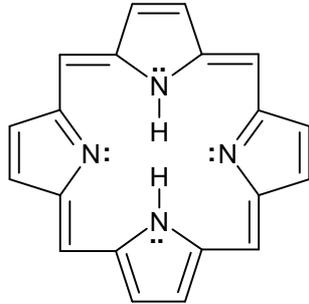


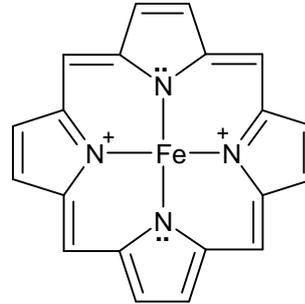
EMOGLOBINA

L'emoglobina è una proteina specializzata nel trasporto di ossigeno, si trova all'interno dei globuli rossi del sangue ai quali conferisce il caratteristico colore rosso intenso. E' una proteina globulare composta da quattro catene proteiche: **due catene alfa** e **due catene beta**

Ogni catena contiene un **gruppo prostetico** chiamato **eme** formato da un **anello porfirinico** che lega al centro un **atomo di ferro** sotto forma di **ione Fe^{2+}** .

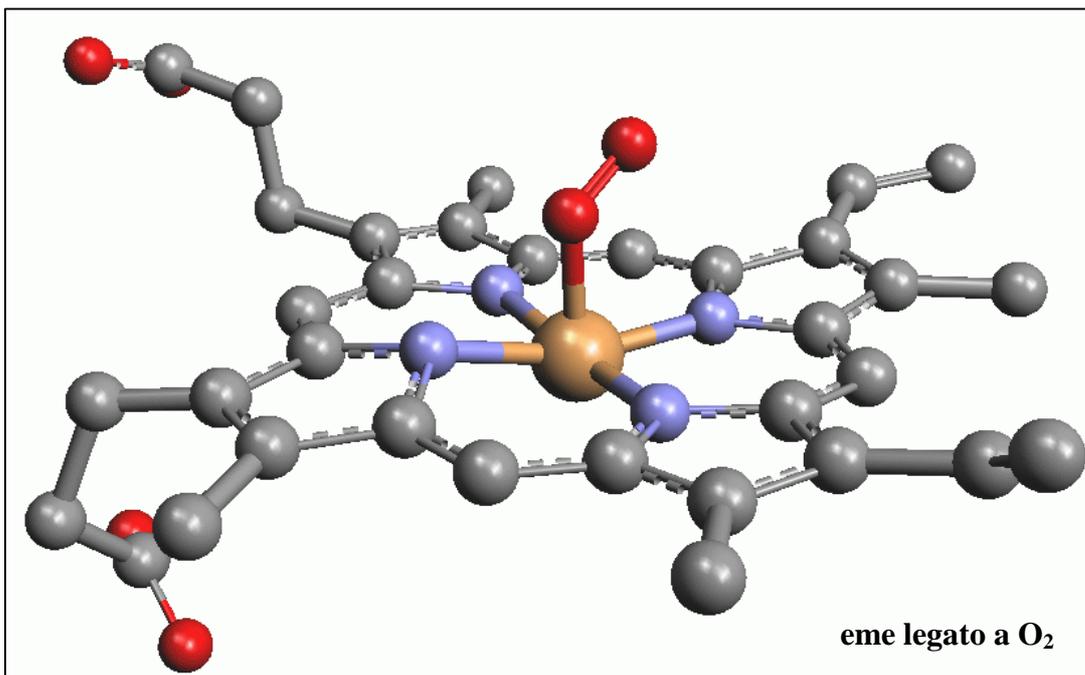


anello porfirinico

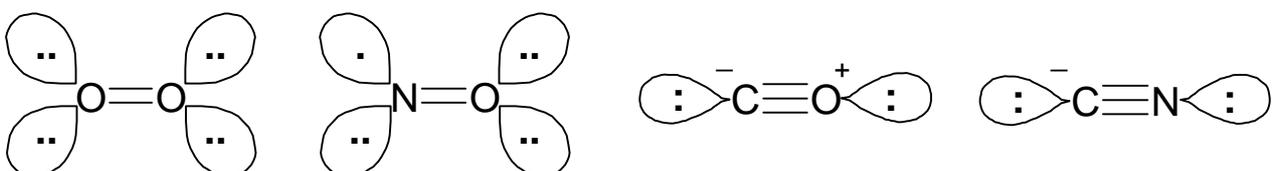


gruppo eme

E' proprio l'atomo di ferro al centro dell'anello porfirinico che lega la molecola di ossigeno in modo reversibile e la trasporta a tutte le cellule del nostro corpo attraverso il sangue.

