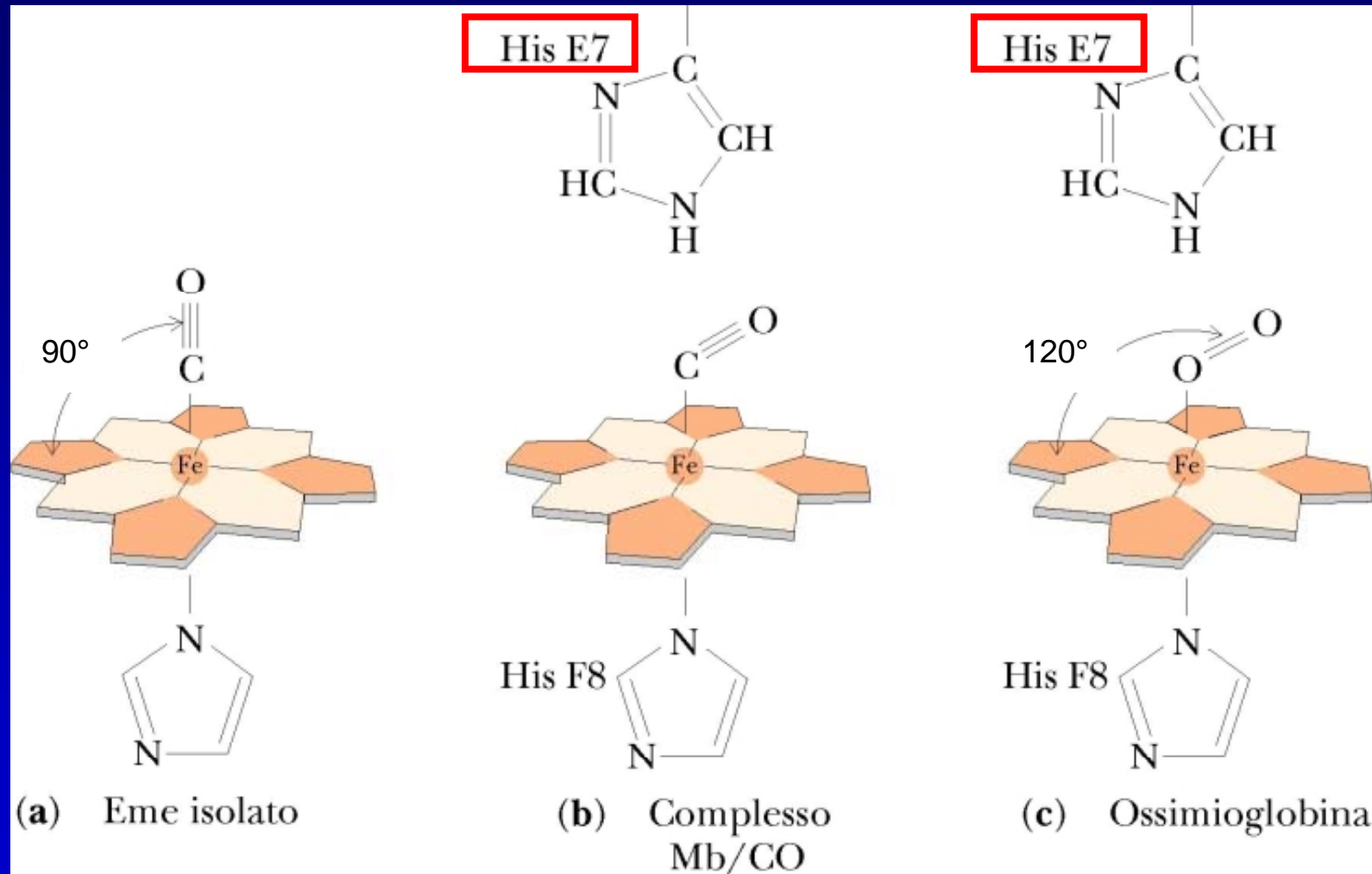


Il legame dell'O<sub>2</sub> è  
stabilizzato da un  
residuo di Istidina  
(His E7 o distale)

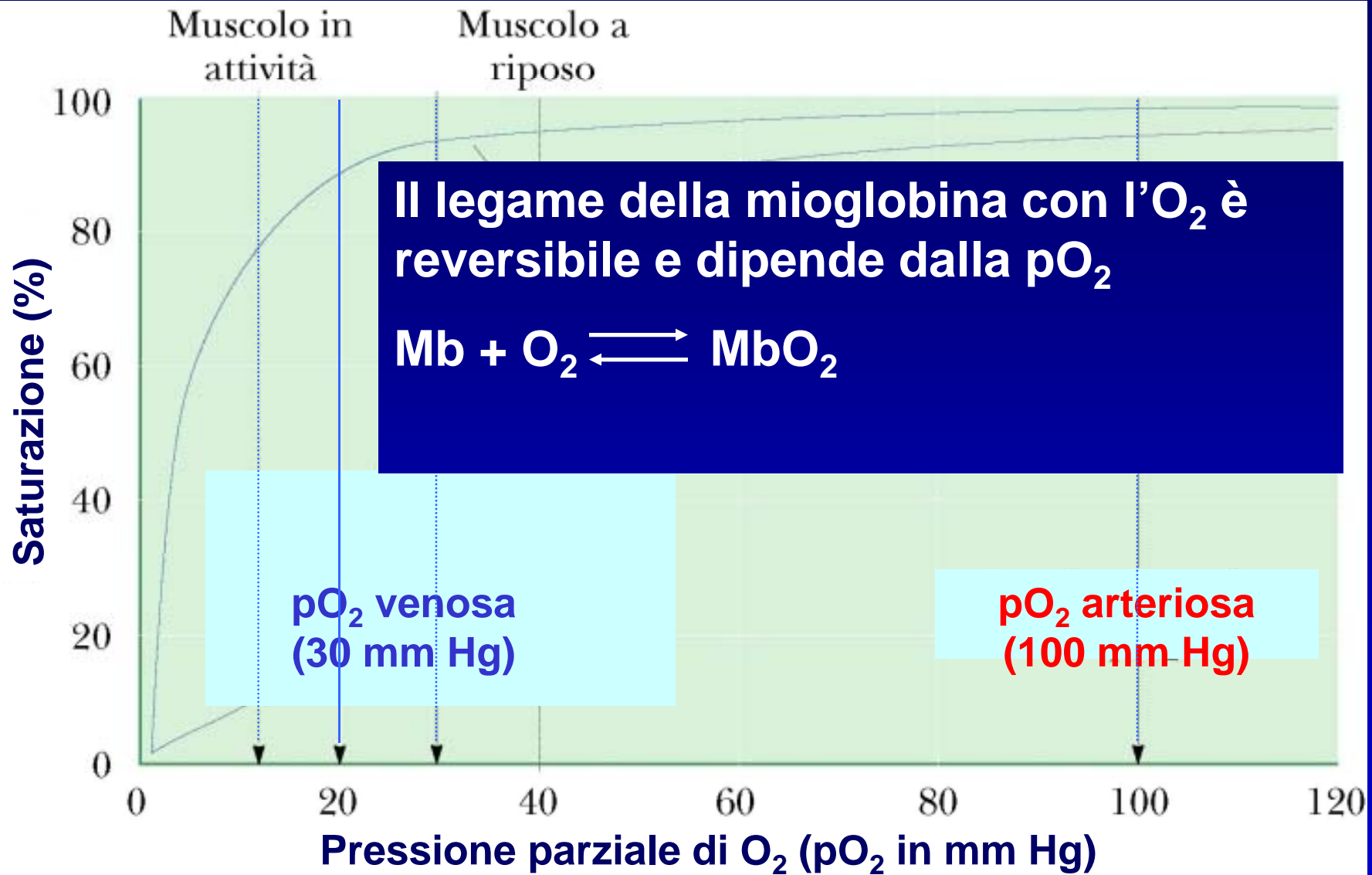




# La mioglobina può legare anche molecole tossiche come il **monossido di carbonio (CO)**



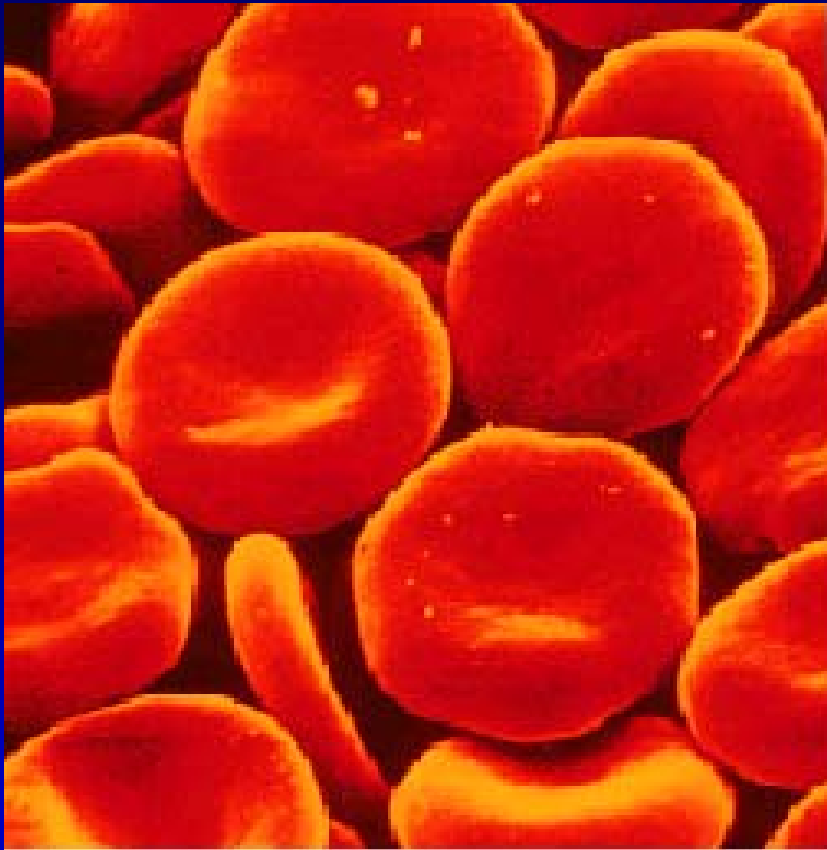
Il legame con il CO è destabilizzato dalla presenza di His E7 senza la quale il CO si legherebbe con più efficacia



La mioglobina è sempre satura di O<sub>2</sub> a pO<sub>2</sub> > 15 mm Hg

# EMOGLOBINA: IL TRASPORTATORE DI O<sub>2</sub>

# Eritrociti umani



*erythos* = rosso

*kytos* = contenitore cavo

Disco biconcavo senza nucleo  
e mitocondri contenente  $3 \times 10^8$   
molecole di emoglobina

Concentrazione di Hb nel  
sangue: 5-10 mM (circa 15  
g/100 mL)

I GR sono in media  $3 \times 10^{13}$  in  
tutto

Poiché il ricambio è di  $3 \times 10^6$  globuli rossi al secondo, in questo tempo si ricambiano  $9 \times 10^{14}$  molecole di Hb. Il 14% degli aminoacidi serve a questa sintesi proteica.

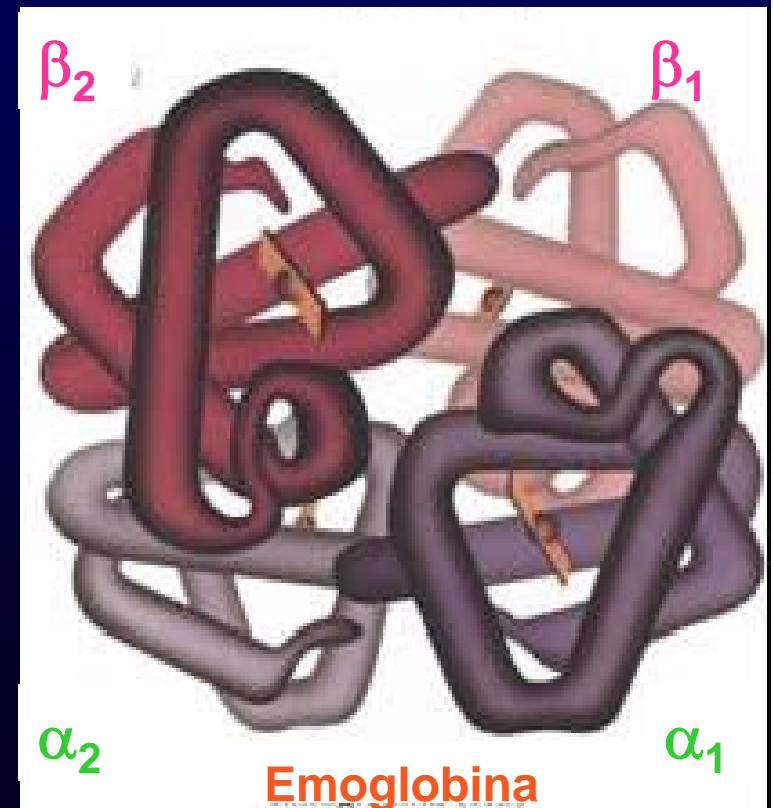
Ogni 24 ore vengono rinnovati (distrutti e risintetizzati) 6,25 grammi di emoglobina

## EMOGLOBINA: IL TRASPORTATORE DI O<sub>2</sub>

- L'emoglobina è una proteina globulare contenuta nei globuli rossi che lega l'O<sub>2</sub> e lo trasporta dai polmoni ai tessuti
- E' una proteina tetramerica formata da 4 subunità:
  - 2 catene  $\alpha$  ( $\alpha_1$  e  $\alpha_2$ ) contenenti 141 residui amminoacidi
  - 2 catene  $\beta$  ( $\beta_1$  e  $\beta_2$ ) contenenti 146 residui amminoacidi

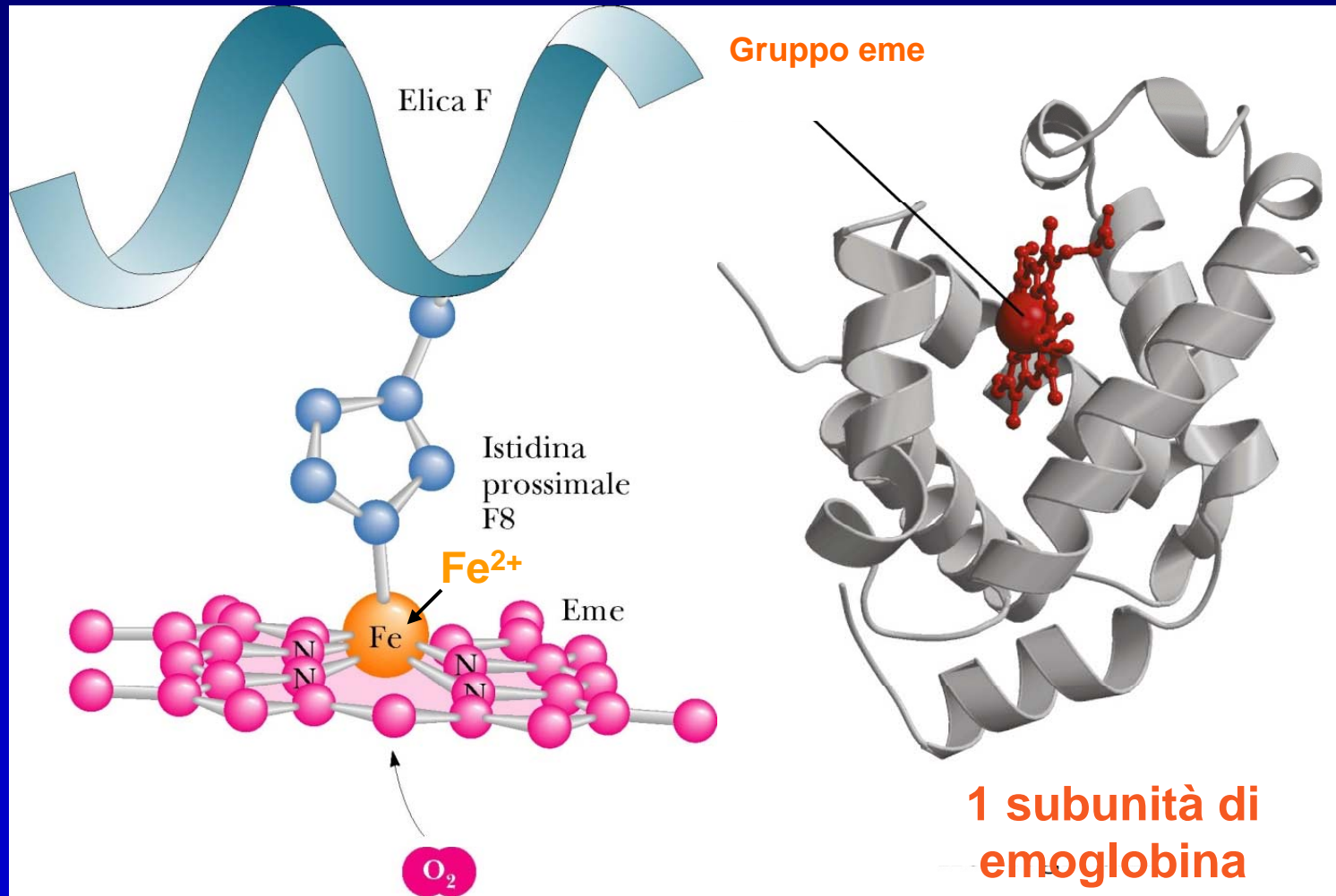
Ciascuna subunità è strutturalmente simile alla mioglobina e si ripiega in tratti di  $\alpha$ -elica uniti tra loro da segmenti non elicoidali

Ciascuna catena si ripiega su se stessa formando una "tasca" idrofobica che accoglie il gruppo eme che lega un atomo di Ferro