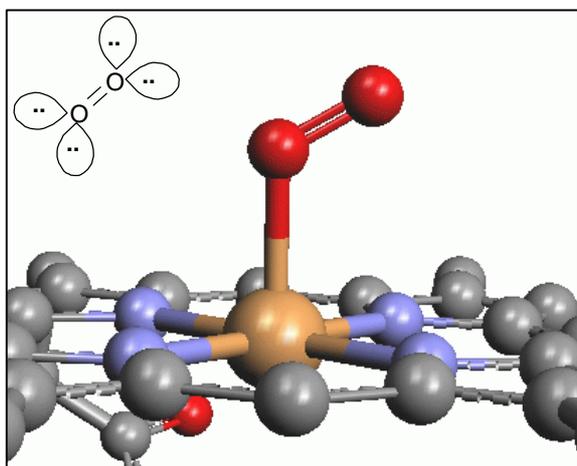


Oltre al suo compito fondamentale di **trasportare l'ossigeno O_2 attraverso il sangue**, l'emoglobina può **legare e trasportare** anche altre molecole come **l'ossido nitrico NO**, il **monossido di carbonio CO** e il **cianuro CN^-** .

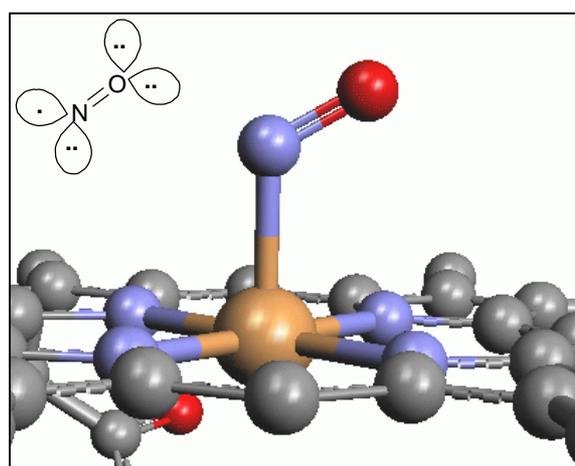


L'ossido nitrico NO (molecola radicalica) è attivo sulle pareti dei vasi sanguigni e ne causa il rilassamento. Questo fatto ha come conseguenza una riduzione della pressione del sangue; in pratica l'emoglobina contribuisce alla regolazione della pressione sanguigna distribuendo ossido nitrico nei vasi.

La struttura degli orbitali di NO è simile a quella di O₂, vedi figura precedente, entrambe le molecole sono ibridate sp² e hanno coppie di non legame poste su orbitali che formano angoli di 120° rispetto alla molecola. Questo consente sia a O₂ sia a NO di legarsi con l'atomo di ferro formando un angolo di legame di 120° che ben si adatta alla forma del sito di legame attorno all'eme che pone un amminoacido di istidina ad occupare la posizione sopra l'atomo di ferro. Le due molecole O₂ e NO si possono legare con il ferro senza problemi di ingombro sterico.



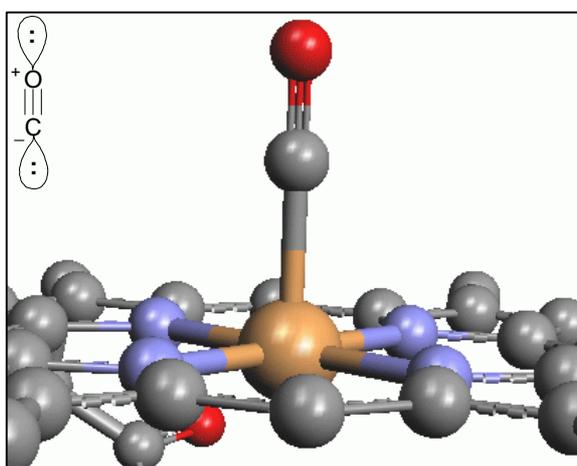
eme legato a O₂



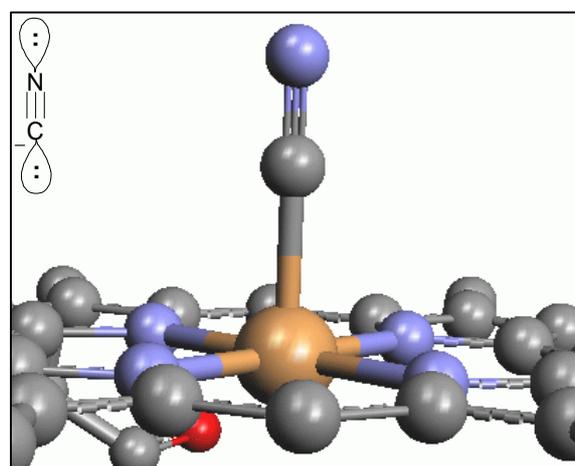
eme legato a NO

Il monossido di carbonio CO e il cianuro CN⁻ sono invece molecole molto tossiche perchè si legano al ferro dell'eme in modo quasi irreversibile impedendo così il normale legame di O₂ con il ferro e quindi il suo trasporto ai tessuti. CO e CN⁻ provocano quindi la morte per soffocamento. Il sangue di una persona avvelenata con monossido di carbonio ha un caratteristico colore rosso chiaro che permette di diagnosticare facilmente la causa della morte. Incidenti di avvelenamento con monossido di carbonio possono essere provocati da stufe malfunzionanti o con il camino ostruito. L'aria dell'appartamento si può saturare di monossido di carbonio e questo non lascia scampo agli inquilini immersi nel sonno.

Monossido di carbonio CO e cianuro CN⁻ sono molecole con ibridazione sp che formano un angolo di legame di 180°. Se si potessero legare liberamente con il ferro dell'eme si disporrebbero, come si vede nelle figure qui sotto, in modo perfettamente perpendicolare all'anello. In queste condizioni il loro legame con il ferro sarebbe circa 2000 volte più intenso di quello di O₂.



eme legato liberamente a CO

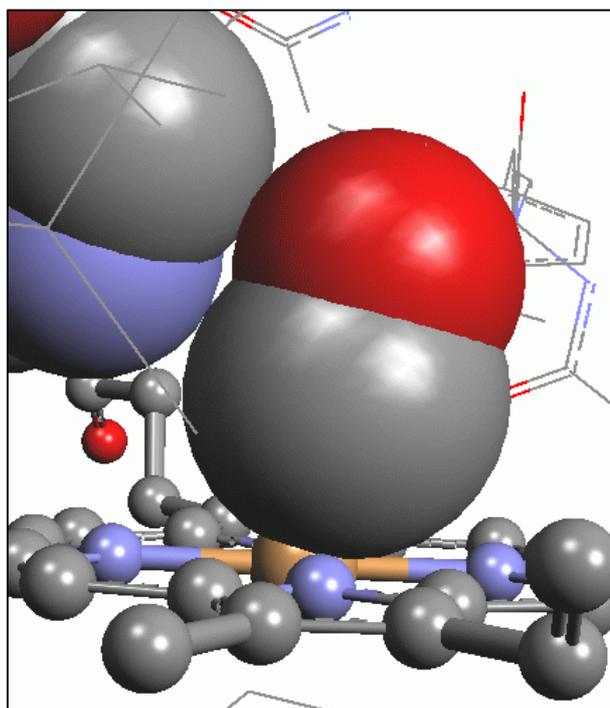
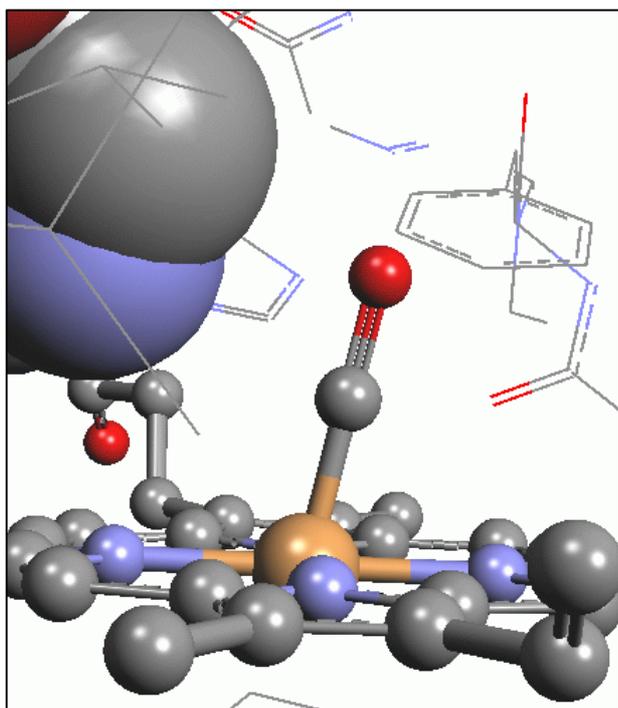