Ciascuna subunità dell'emoglobina lega l'O<sub>2</sub>

Il tetramero lega 4 O<sub>2</sub>

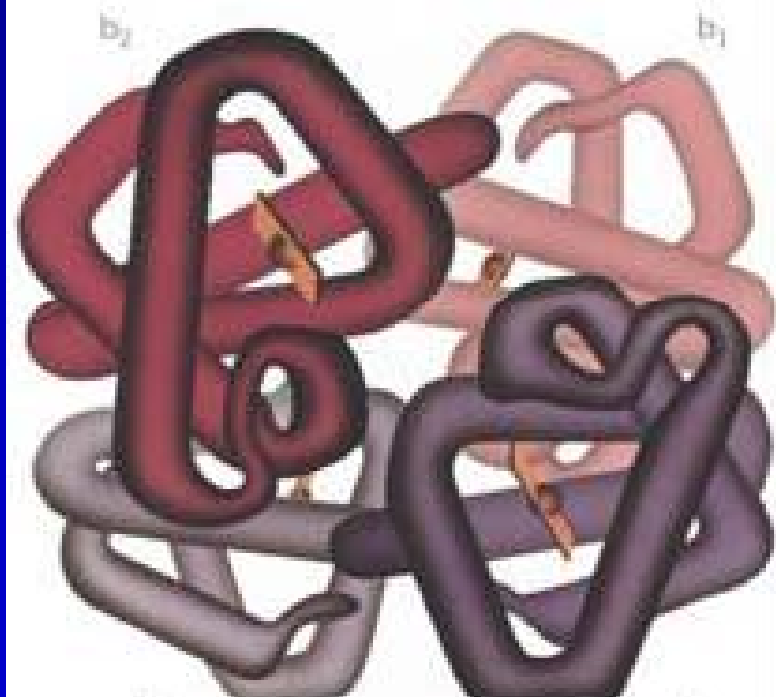


La **mioglobina** ha un'affinità maggiore per l'O<sub>2</sub> rispetto all'emoglobina

L'**emoglobina** esiste in uno stato a bassa affinità per l'O<sub>2</sub> (stato T) e in uno ad alta affinità (stato R)

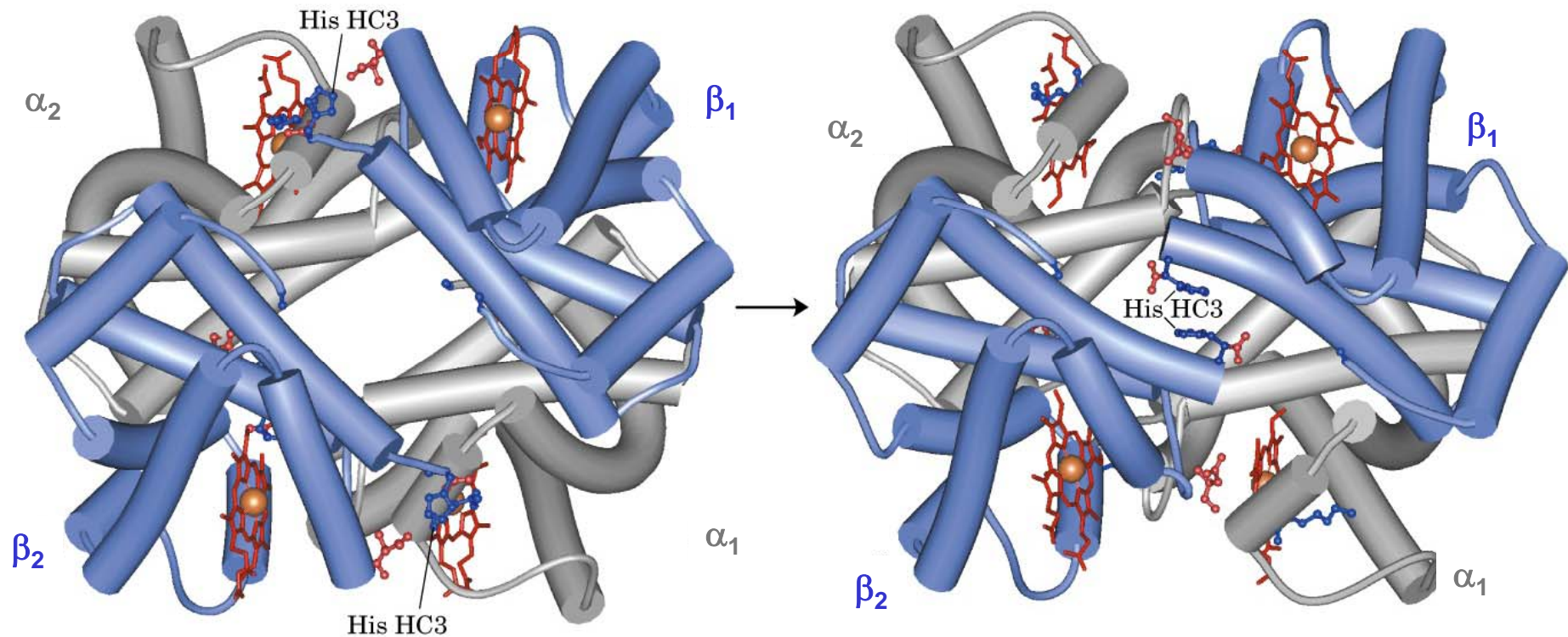


**Myoglobina**



**Emoglobina**

## Il tetramero può adottare 2 conformazioni



**Stato T : bassa affinità per l'O<sub>2</sub>**  
**(deossigenata)**

**Stato R: alta affinità per l'O<sub>2</sub>**  
**(ossigenata)**

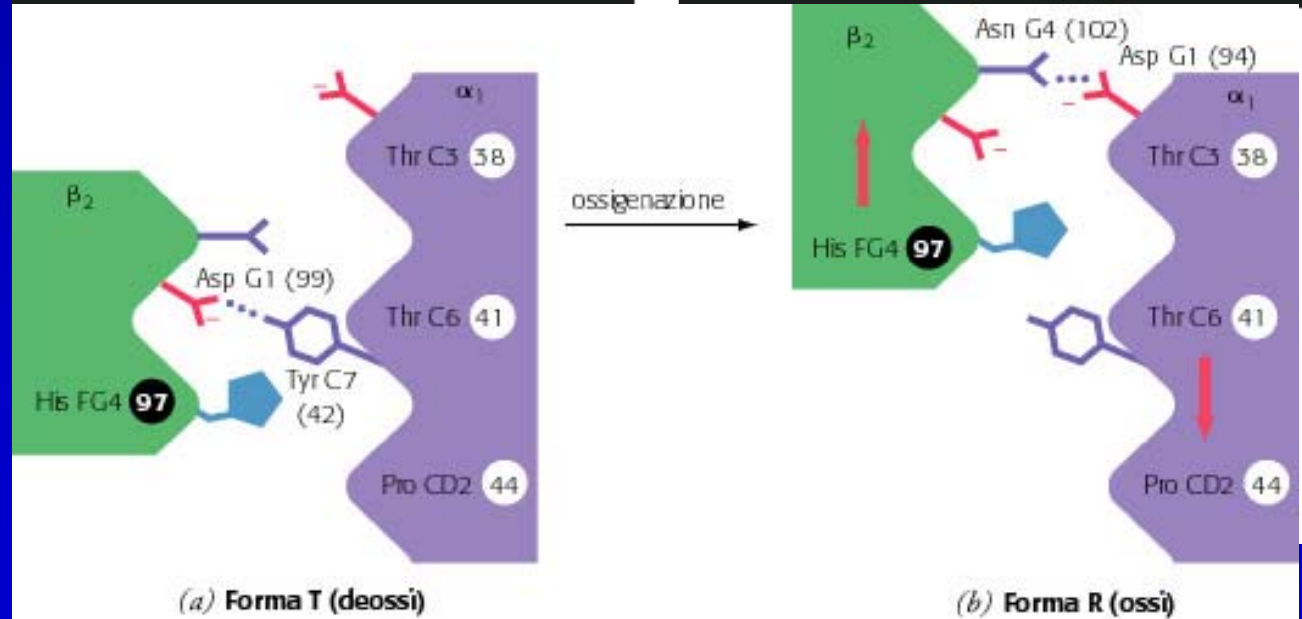
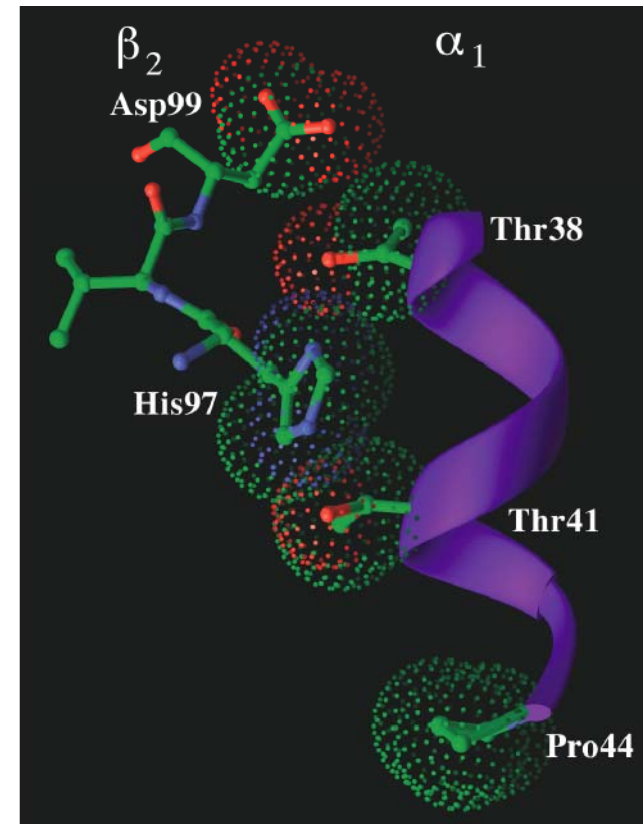
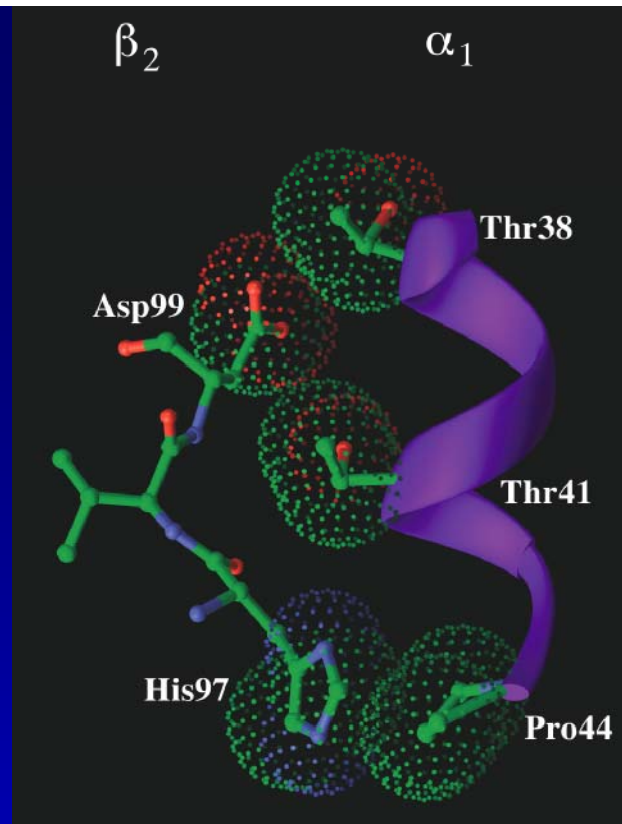
**Il legame dell'O<sub>2</sub> a una subunità nello stato T induce un cambiamento conformazionale convertendola nello stato R**  
**Nella transizione T→R i dimeri  $\alpha_1\beta_1$  e  $\alpha_2\beta_2$  si spostano**



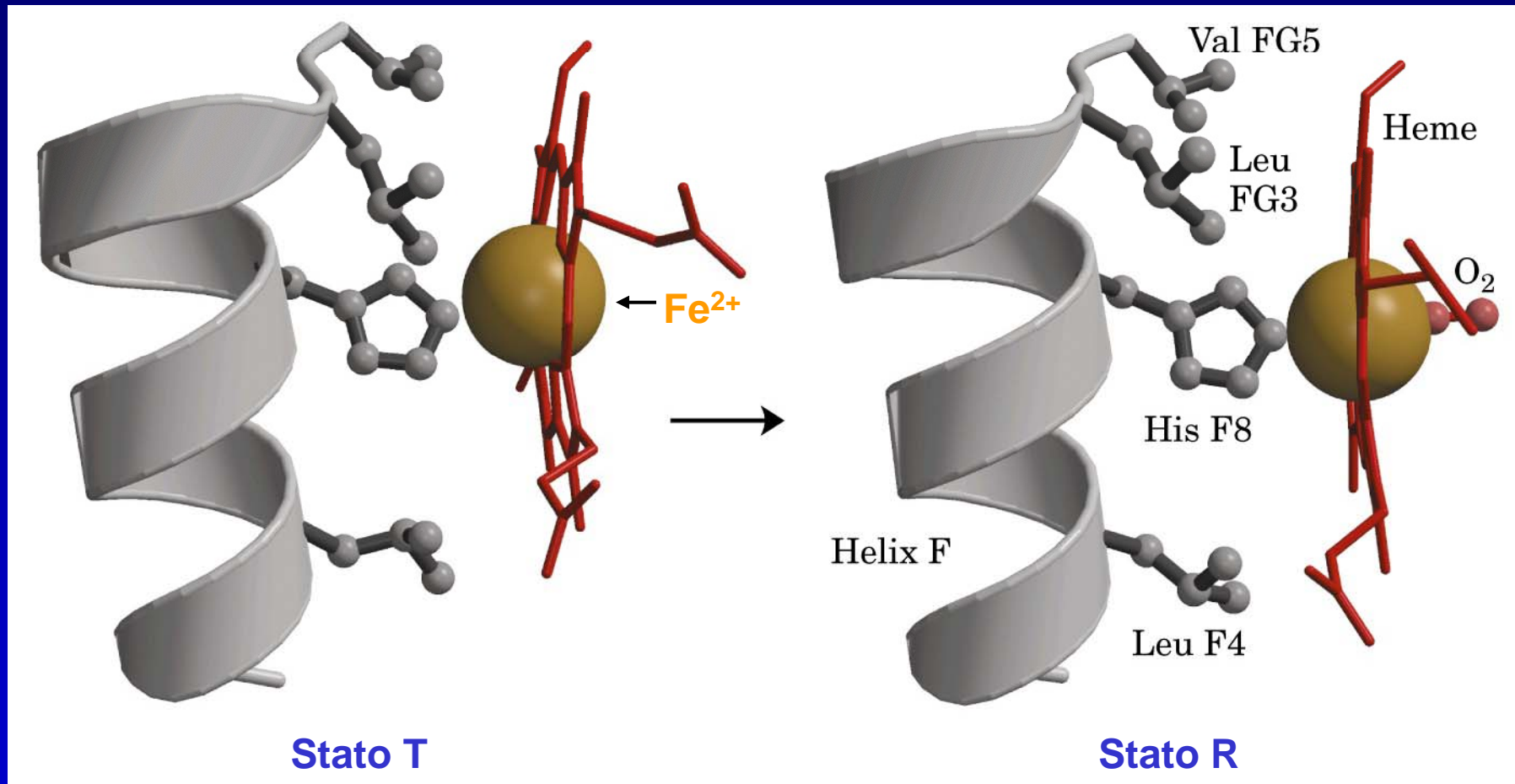
## Conformazione

Disposizione nello spazio di gruppi sostituenti intorno ad un atomo di carbonio che, in quanto liberi di ruotare, possono assumere posizioni diverse senza la rottura di legami covalenti

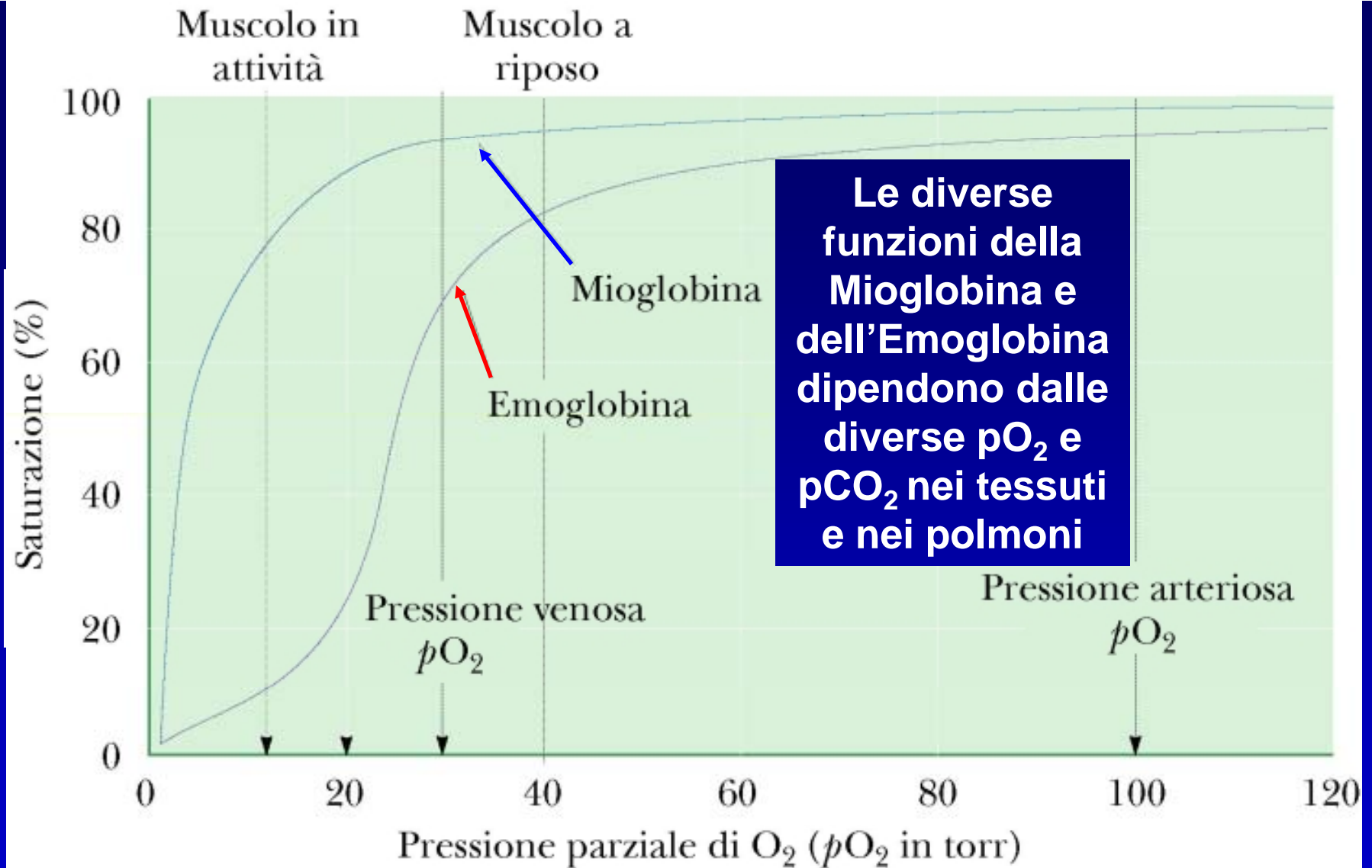
**Modificazioni conformazionali all'interfaccia  $\alpha_1/\beta_2$  nella transizione T  $\rightarrow$  R**