eme legato liberamente a CN⁻

Nell'emoglobina, però, vi è un **amminoacido di istidina sopra il ferro** che impedisce a CO e CN^- di restare perfettamente perpendicolari, e **costringe il loro legame a piegarsi** rendendolo 10 volte più debole come si vede in queste immagini di una molecola di **emoglobina avvelenata con monossido di carbonio** e vista con la diffrazione ai raggi X (file PDB 2hco).

A sinistra l'anello imidazolico dell'**istidina** è rappresentato con **grosse sfere** grige (C) e blu (N) che rappresentano l'ingombro effettivo degli atomi, mentre CO è rappresentato con sfere più piccole, il carbonio grigio e l'ossigeno rosso, per meglio apprezzarne l'inclinazione verso destra.

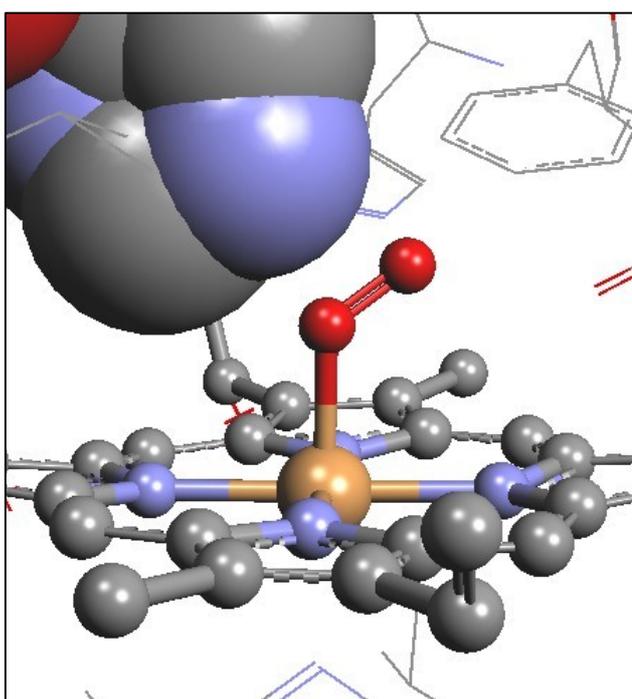
A destra anche il monossido di carbonio CO è rappresentato con grosse sfere e così è possibile apprezzare meglio l'**ingombro sterico** che costringe il monossido di carbonio **CO a legarsi obliquamente**, e **spinge l'istidina più in fianco** rispetto alla sua posizione normale.



eme legato a CO nell'emoglobina

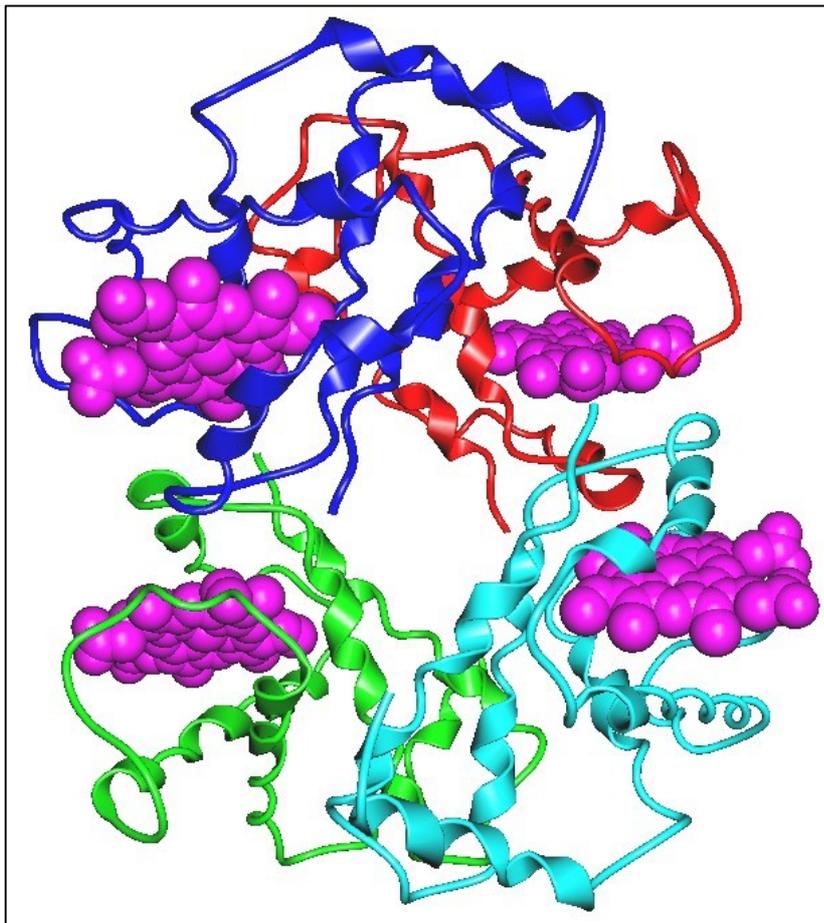
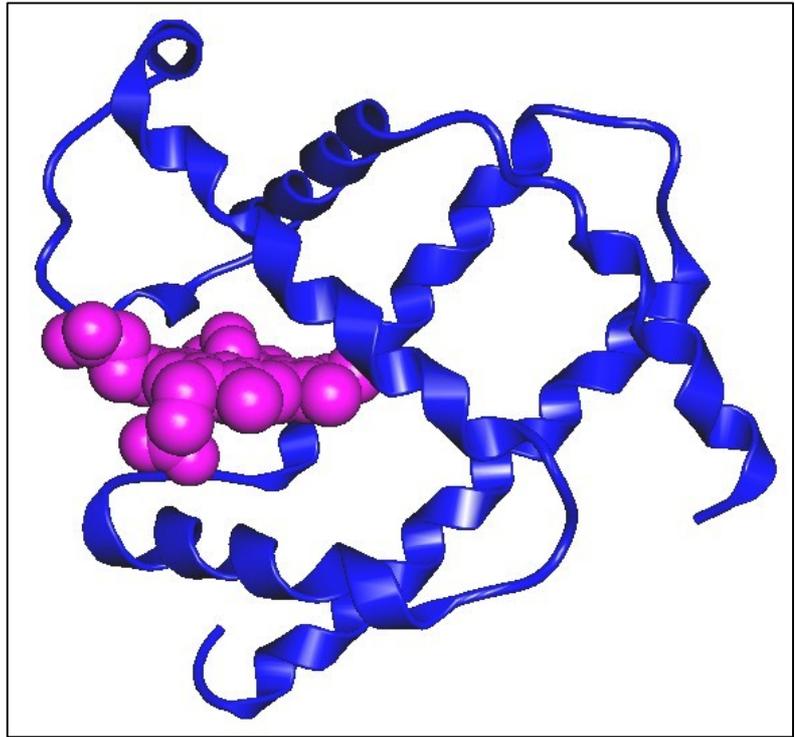
Il legame obliquo Fe-CO è in tensione e risulta **più debole**, questo rende il monossido di carbonio solo 200 volte (invece di 2000) più affine per il ferro rispetto all'ossigeno O_2 e quindi ci permette di sopravvivere in presenza di minime tracce di CO nell'aria che altrimenti sarebbero mortali.