- Il legame dell'O<sub>2</sub> provoca un piccolo movimento dell'atomo di Ferro tirandolo verso il piano dell'eme
- L'atomo di Ferro trascina l'His F8 e l'elica F verso l'eme



I movimenti indotti dal legame con l'O<sub>2</sub> vengono trasmessi alle zone di contatto tra le subunità e portano alla rottura di interazioni saline intercatena

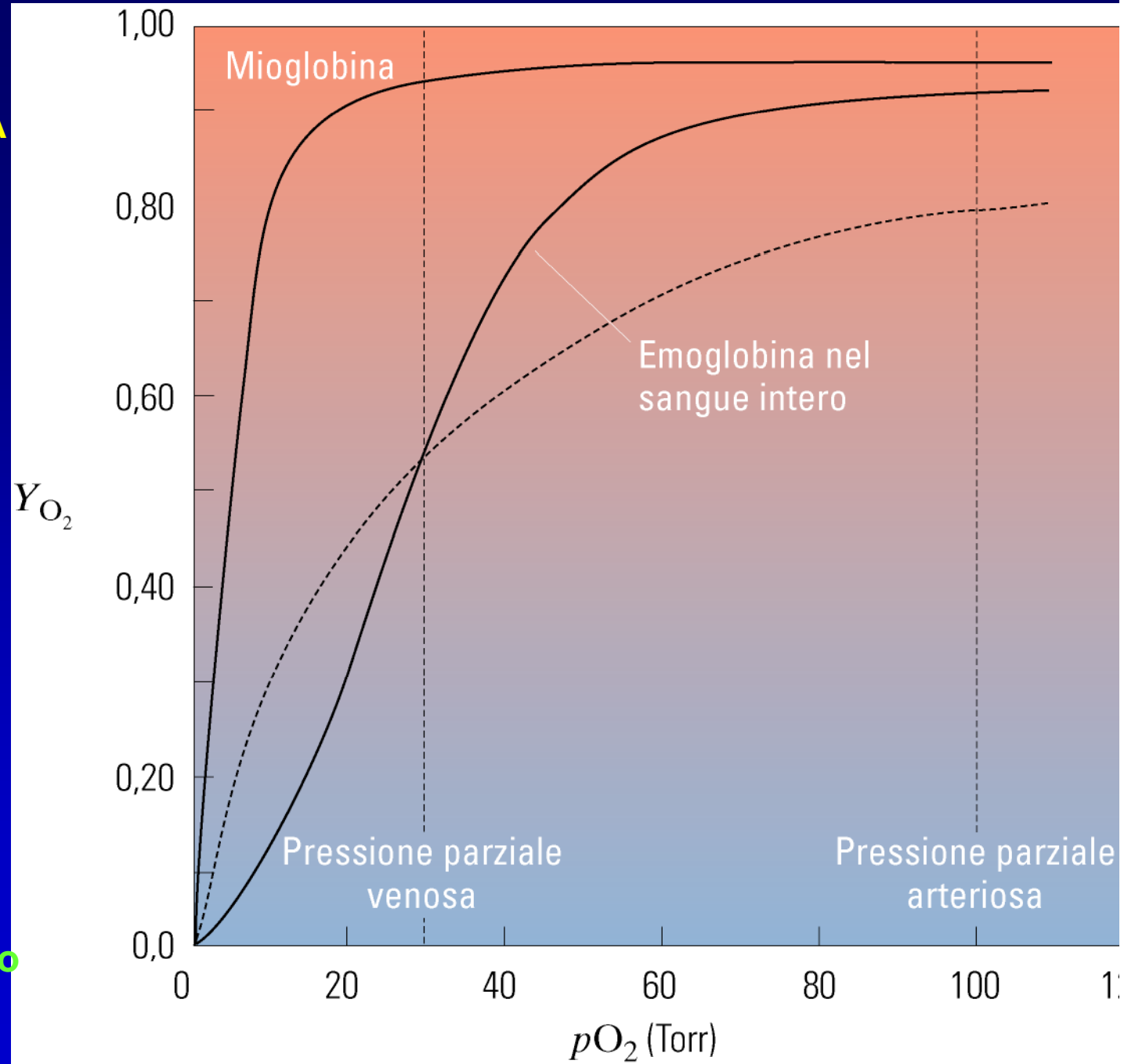


Il **legame cooperativo** (curva sigmoide) rende l'emoglobina molto più sensibile a piccole variazioni della  $pO_2$ : lega l' $O_2$  nei polmoni (alta  $pO_2$ ) e lo rilascia nei tessuti (bassa  $pO_2$ )

# EFFETTORI ALLOSTERICI DELL'EMOGLOBINA

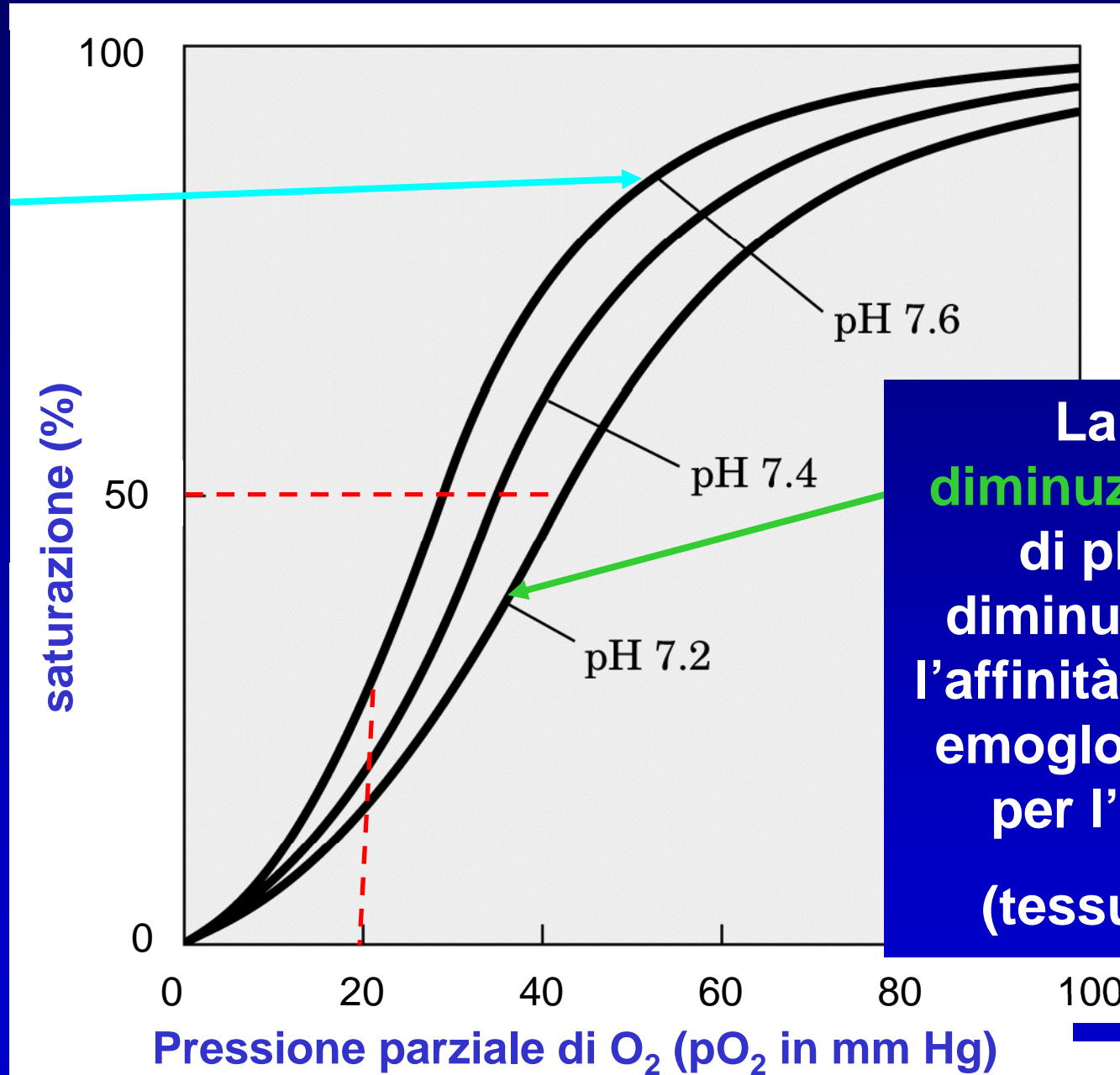
$Y_{O_2}$  = grado di saturazione

- $pO_2$
- pH
- $CO_2$
- 2,3-bisfosfoglicerato

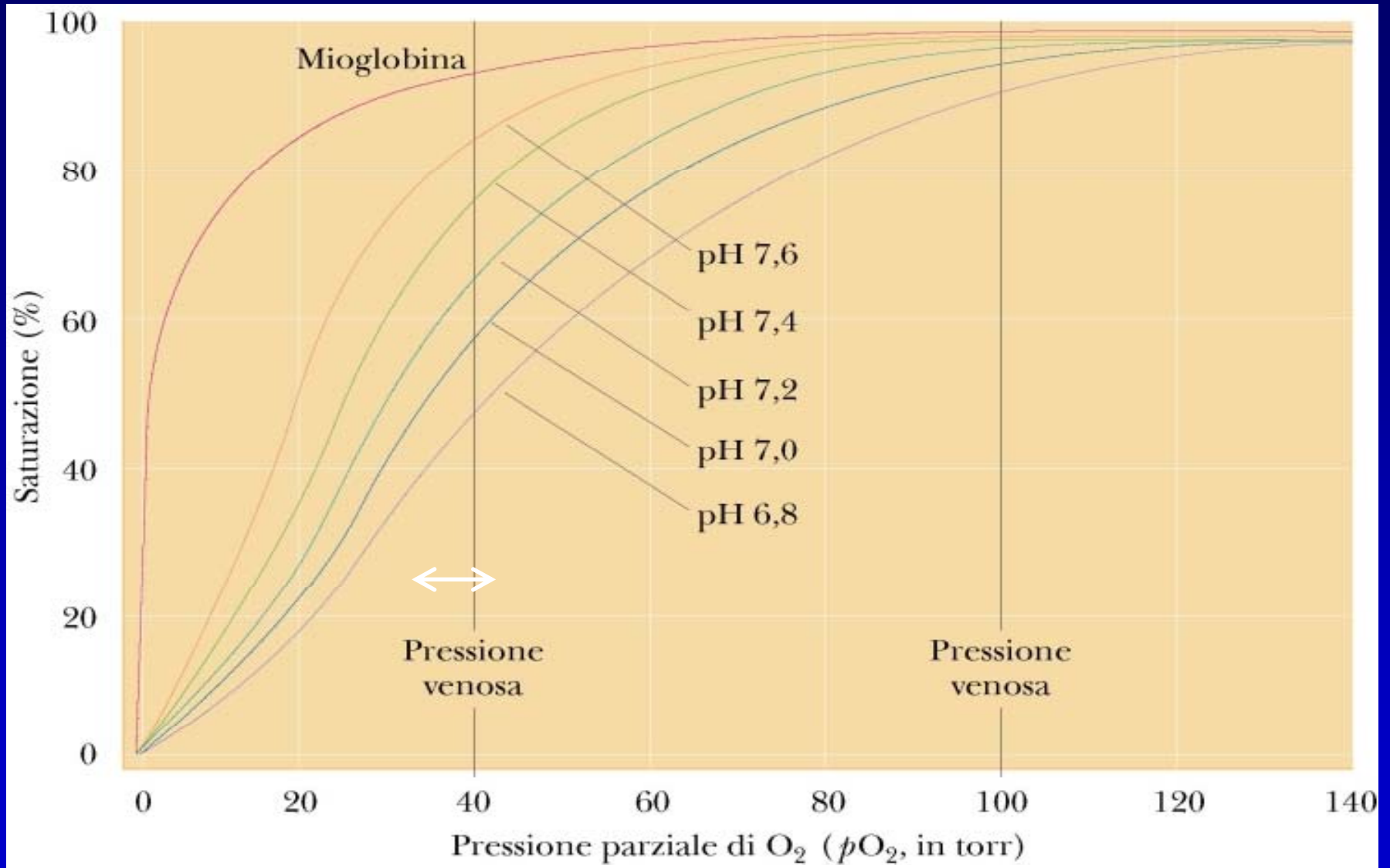


# EFFETTO BOHR

L'aumento di pH aumenta l'affinità della emoglobina per l'O<sub>2</sub> (polmoni)

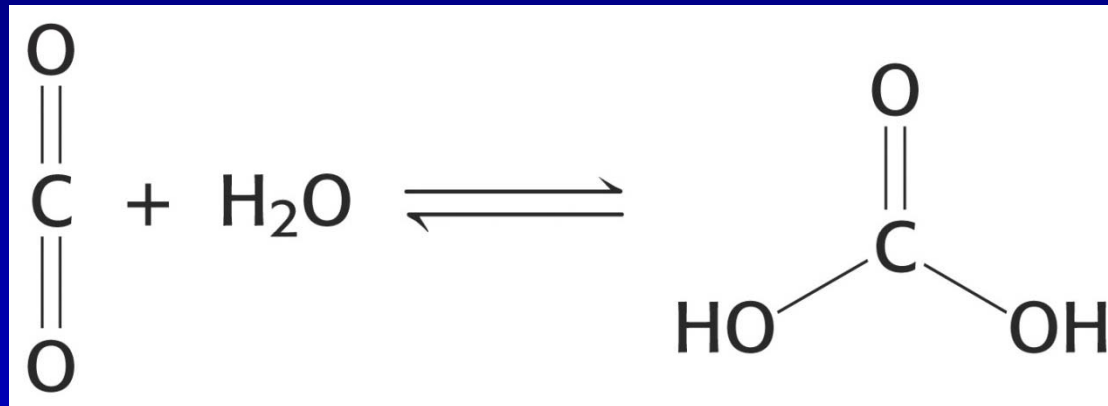


La diminuzione di pH diminuisce l'affinità della emoglobina per l'O<sub>2</sub> (tessuti)



La diminuzione di pH a livello dei tessuti (pH 7,2) è dovuta ad un aumento della  $p\text{CO}_2$

L'anidride carbonica va incontro ad una reazione di idratazione catalizzata da un enzima specifico: l'anidrasi carbonica







$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

$$7,4 = 6,1 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

$$1,3 = \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

$$\frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} = 20$$

In condizioni di **equilibrio "acido-base" fisiologico** la  $[\text{HCO}_3^-]$  ematica è 20 volte superiore a quella di  $\text{H}_2\text{CO}_3$ .

Il pH del sangue rimane costante (7,4) finchè tale rapporto rimane prossimo a 20

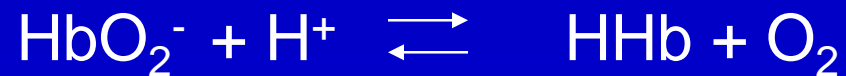
Quando  $\frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} > 20$ : **alcalosi**

Quando  $\frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} < 20$ : **acidosi**

Il legame dell'O<sub>2</sub> provoca uno spostamento dell'His verso l'eme inducendo un cambiamento della conformazione terziaria e quaternaria. In conseguenza di ciò, alcuni residui amminoacidici si trovano in un ambiente elettrochimico diverso che comporta una diminuzione del loro pK.

Pertanto l'ossiemoglobina ha un grado di acidità maggiore rispetto alla deossiemoglobina

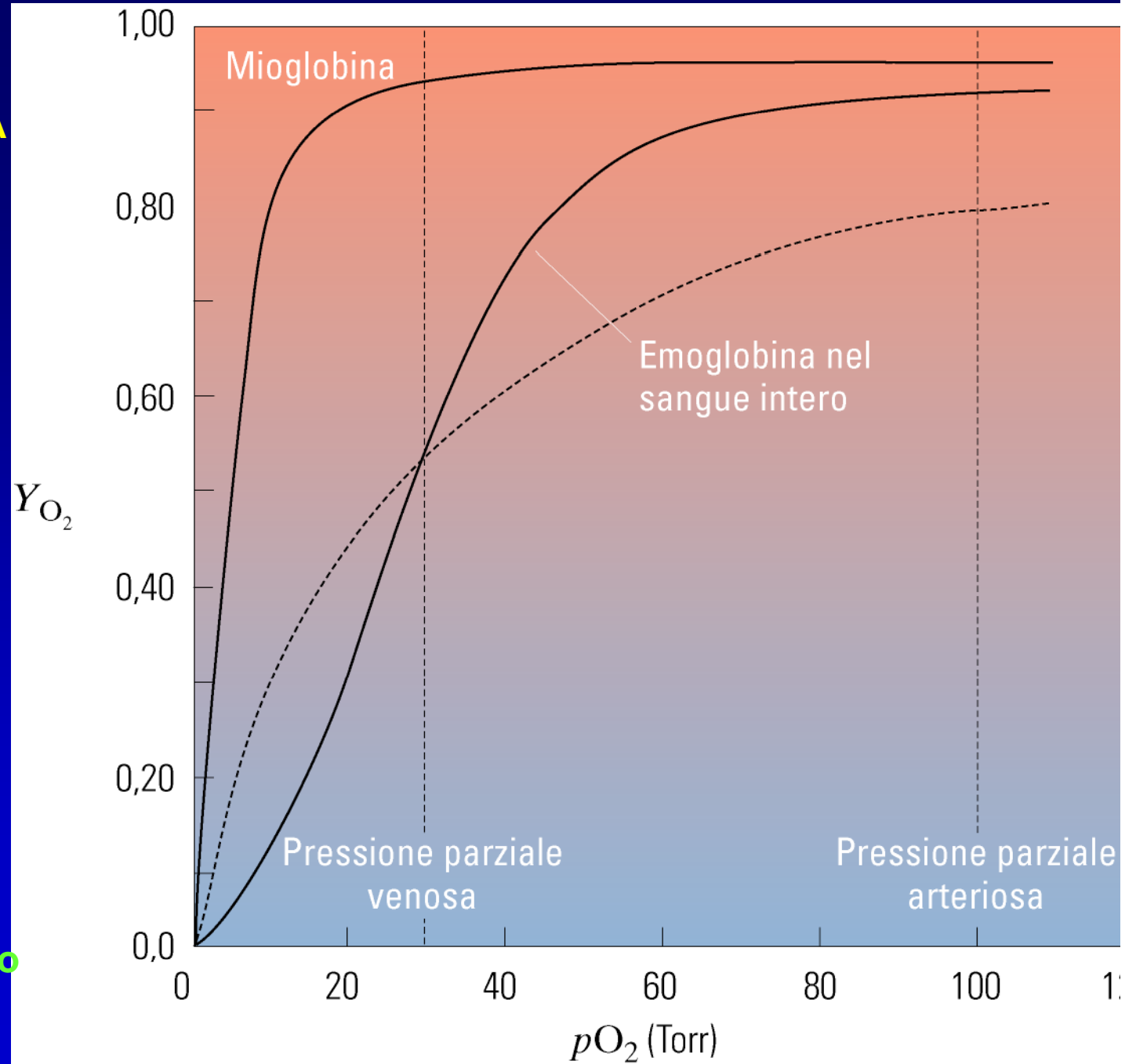
Quindi, in corrispondenza dei **tessuti** la deossiemoglobina sottrae protoni al mezzo mentre in corrispondenza dei **polmoni** la ossiemoglobina rilascia protoni nel mezzo



# EFFETTORI ALLOSTERICI DELL'EMOGLOBINA

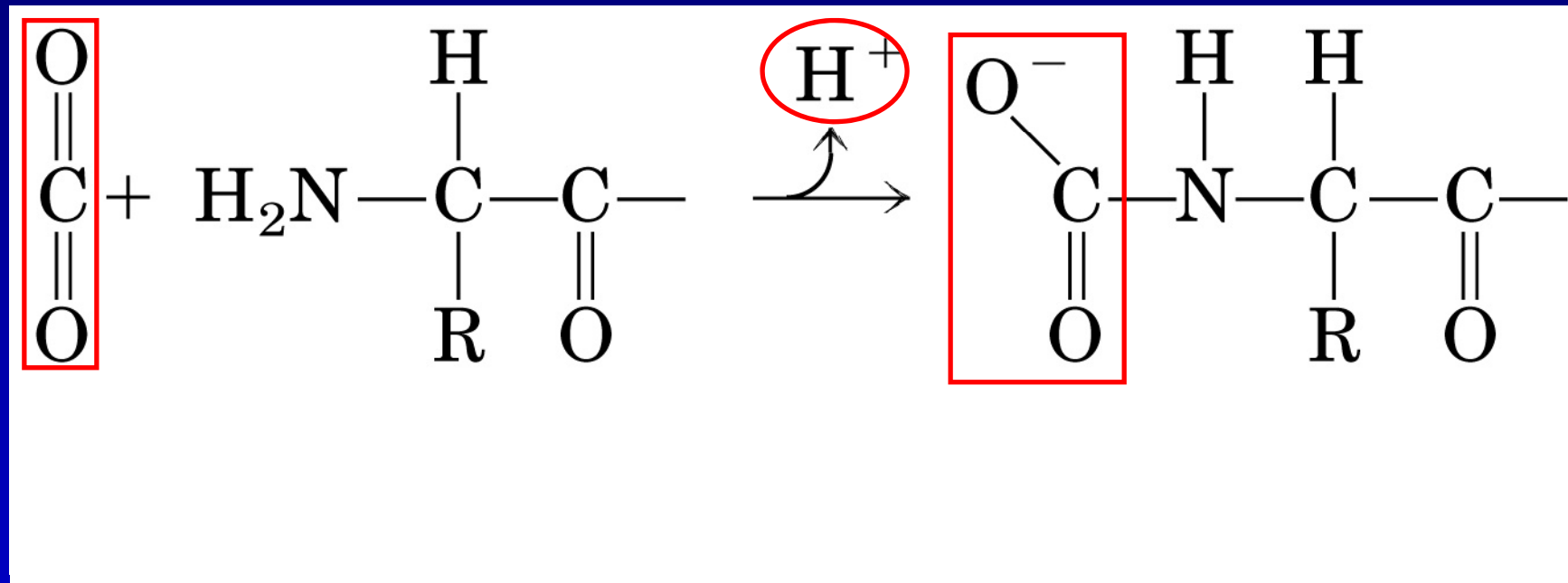
$Y_{O_2}$  = grado di saturazione

- $pO_2$
- pH
- $CO_2$
- 2,3-bisfosfoglicerato



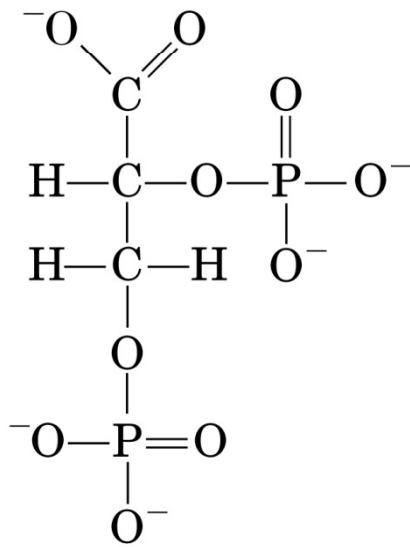
## Legame dell'anidride carbonica all'emoglobina

Una percentuale (circa 20%) di anidride carbonica si lega al gruppo **NH<sub>2</sub> terminale** di ciascuna catena globinica



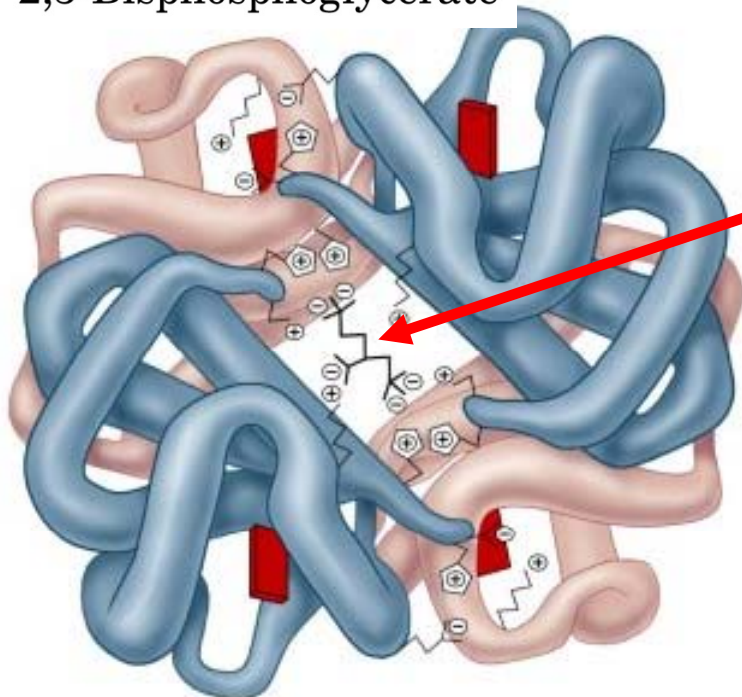
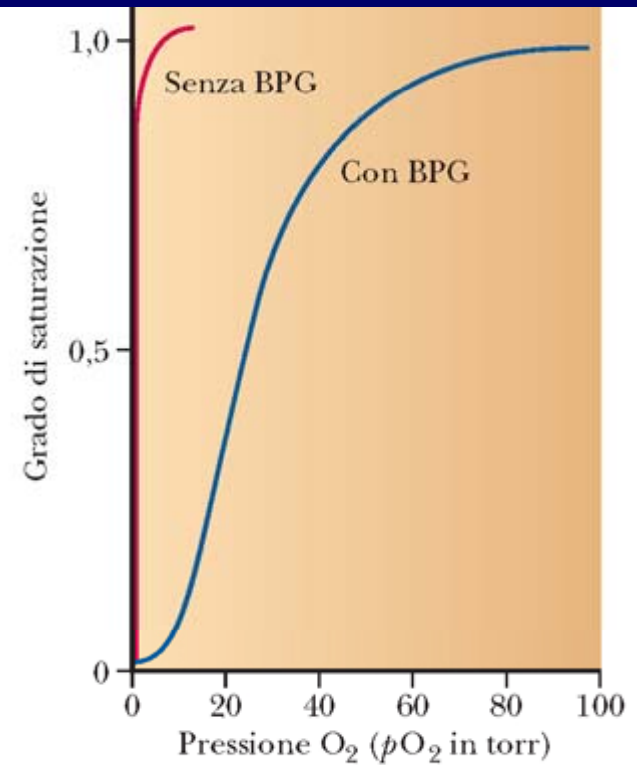
Il legame dell'anidride carbonica contribuisce a diminuire l'affinità dell'emoglobina per l'O<sub>2</sub> che quindi viene rilasciato ai tessuti

# Legame del 2, 3 bisfosfoglicerato (BPG) all'emoglobina



2,3-Bisphosphoglycerate

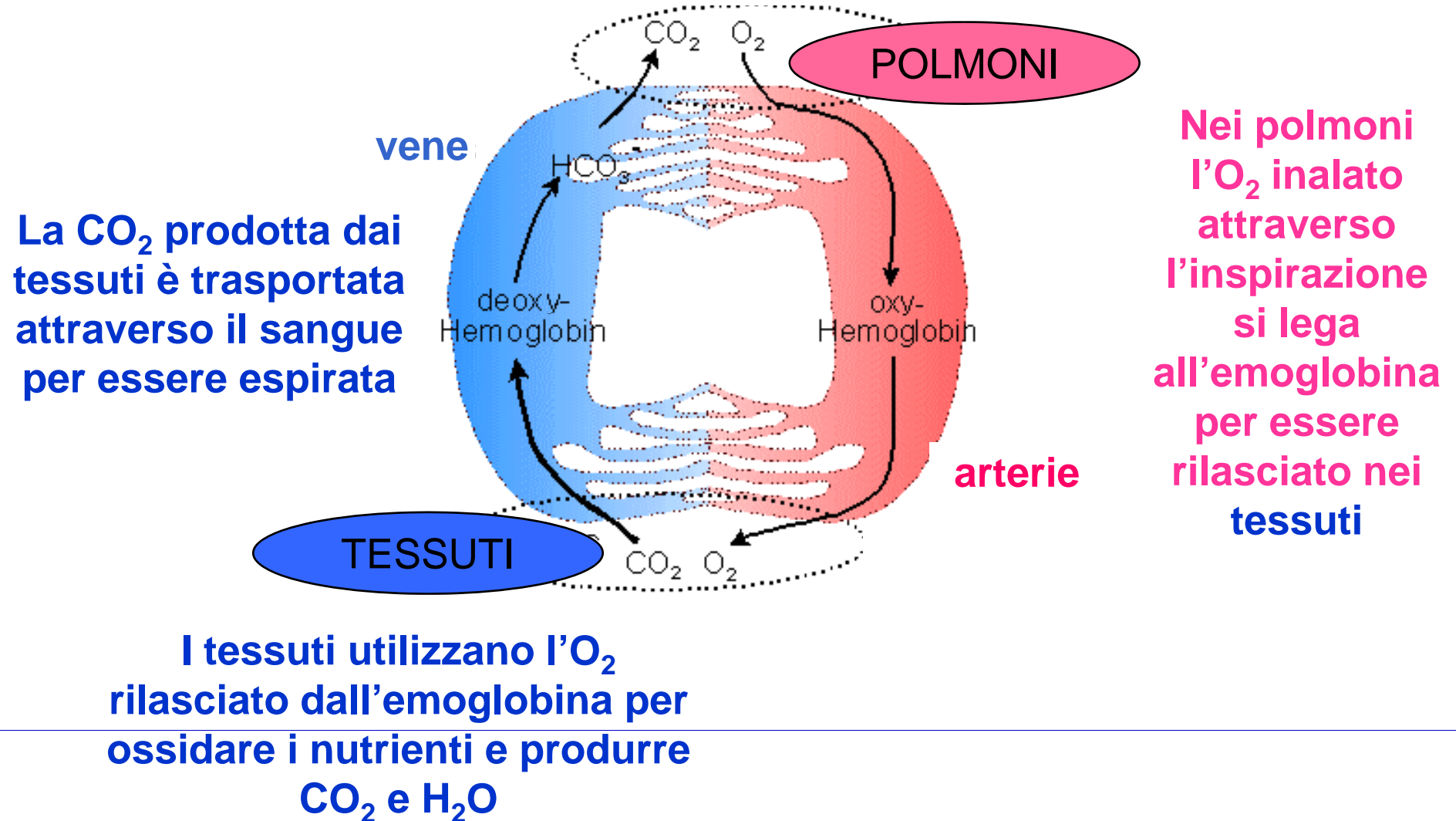
**Il BPG** contribuisce a diminuire l'affinità dell'emoglobina per l'O<sub>2</sub> favorendone quindi il rilascio



**Il BPG** stabilizza la forma deossigenata dell'emoglobina.

La concentrazione del BPG aumenta in caso di adattamento alle alte quote e in condizioni patologiche (malattie polmonari, anemie)

## Trasporto dell'ossigeno e dell'anidride carbonica



# TESSUTI

La  $\text{CO}_2$  prodotta dal catabolismo diffonde dai **tessuti** al plasma nella direzione imposta dal gradiente di  $\text{pCO}_2$

5%  $\text{CO}_2$  si trasforma spontaneamente in  $\text{H}_2\text{CO}_3$

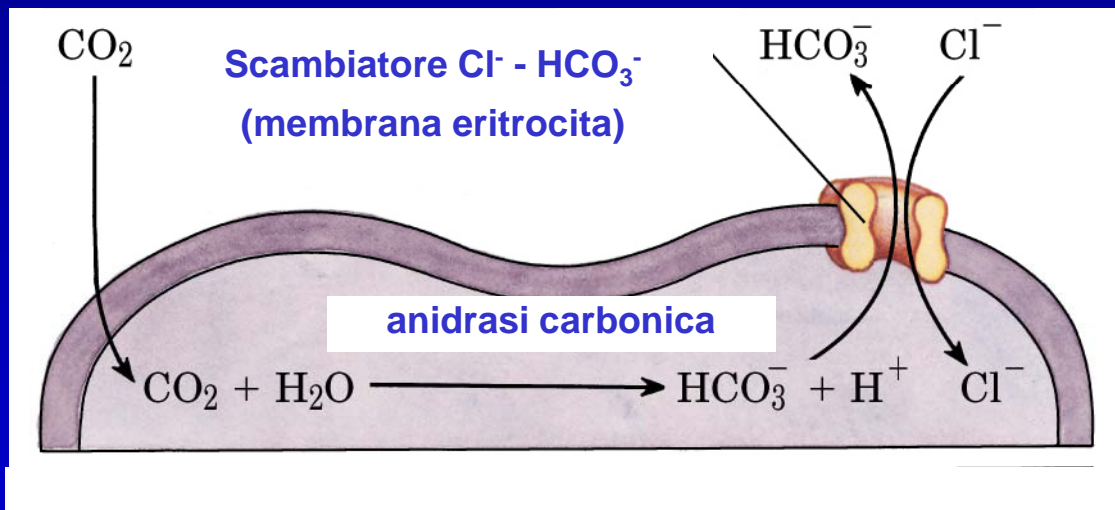
5%  $\text{CO}_2$  rimane disciolta nel plasma

90%  $\text{CO}_2$  entra nell'**ERITROCITA**

63%  $\text{CO}_2$  viene rapidamente idratata a  $\text{H}_2\text{CO}_3$  ad opera dell'anidrasi carbonica

5%  $\text{CO}_2$  rimane disciolta

21%  $\text{CO}_2$  si lega all'emoglobina

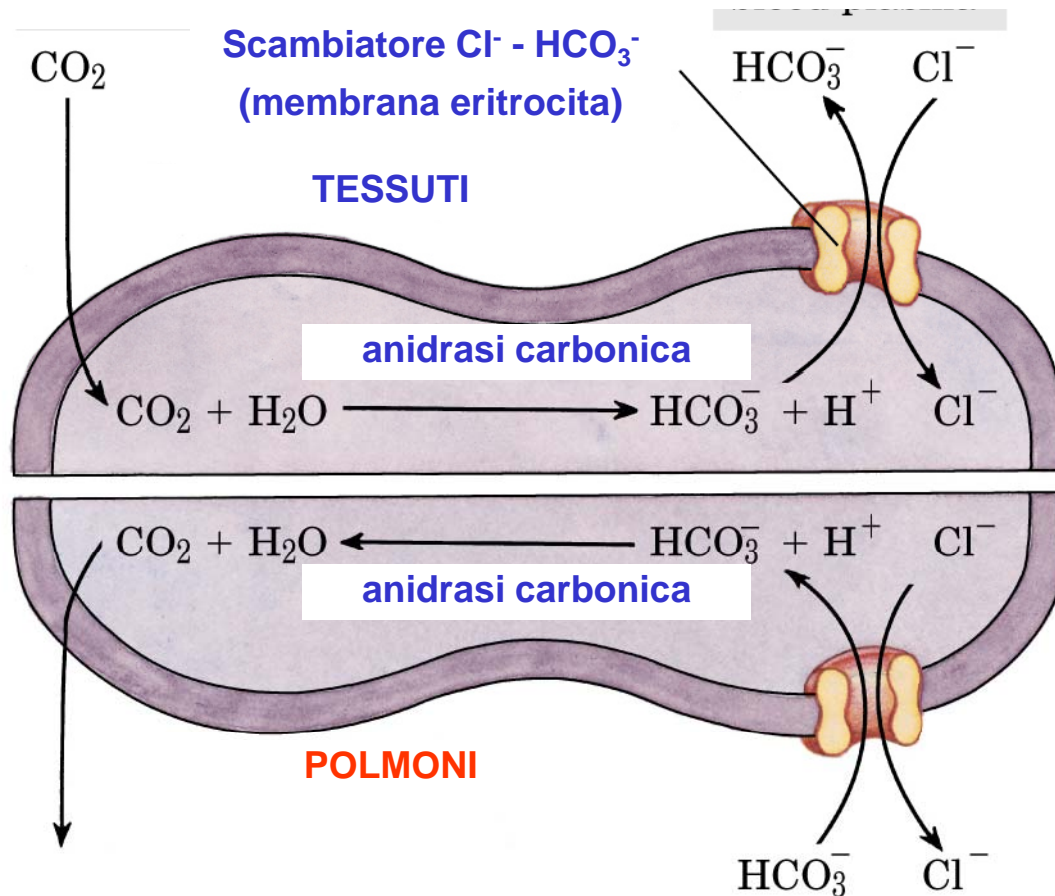


$\text{HCO}_3^-$  esce dall'eritrocita secondo gradiente di concentrazione attraverso lo **scambiatore  $\text{Cl}^- / \text{HCO}_3^-$** , una proteina presente nella membrana eritrocitaria che consente il contemporaneo ingresso di  $\text{Cl}^-$