L'immagine qui a destra (file PDB 3n48) mostra la **situazione normale** quando la molecola di **ossigeno O_2 è legata all'eme**. Si vede come l'anello imidazolico dell'istidina (grossi atomi grigi e blu) occupi la posizione sopra l'atomo di ferro lasciando appena lo spazio sufficiente ad O_2 e NO per legarsi al ferro dell'eme con il loro angolo normale di 120° , ostacolando così il legame di molecole che realizzano un angolo di legame di 180° come CO e CN^- .



La **mioglobina** è una proteina simile all'emoglobina, ma **più semplice**, è composta da **una sola catena proteica** e contiene quindi **un solo gruppo eme**, mostrato qui in magenta. (file PDB 1mbo).

La mioglobina si trova nei muscoli e in altri tessuti dove lega l'ossigeno O_2 portato dall'emoglobina e lo rende disponibile alle cellule.



L'**emoglobina** è costituita, invece, da **quattro catene** e contiene **quattro gruppi eme**, come si vede nell'immagine qui a sinistra ottenuta dal file PDB 1hho. Questa sua maggiore complessità le dà alcuni importanti vantaggi rispetto alla mioglobina che è costituita invece da una sola catena. La funzione dell'emoglobina è quella di **legare O_2 nei polmoni** e **rilasciarlo nei tessuti**.

Anche la mioglobina è capace di legare O_2 , ma essendo una proteina con un solo sito attivo, si comporta come un semplice enzima che segue la legge di Michaelis Menten, cioè ha una affinità per l'ossigeno di tipo **iperbolico**. Come si vede nel grafico della pagina seguente, la sua affinità è forte nei polmoni (fascia rosa) per consentirle di saturarsi di O_2 , ma resta ancora troppo forte nei tessuti (fascia

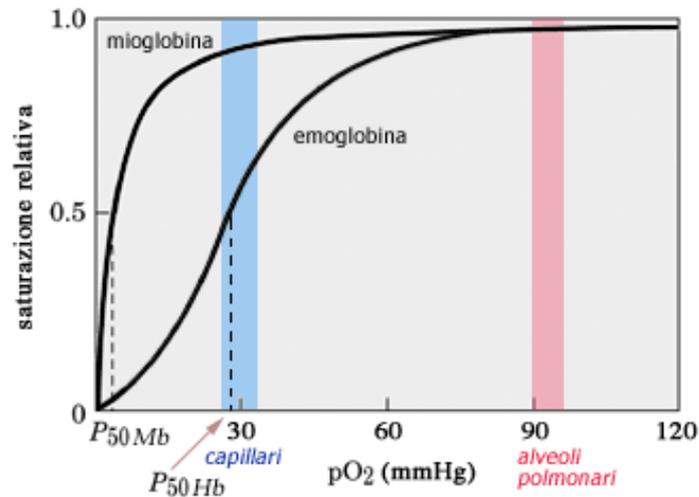
blu) dove non riuscirebbe a rilasciare tutto l' O_2 trasportato e quindi sarebbe un trasportatore di O_2 poco efficiente.

Se invece la mioglobina avesse una bassa affinità per l' O_2 per poterlo rilasciare nei tessuti, non sarebbe più in grado di legarlo con efficacia nei polmoni.