# Scambiatore cloruro - bicarbonato della membrana dell'eritrocita.

La  $\text{CO}_2$  prodotta dal catabolismo entra negli eritrociti

$\text{HCO}_3^-$  si scioglie nel plasma sanguigno

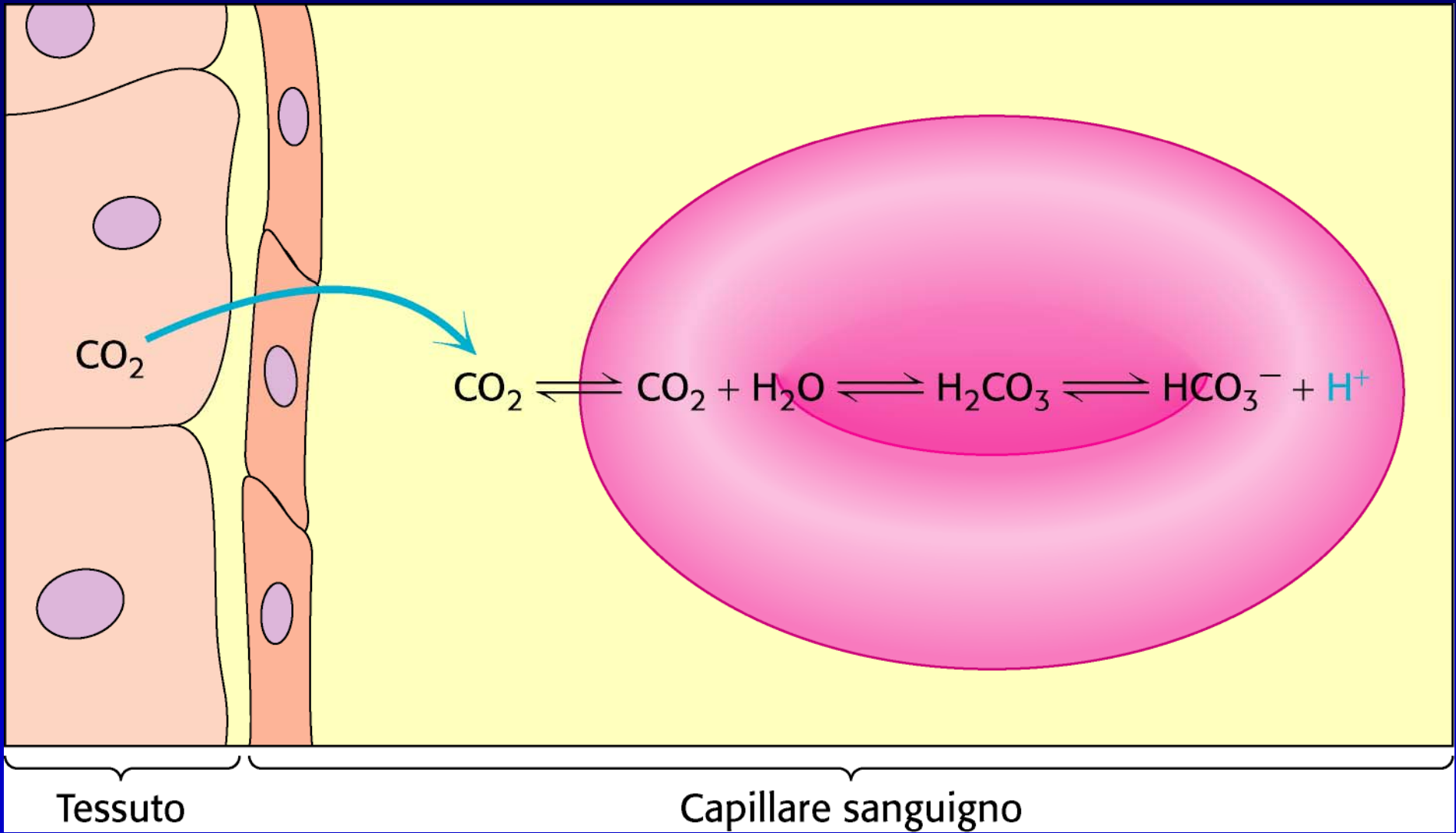


La  $\text{CO}_2$  esce dall'eritrocita e viene espirata

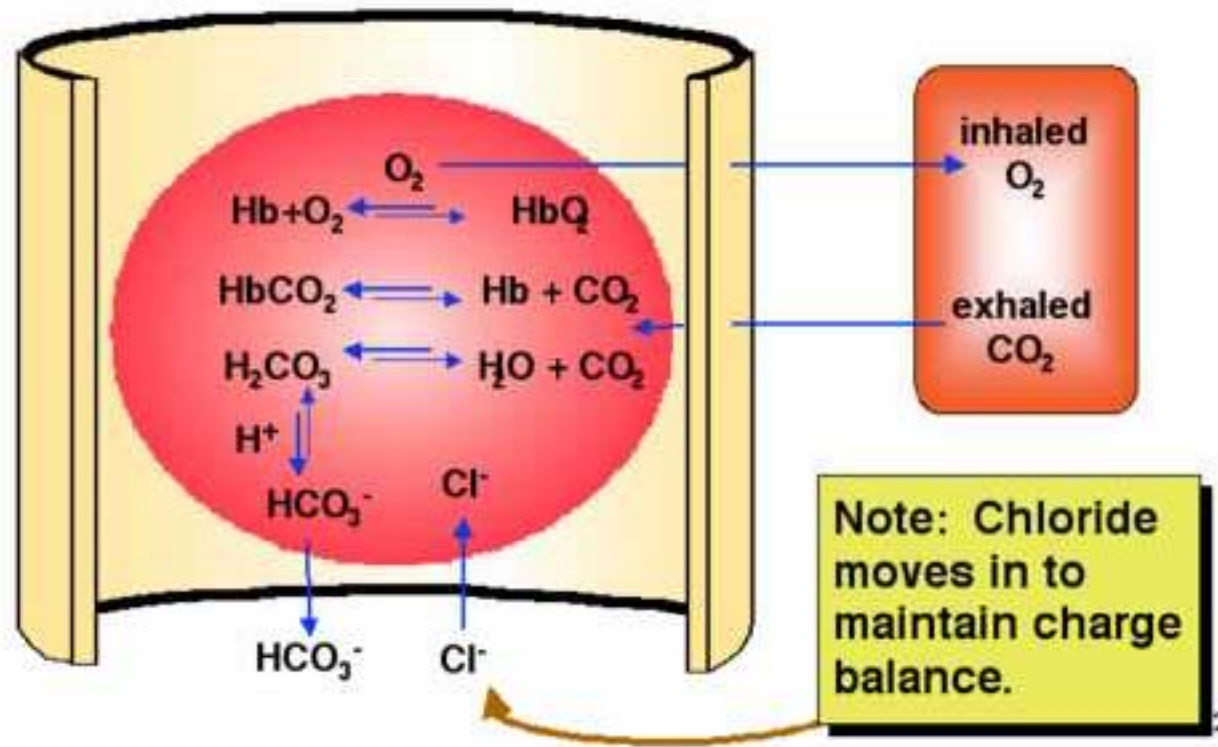
$\text{HCO}_3^-$  del plasma sanguigno entra nell'eritrocita

E' un sistema di **cotrasporto** che consente l'entrata e l'uscita di anioni senza che si verifichino variazioni del potenziale elettrico transmembrana





# TESSUTI

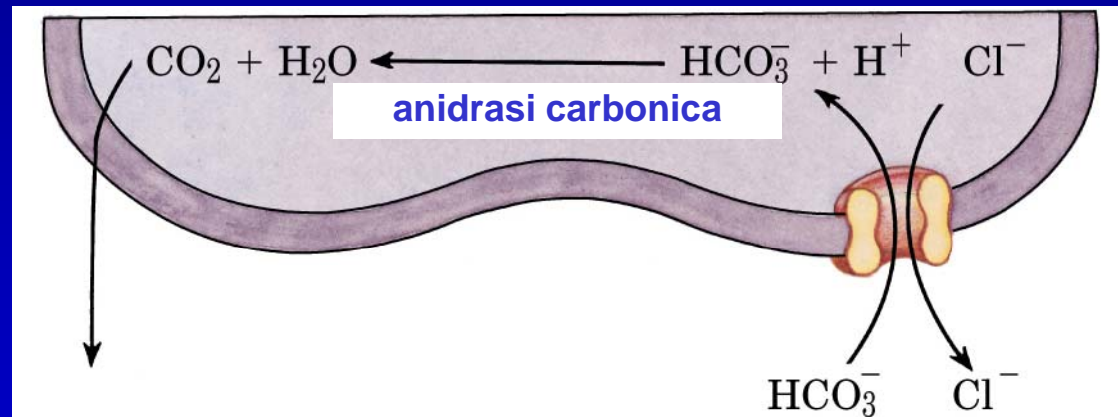


## POLMONI

La  $pO_2$  negli alveoli polmonari è maggiore di quella contenuta negli eritrociti provenienti dai tessuti

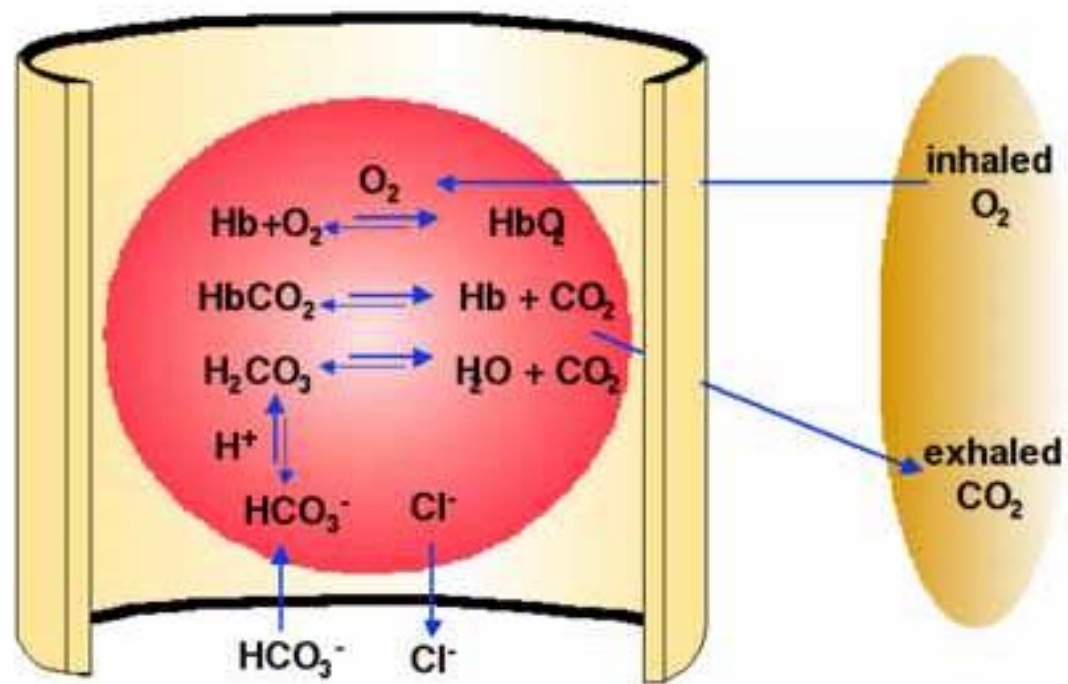
L'emoglobina ossigenata cede gli  $H^+$  che si combinano con  $HCO_3^-$  riformando  $H_2CO_3$  e quindi  $CO_2$  che viene espirata

Il rilascio di  $CO_2$  è favorito dal gradiente di  $pCO_2$



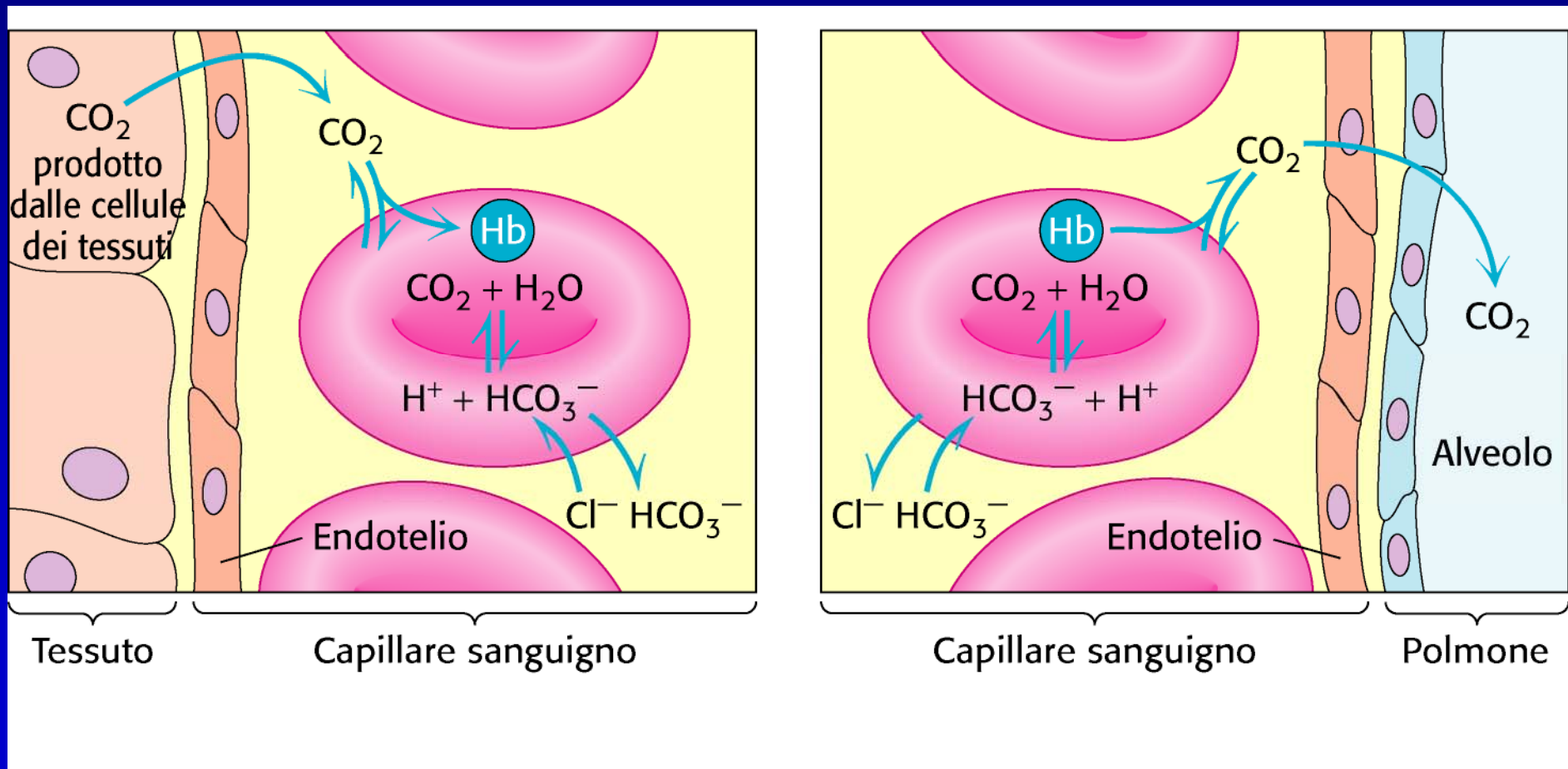
$HCO_3^-$  entra nell'eritrocita secondo gradiente di concentrazione attraverso lo **scambiatore  $Cl^- / HCO_3^-$**  che consente la contemporanea fuoriuscita di  $Cl^-$

# POLMONI

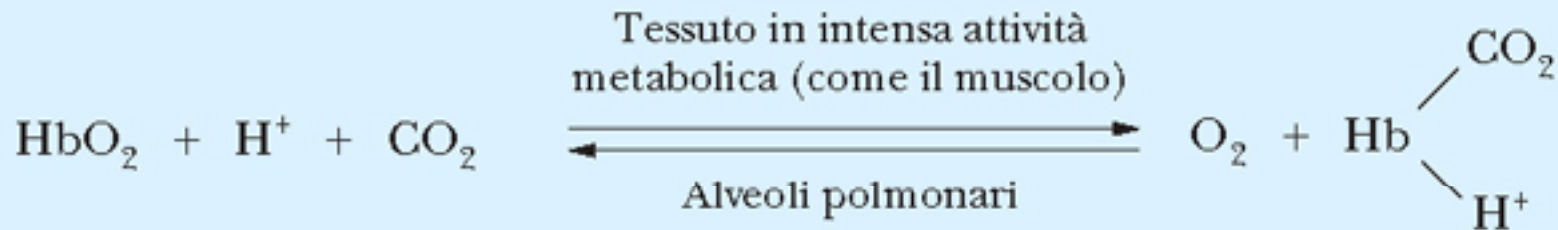
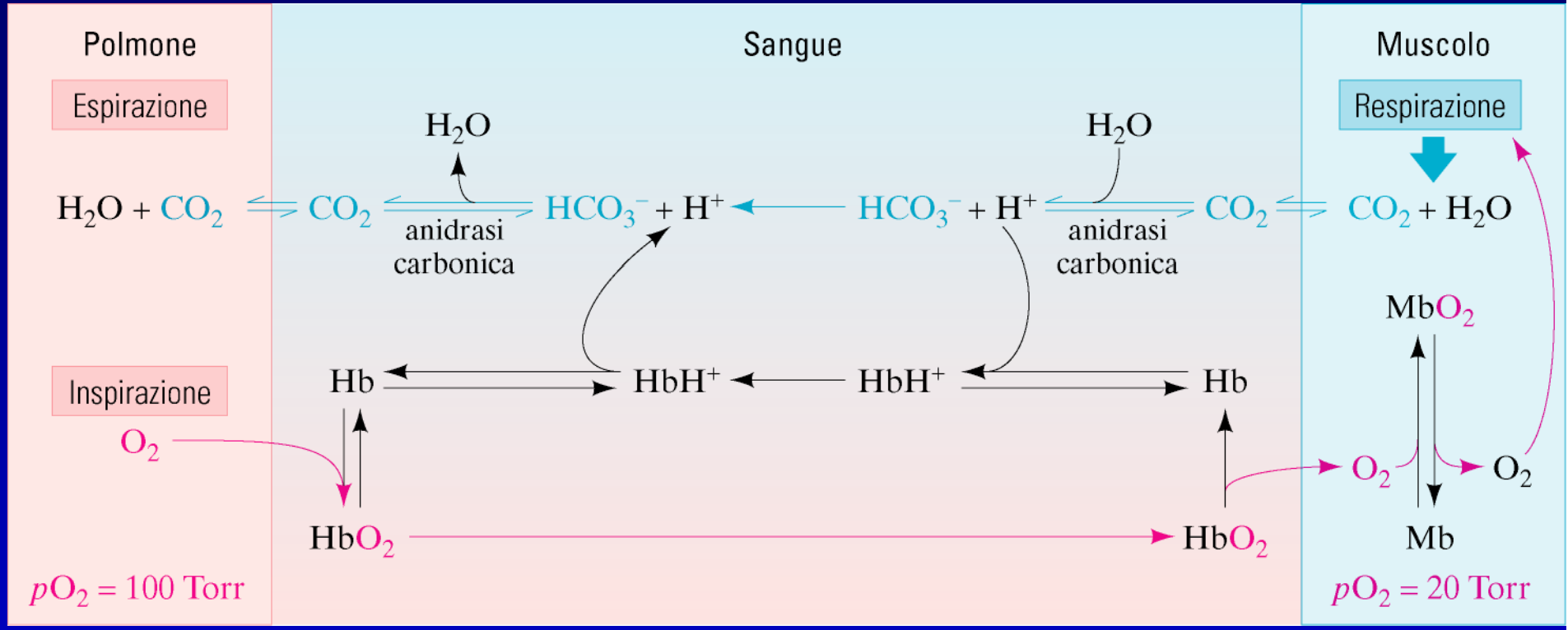


# RESPIRAZIONE CELLULARE : reazioni che comportano il consumo di $O_2$ e la formazione di $CO_2$

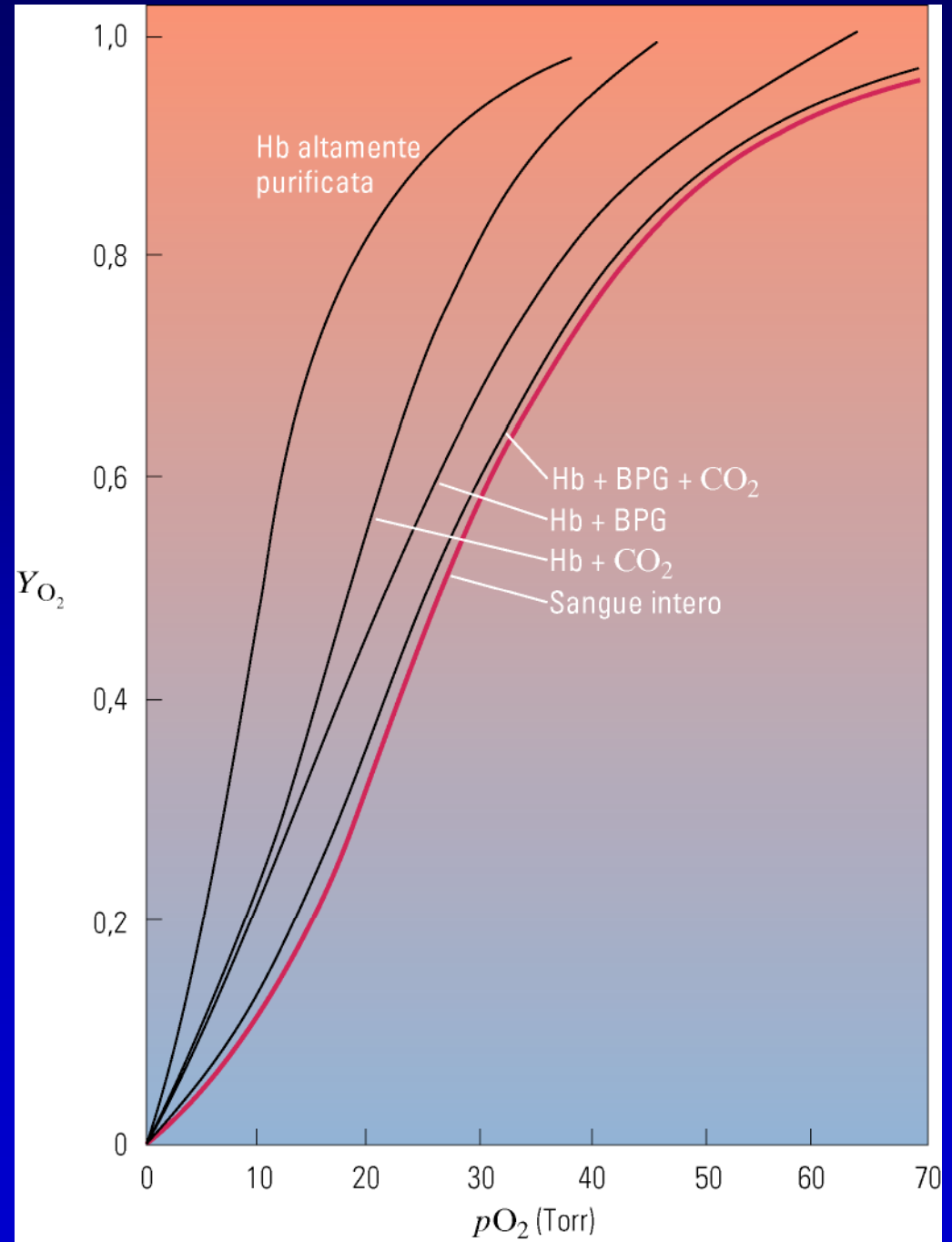
- Es.: trasferimento di elettroni dal glucosio all'ossigeno



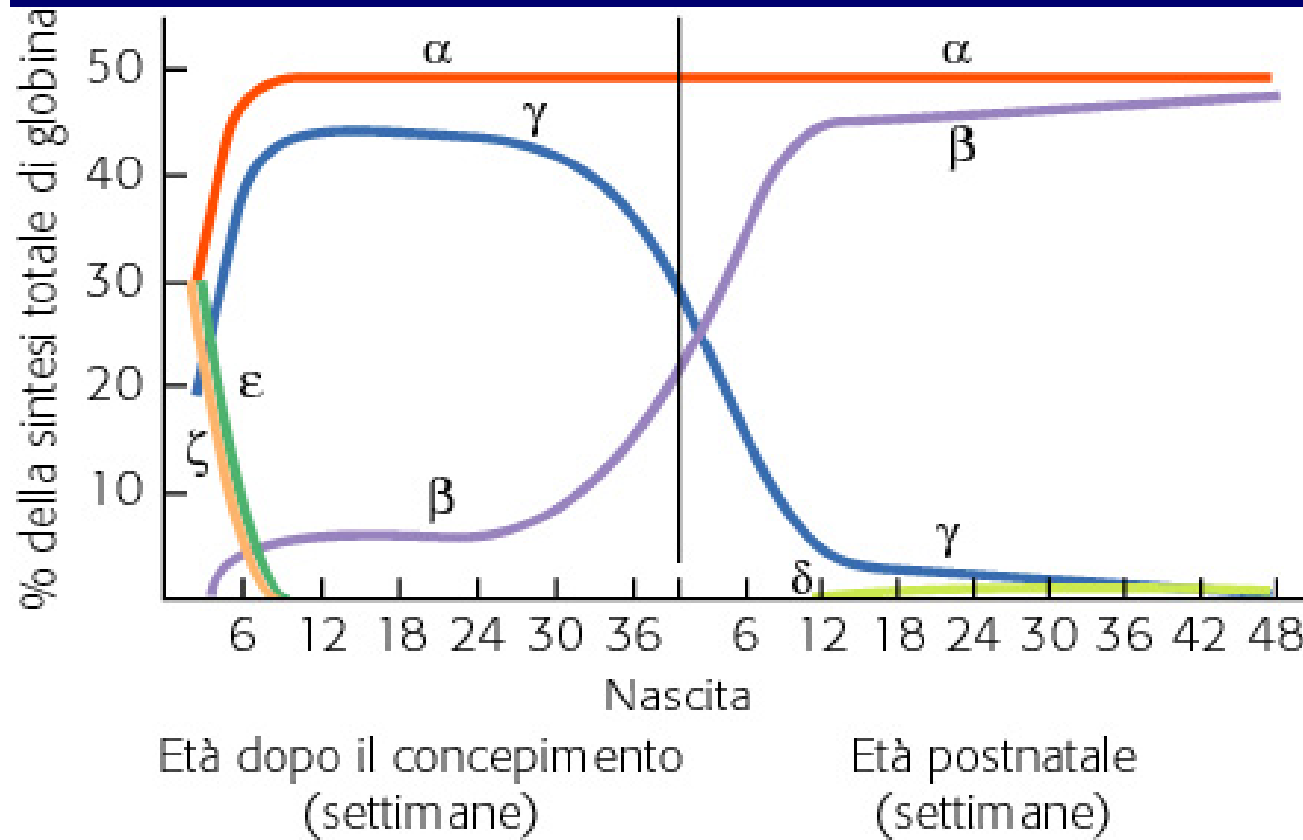
# TRASPORTO ISOIDRICO O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>



$Y_{O_2}$  = grado di saturazione  
o saturazione frazionale



## VARIANTI FISILOGICHE DELL'EMOGLOBINA



Hb-E ( $\alpha_2\epsilon_2$ ):  
emoglobina  
embrionale

Hb-F ( $\alpha_2\gamma_2$ ):  
emoglobina  
**fetale**

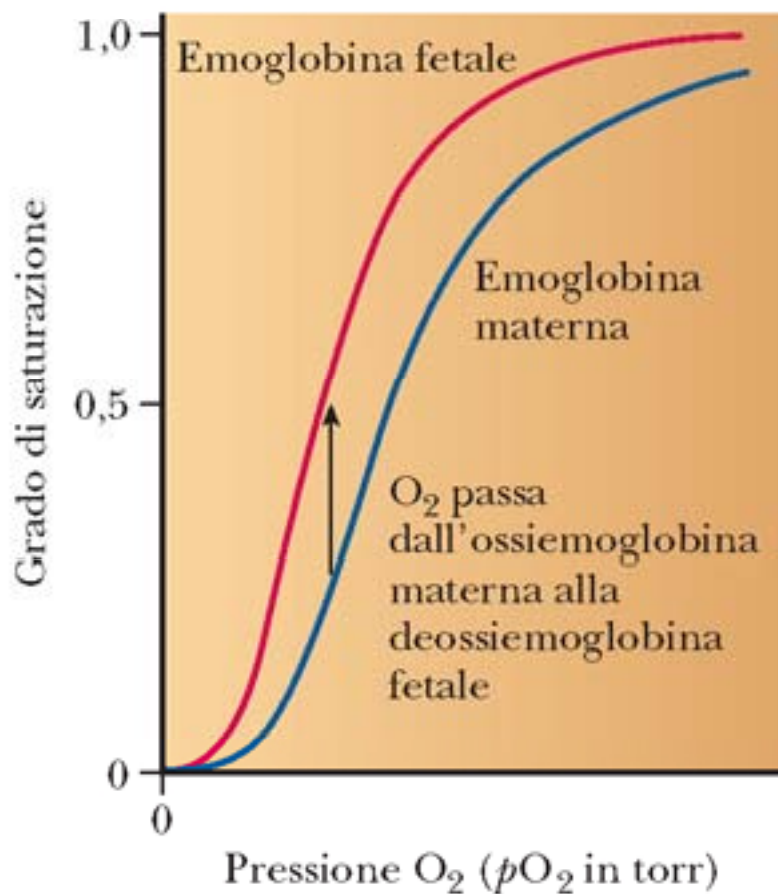
Hb-A ( $\alpha_2\beta_2$ ): 90%  
dell'emoglobina  
presente dopo il 7°  
mese di vita

Hb-A ( $\alpha_2\delta_2$ ): 2,5%  
dell'emoglobina  
presente dopo il 7°  
mese di vita

### CATENE EMOGLOBINICHE DURANTE LO SVILUPPO

Tutte le varianti contengono le 2 subunità  $\alpha$  ma si distinguono per le altre che si differenzano tra loro per la natura di alcuni residui amminoacidici

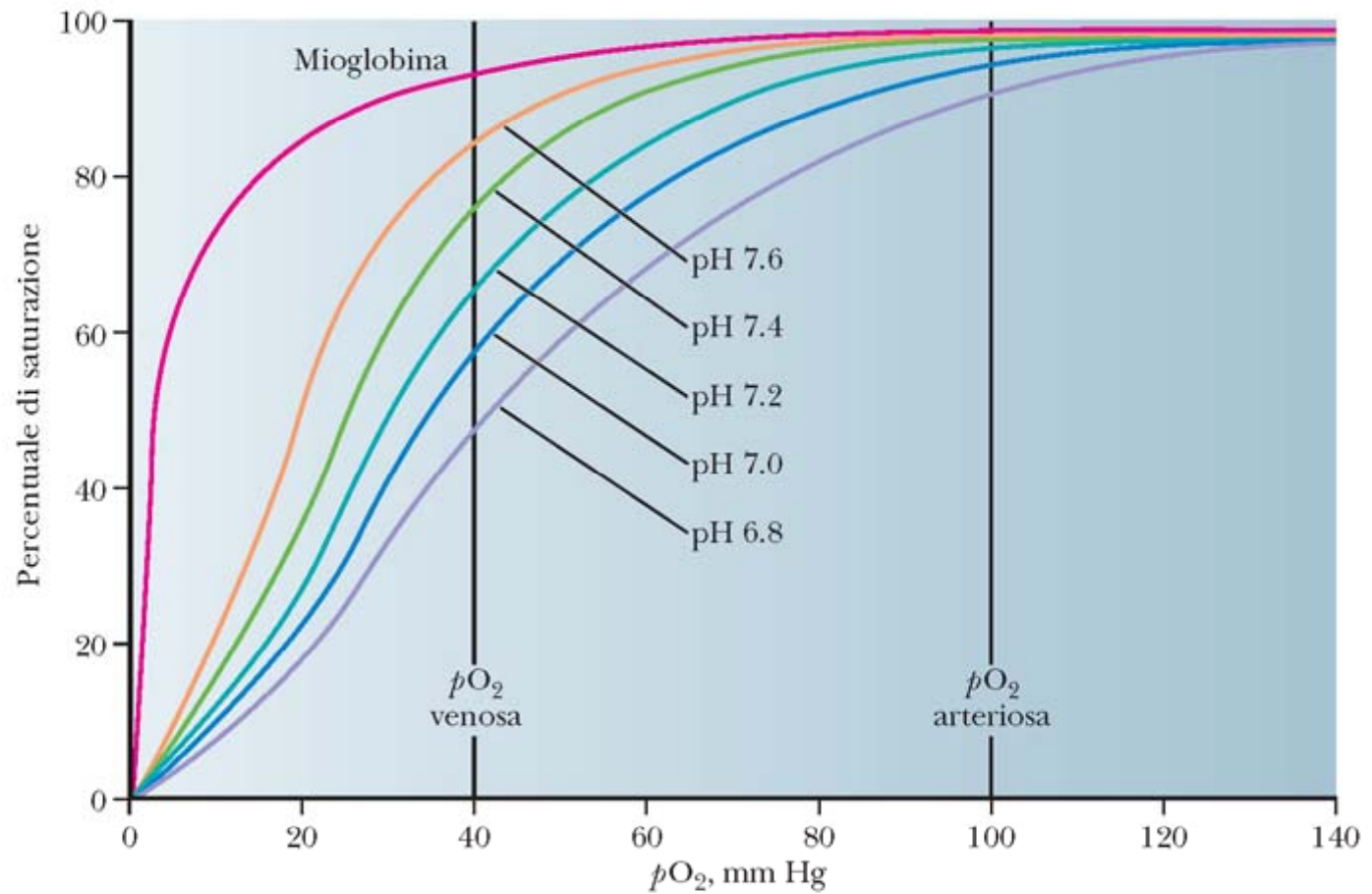




La  $pO_2$  del sangue periferico fetale (10-12 mm Hg) è più bassa di quella del sangue placentare (25- 40 mm Hg).