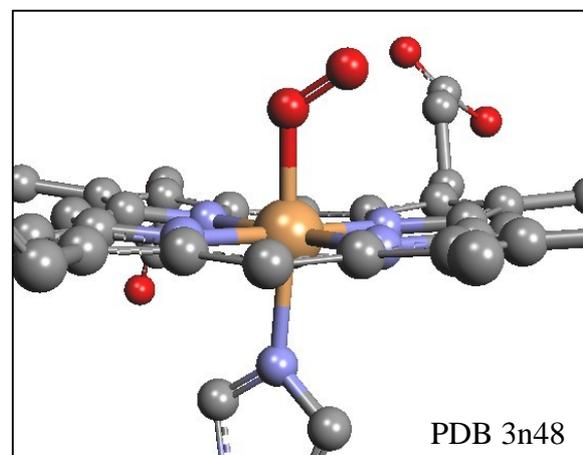
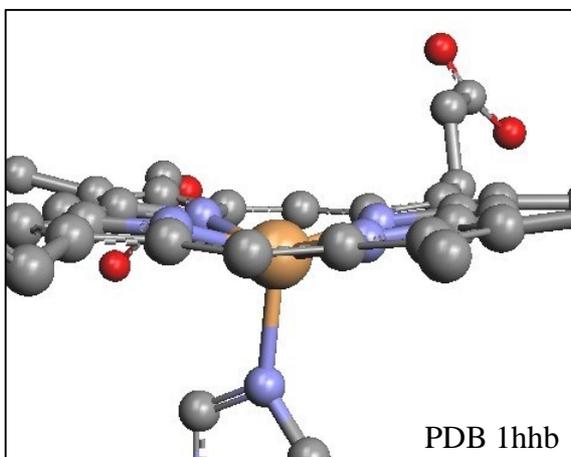
L'emoglobina ha risolto questo problema grazie ai suoi quattro siti di legame che si influenzano uno con l'altro. Si tratta quindi di una **proteina allosterica** che modifica l'affinità per O_2 facendo lavorare i suoi **siti di legame in modo cooperativo**.

A bassa concentrazione di ossigeno (nei tessuti, fascia blu) l'emoglobina è poco affine per O_2 .

A maggiore concentrazione di ossigeno (nei polmoni, fascia rosa) l'emoglobina ha una grande affinità per O_2 come si vede dal grafico seguente che ha un andamento **sigmoideale** e non iperbolico come la mioglobina.



L'emoglobina senza O_2 legato nei siti attivi è **poco affine per O_2** , ma la sua **affinità cresce quando si lega il primo e il secondo O_2** . Così è difficile legare la prima molecola di ossigeno, ma legare la seconda, la terza e la quarta molecola di O_2 diventa via via sempre più facile. Questo aiuta molto la funzione dell'emoglobina. Quando il sangue è nei polmoni, dove l'ossigeno è abbondante, l'ossigeno si lega facilmente alla prima subunità e poi rapidamente riempie tutte le subunità rimanenti. Poi, quando il sangue circola attraverso il corpo, il livello di ossigeno scende velocemente mentre aumenta quello di biossido di carbonio. In questo ambiente, l'emoglobina rilascia l'ossigeno legato. Appena viene rilasciata la prima molecola di O_2 , la proteina comincia a cambiare la sua forma. Questo induce i tre ossigeni rimanenti ad essere rilasciati rapidamente. In questo modo, l'emoglobina fa il pieno di ossigeno nei polmoni, e lo scarica tutto nei tessuti quando ce n'è bisogno. Questo strano comportamento si spiega a livello strutturale osservando che l'atomo di **ferro** nell'eme è trattenuto **sotto il piano dell'anello** dal legame con l'**istidina vicinale** che si trova sul **lato inferiore** dell'eme. In queste condizioni il ferro è poco affine per O_2 . (foto qui sotto a sinistra)



Quando O_2 si lega all'atomo di ferro nel centro dell'eme, **tira il ferro verso l'alto** e con esso **tira verso l'alto anche l'istidina** che si trova sul lato inferiore dell'eme.

Questo sposta la posizione dell'intera alfa-elica nella quale si trova l'istidina. Il movimento si propaga a tutta la catena proteica e alle altre catene, provocando alla fine un **innalzamento dell'atomo di ferro anche nell'altra subunità** e questo fa **aumentare l'affinità per O₂**.

L'emoglobina trasporta anche **H⁺** e **CO₂** cioè i prodotti finali della respirazione cellulare.