La maggiore affinità dell'emoglobina fetale per l'ossigeno ne favorisce il rilascio da parte del sangue materno

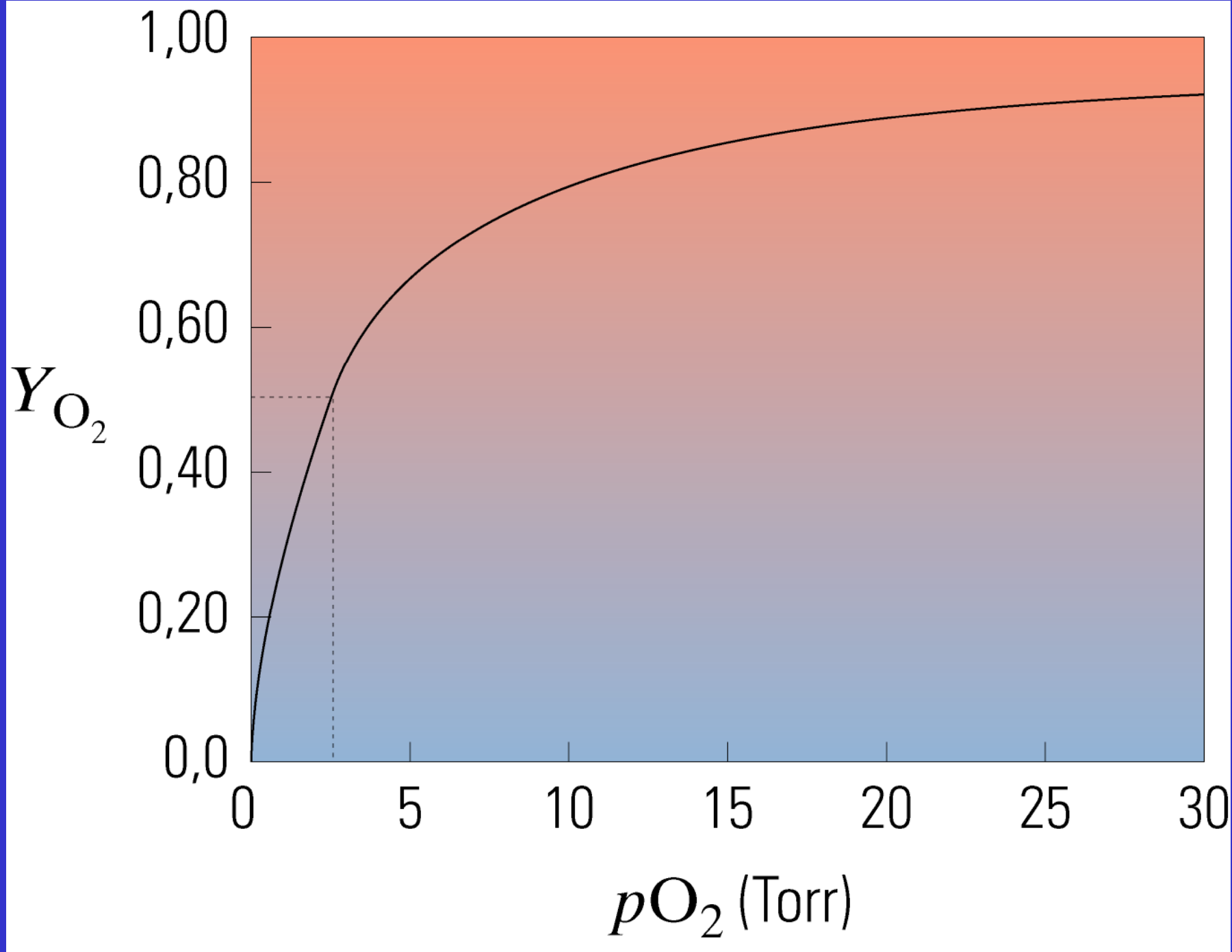
L'emoglobina **fetale** ( $\alpha_2\gamma_2$ ) non lega il 2,3 bisfosfoglicerato e quindi ha una maggiore affinità per l'ossigeno rispetto all'emoglobina materna

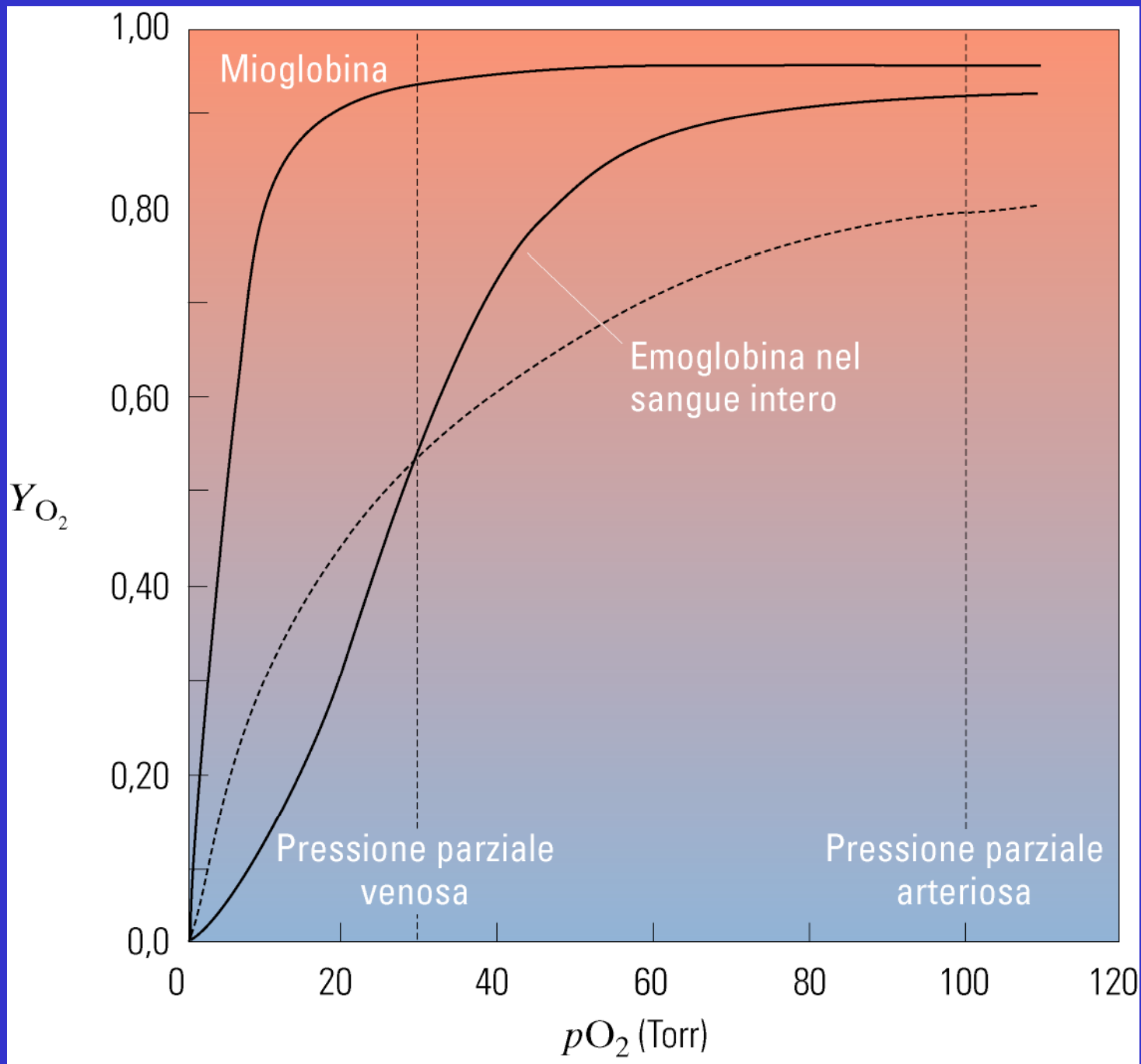


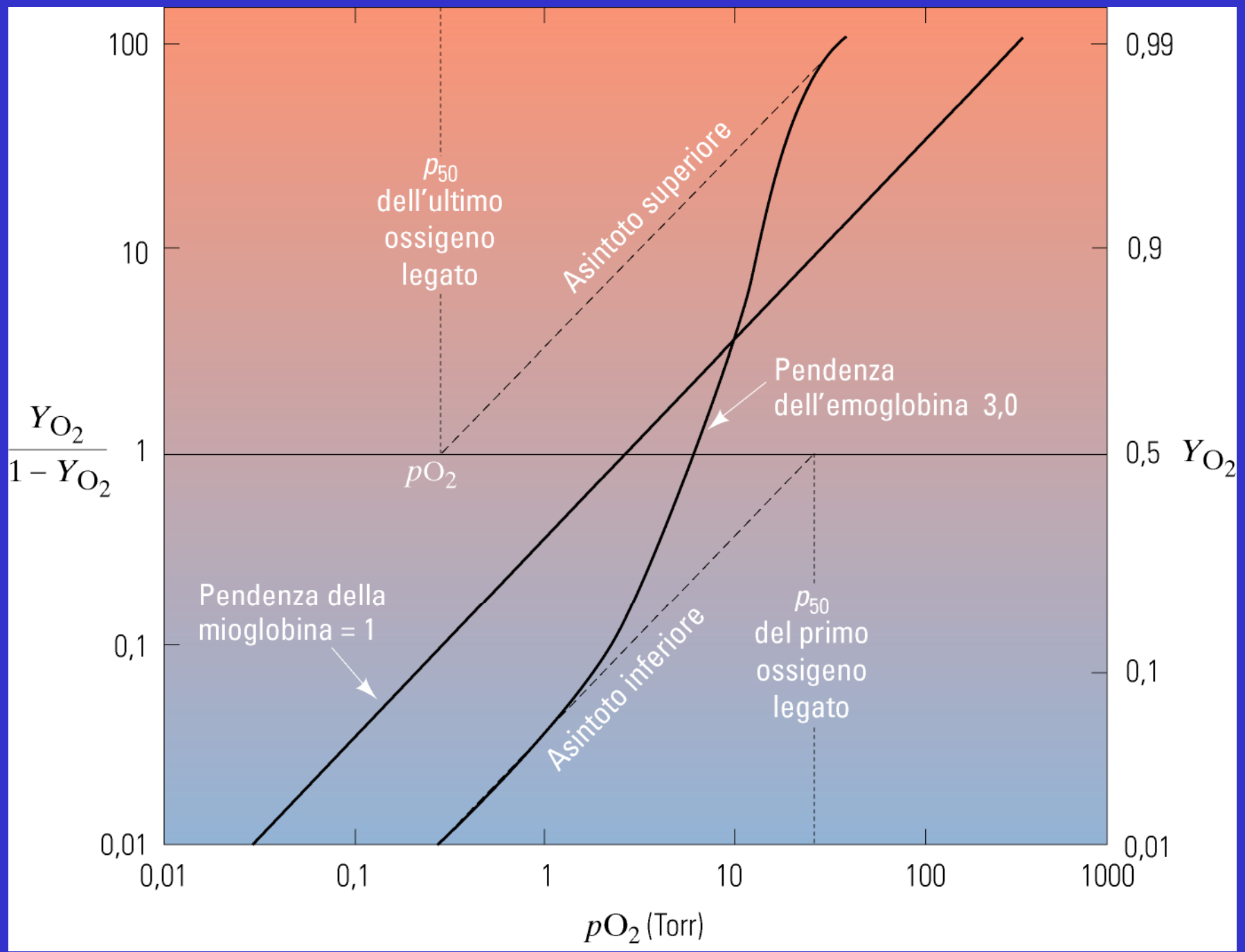
La curva di saturazione per la mioglobina e per l'emoglobina per differenti valori di pH.

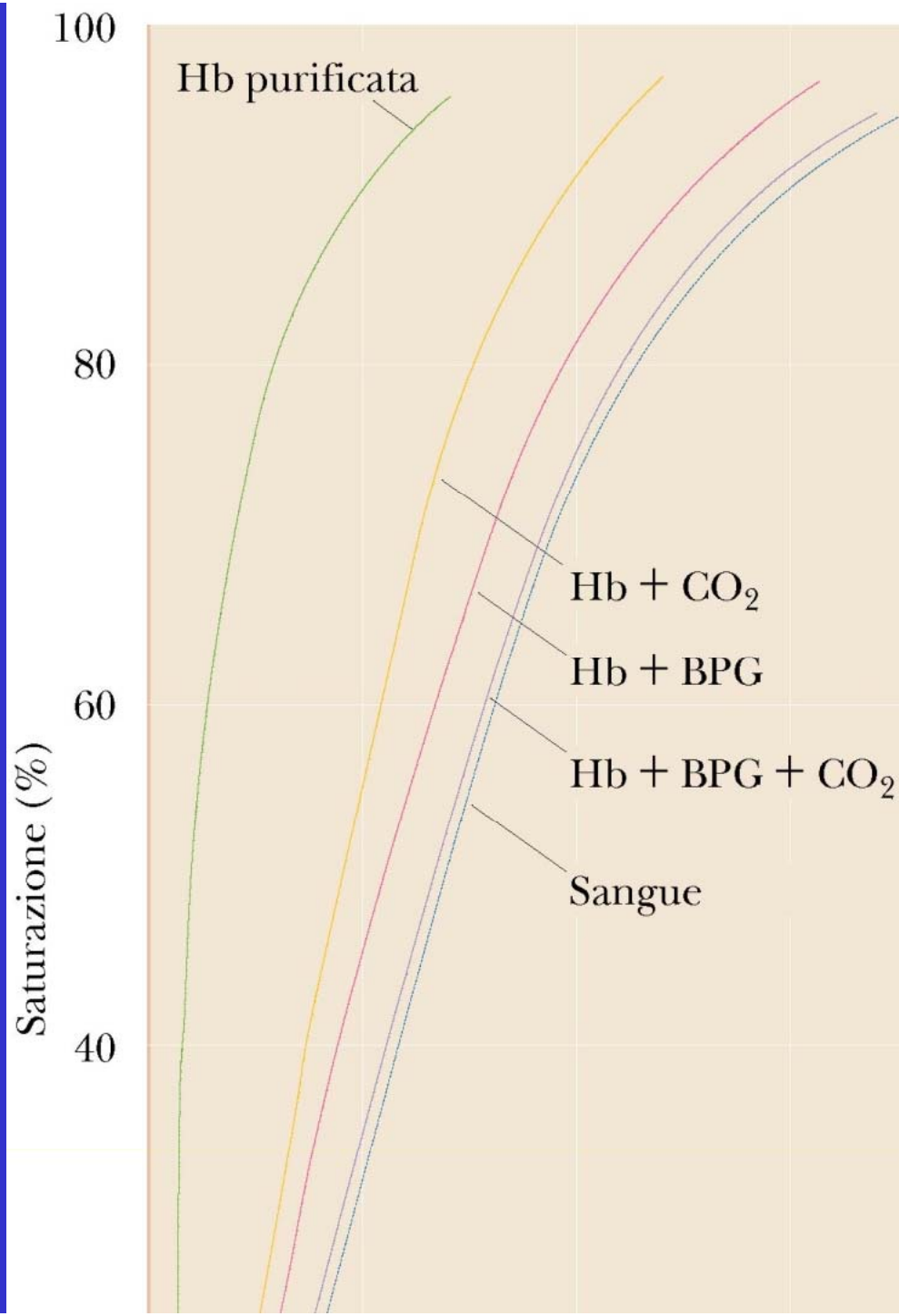
**bell, Farrell**  
*imica, II Ed.*  
**S**

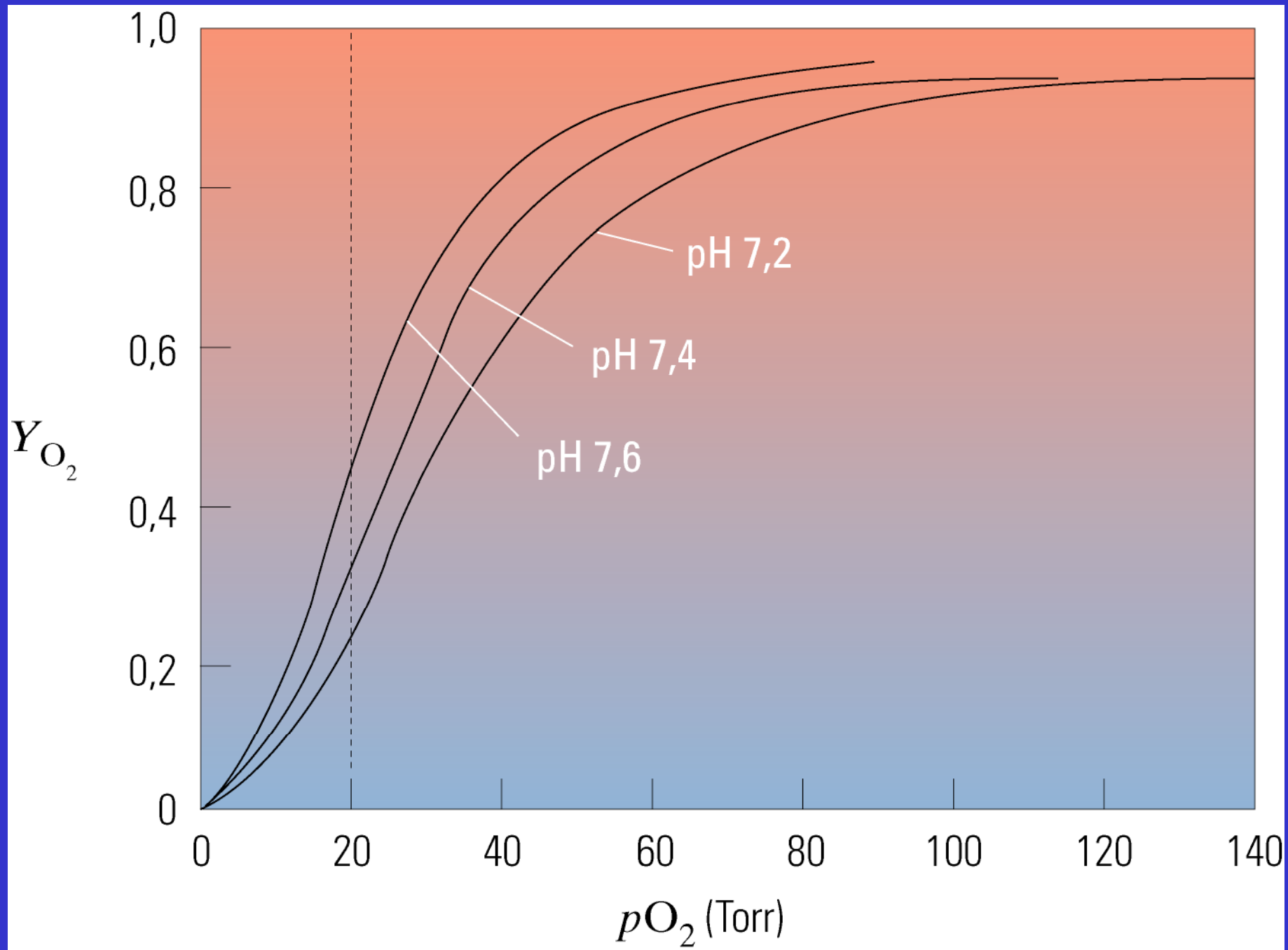










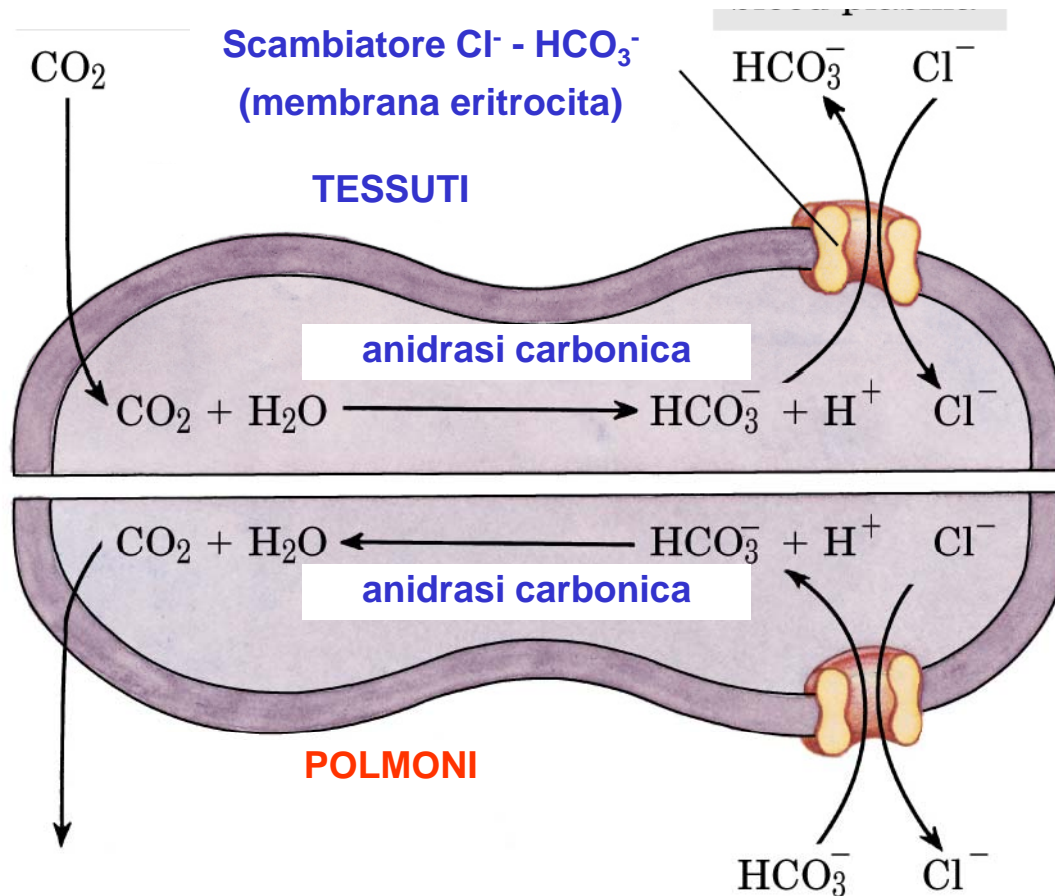




# Scambiatore cloruro - bicarbonato della membrana dell'eritrocita.

La  $\text{CO}_2$  prodotta dal catabolismo entra negli eritrociti

$\text{HCO}_3^-$  si scioglie nel plasma sanguigno



La  $\text{CO}_2$  esce dall'eritrocita e viene espirata

$\text{HCO}_3^-$  del plasma sanguigno entra nell'eritrocita

E' un sistema di **cotrasporto** che consente l'entrata e l'uscita di anioni senza che si verifichino variazioni del potenziale elettrico transmembrana