La CO₂ viene eliminata dal nostro corpo in tre modi diversi:

il **10%** si scioglie nel **plasma**,

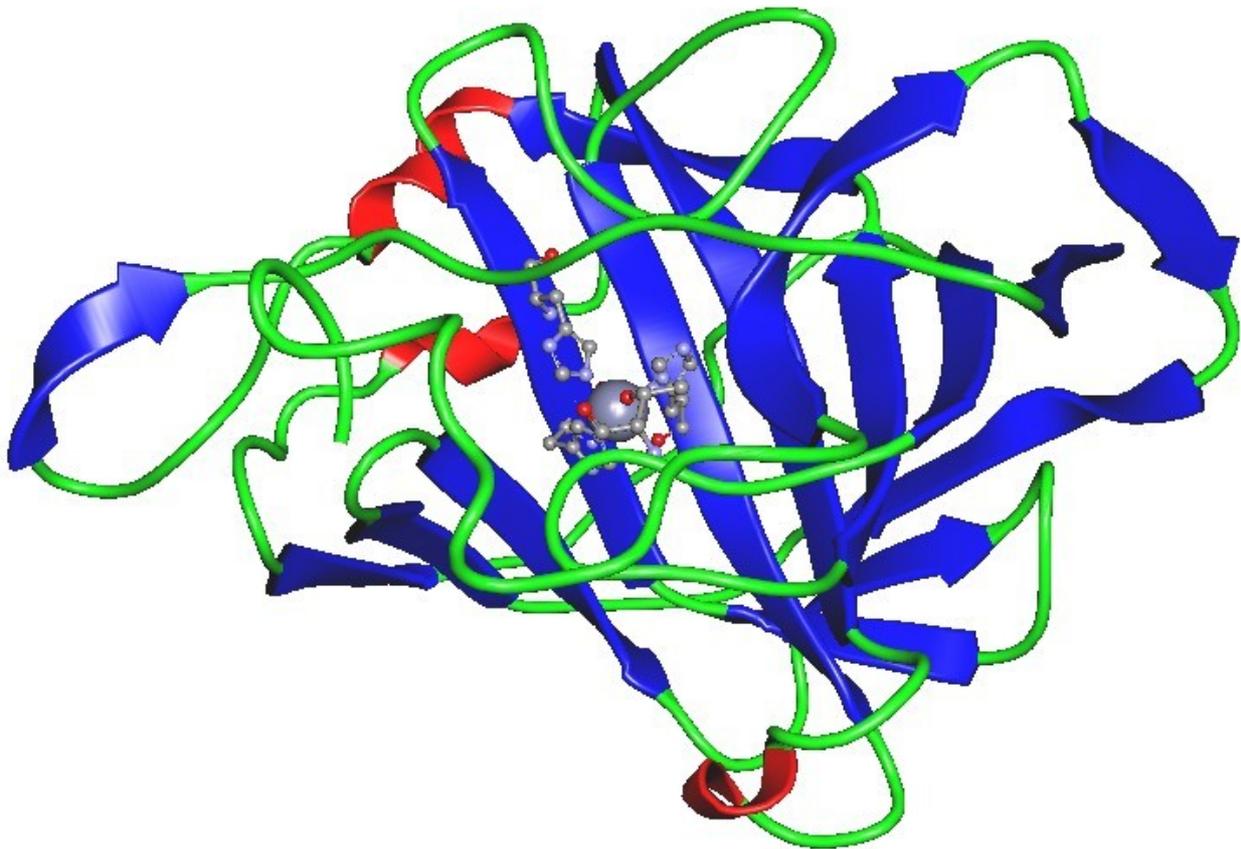
il **20%** si lega all'**emoglobina**, ma non sull'eme,

il **70%** viene trasformata in **acido carbonico** per essere trasportata ai polmoni. Un **enzima** presente nei globuli rossi del sangue, l'**anidrasi carbonica**, aiuta nella **conversione dell'anidride carbonica in ioni bicarbonato**.



Quando i globuli rossi raggiungono i polmoni, lo stesso enzima converte di nuovo gli ioni bicarbonato in anidride carbonica che possiamo espirare. Queste reazioni possono avvenire anche senza enzima, ma l'**anidrasi carbonica aumenta la loro velocità fino ad un milione di volte**.

Infine, quando la CO₂ viene trasformata in bicarbonato si determina un aumento degli H⁺ nei tessuti e di conseguenza un abbassamento del pH.



Nella figura è mostrato l'enzima anidrasi carbonica con evidenziato il sito attivo costituito da alcune istidine che legano un atomo di zinco (grossa sfera grigia) che, interagendo con una treonina e un acido glutammico, trasferisce ioni OH⁻ alla CO₂ per formare bicarbonato.

Prof. Mauro Tonellato
Jessica Munaro