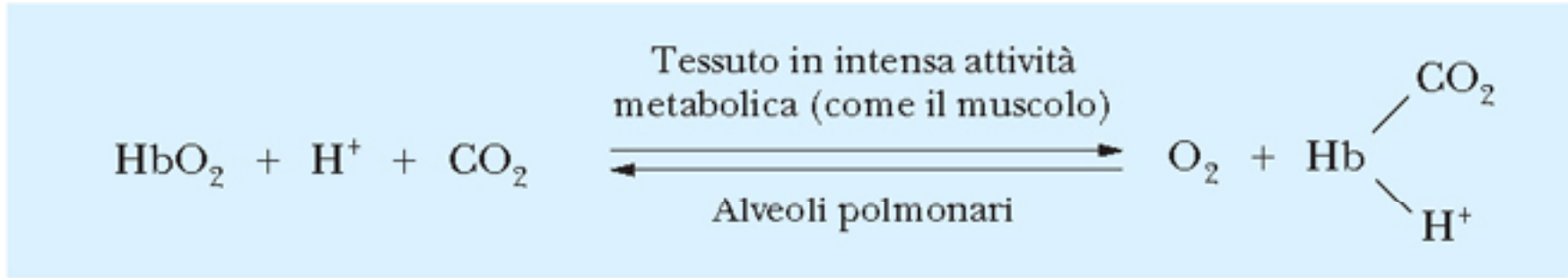
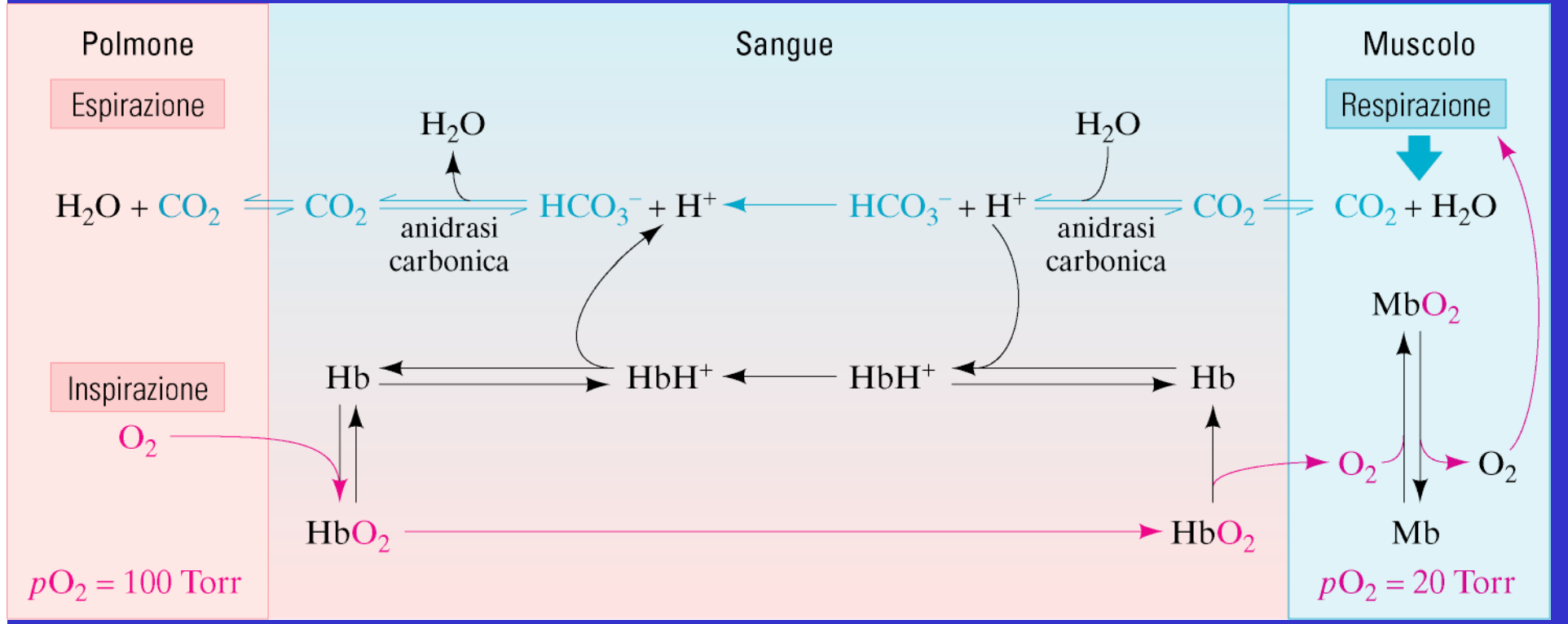
Il legame dell'O<sub>2</sub> provoca uno spostamento dell'His verso l'eme inducendo un cambiamento della conformazione terziaria e quaternaria. In conseguenza di ciò, alcuni residui amminoacidici si trovano in un ambiente elettrochimico diverso che comporta una diminuzione del loro pK.

Pertanto l'ossiemoglobina ha un grado di acidità maggiore rispetto alla deossiemoglobina

Quindi, in corrispondenza dei tessuti la deossiemoglobina sottrae protoni al mezzo mentre in corrispondenza dei polmoni la ossiemoglobina rilascia protoni nel mezzo



# TRASPORTO ISOIDRICO O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>



**VARIANTI  
PATOLOGICHE  
DELL'EMOGLOBINA**

**ANEMIA FALCIFORME**



## ANEMIA FALCIFORME

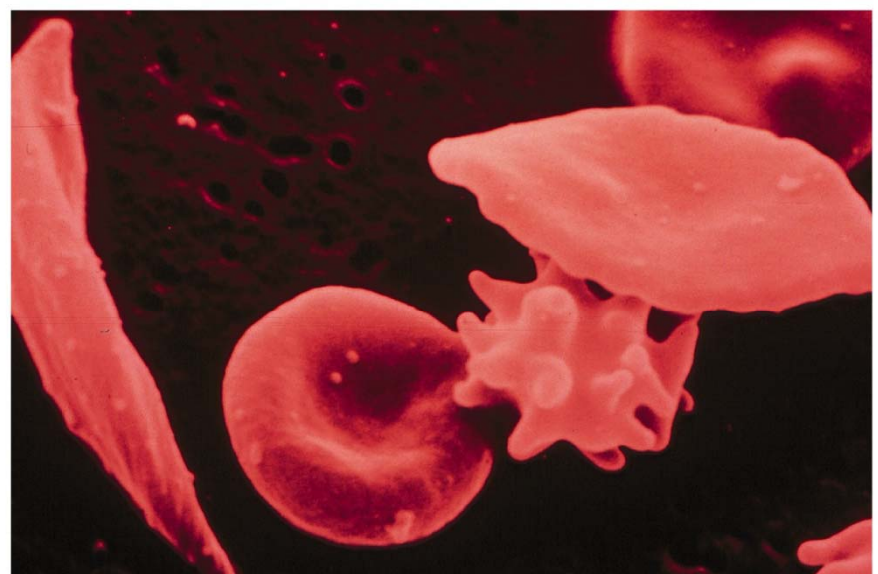
Particolare forma di anemia descritta per la prima volta all'inizio del secolo. I globuli rossi di individui affetti da questa malattia tendono ad assumere la forma di falce in vitro se viene ridotta la  $pO_2$

Gli individui affetti da **anemia a cellule falciformi** sono omozigoti per un gene anormale autosomico. Gli individui con un gene normale ed un gene anormale (**eterozigoti**) sono portatori del tratto a cellule falciformi ma non mostrano la sintomatologia. Solo l'1% dei globuli rossi è a forma di falce.



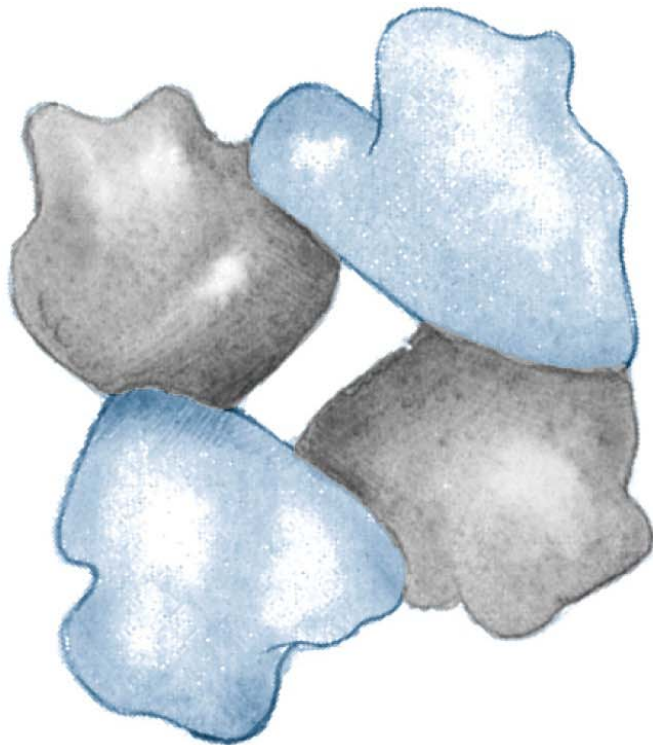
(a)

2 μm

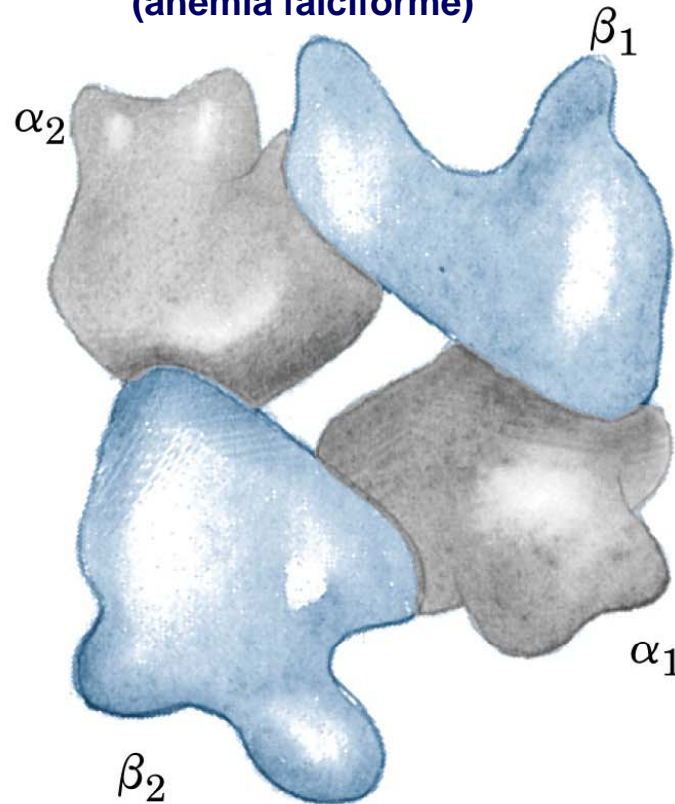


(b)

Emoglobina A  
(normale)

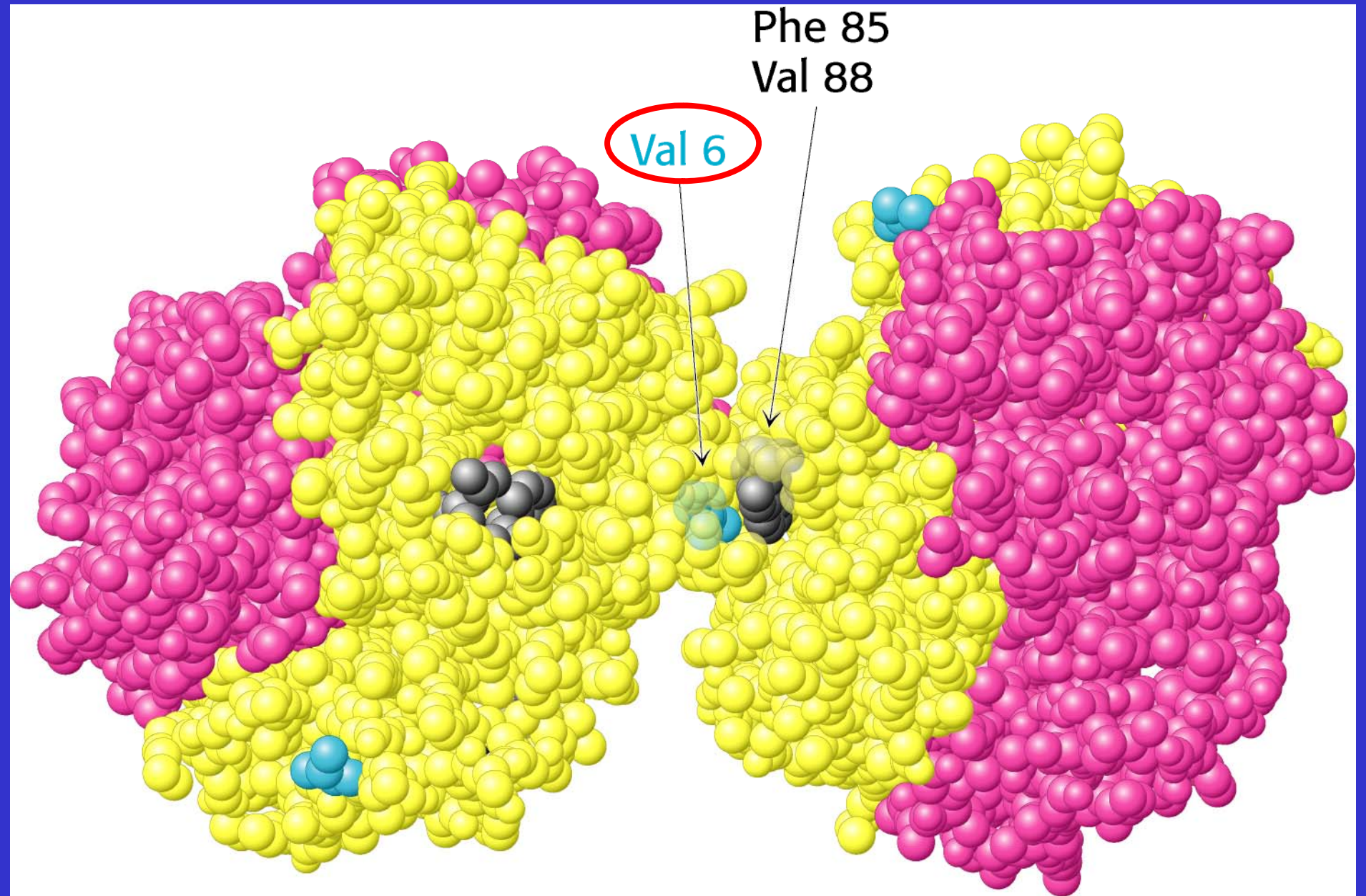


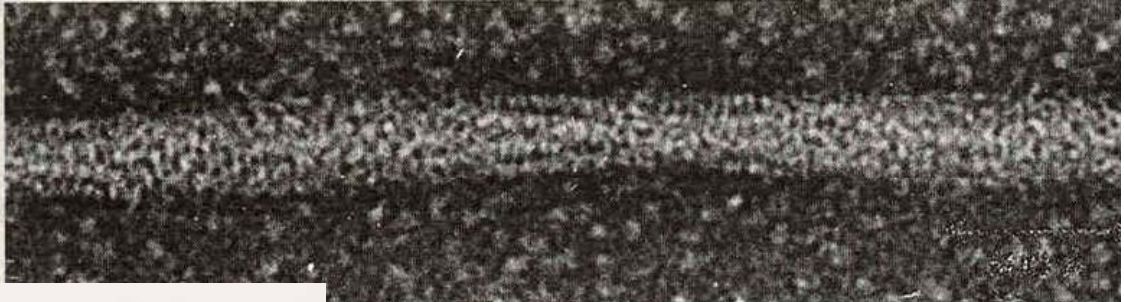
Emoglobina S  
(anemia falciforme)



## ANEMIA FALCIFORME: EMOGLOBINA S

- La variante di emoglobina responsabile dell'anemia falciforme (**Hb-S**) contiene **una singola sostituzione amminoacidica**: un residuo di **valina** (idrofobico) al posto di un residuo di **acido glutammico** (polare carico).
- La solubilità della forma deossigenata dell'Hb-S è molto ridotta rispetto a quella normale e tende a formare un precipitato fibroso che deforma i globuli rossi conferendo loro la caratteristica forma a falce.





# Fasi di aggregazione dell'HbS

