

L'eme

Struttura e funzione

L'eme è costituito da una struttura organica complessa ad anello, la **protoporfirina**, a cui è legato un singolo atomo di ferro (Fe^{2+} - stato di ossidazione ferroso).

Il ferro ha una forte tendenza a legare l'ossigeno disciolto nel plasma; allo stato libero provoca la formazione di specie dell'ossigeno altamente reattive, i radicali ossidrilici, capaci di danneggiare il DNA. Il ferro nell'eme ha 6 legami di coordinazione:

- 4 con gli atomi di azoto coordinati facenti parte dell'**anello porfirinico** (donatori di elettroni – impediscono la conversione del ferro nello stato ferrico (Fe^{3+}));
- 2 sono **perpendicolari** al piano della molecola:
 - 1 con l'**istidina prossimale (F8, His⁹³)** della globulina a cui è legato l'eme come **gruppo prostetico**;
 - 1 con una molecola di **ossigeno**.

Le molecole di eme libere nel plasma (quindi non legate ad una globulina) hanno il Fe^{2+} con 2 legami di coordinazione disponibili: quando vi si lega una molecola di O_2 si ha la conversione irreversibile del Fe^{2+} in Fe^{3+} . Quando l'eme è inserito in una proteina questa reazione non avviene in quanto l'intero gruppo è incastonato in profondità nella struttura proteica e l'accessibilità ai siti di coordinazione è limitata.

Il legame con l'ossigeno **modifica le proprietà elettroniche** del ferro. Ciò spiega diverso **colore** del sangue venoso povero di ossigeno (rosso scuro) rispetto al sangue arterioso ricco di ossigeno (rosso brillante).

Anche il **monossido di carbonio (CO)** e l'ossido di azoto (NO) si possono coordinare al ferro dell'eme (con affinità molto superiore a quella dell'ossigeno). Quando una molecola di CO si lega all'eme non è più possibile il legame con l'ossigeno. Le proteine che legano l'ossigeno **regolano l'accesso al ferro** dell'eme del CO e di altre piccole molecole.

Le globine

Sono una vasta famiglia di proteine aventi struttura primaria e terziaria simili. Negli esseri umani sono noti 4 tipi diversi di globine:

- **Mioglobina** (monomerica): favorisce la diffusione dell'ossigeno nel tessuto muscolare. E' costituita da 8 segmenti ad α elica, indicate con le lettere da A ad H. I singoli residui amminoacidici vengono identificati o dalla loro posizione nella sequenza amminoacidica (contando a partire dall'estremità N-terminale) oppure dalla loro localizzazione all'interno di un segmento ad α elica. L'**istidina prossimale** è il 93esimo residuo a partire dalla terminazione amminica della catena polipeptidica della mioglobina, ma è anche l'ottavo residuo dell' α elica F (His F8);
- **Emoglobina** (tetramerica): è responsabile del trasporto dell'ossigeno nel torrente circolatorio. Ha una forma pressoché sferica e contiene 4 gruppi prostetici eme, 1 per ciascuna unità. L'**emoglobina A** (presente nell'adulto) si distinguono 2 catene α e 2 catene β ;
- **Neuroglobina** (monomerica): contribuisce a ridurre il rischio di ipossia (scarsa ossigenazione) e/o ischemia (scarsa irrorazione sanguigna);
- **Citoglobina** (monomerica): presente in elevate concentrazioni in vari tessuti. La sua funzione non è tutt'ora chiara.

Cinetica di legame

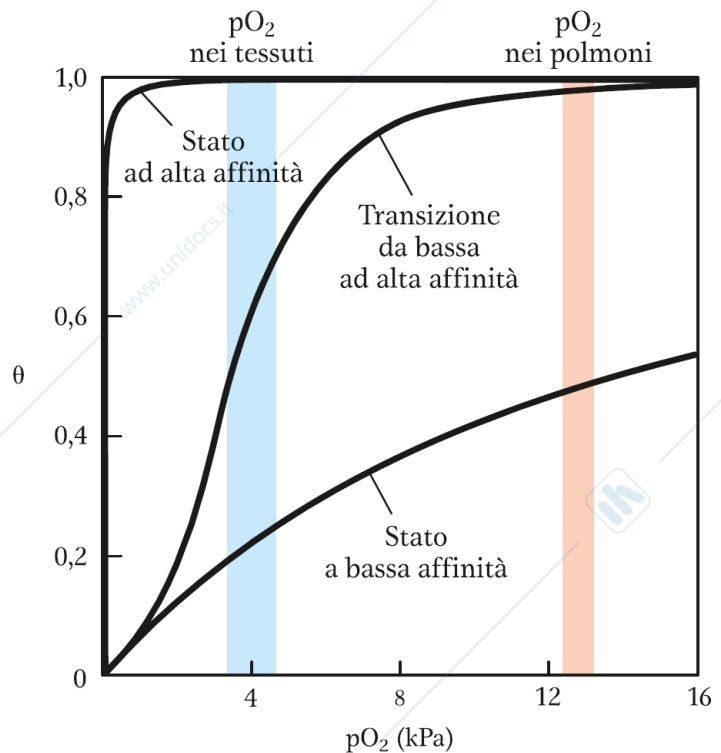
La K_d o P_{50} del legame del CO all'eme libero è oltre 20k volte più bassa di quella dell'ossigeno, eppure si lega solo 200 volte meglio quando l'eme è localizzato all'interno della mioglobina. Questa differenza è dovuta parzialmente ad **interferenze steriche**: l'**His prossimale** (His F8) forma un legame idrogeno con l'O₂ ma impedisce un legame lineare del CO, aumentando l'energia potenziale necessaria per sostenerlo.

La mioglobina ha una curva di legame dell'ossigeno con andamento iperbolico: funziona bene come serbatoio di immagazzinamento. L'emoglobina si adatta meglio alla funzione di trasportatore di ossigeno per via della sua cinetica sigmoideale.

Nei polmoni la pO₂ è di circa 13,3 kPa; nei tessuti è di 4 kPa. La mioglobina si saturerebbe molto facilmente nei polmoni, ma non libererebbe molto ossigeno nei tessuti (stato ad alta affinità). L'emoglobina, invece, è capace di transizionare da uno stato a bassa affinità (**stato T - deossiemoglobina**) a uno stato ad alta affinità (**stato R**) quando lega l'ossigeno.

Una proteina con una sola subunità (come la mioglobina), un singolo sito di legame per il ligando (in questo caso l'O₂) non può produrre una curva sigmoide.

La prima molecola di ossigeno che si lega all'emoglobina vi si lega debolmente, in quanto la proteina è ancora in stato T. Questo legame determina, però, una modificazione conformazionale che rende più facile l'interazione con altre molecole di ossigeno. La transizione non modifica le strutture delle singole subunità, ma i 2 monomeri $\alpha\beta$ scivolano l'uno rispetto all'altro e ruotano, determinando un restringimento della tasca tra le subunità β .

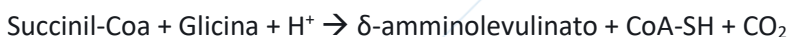


Sintesi dell'eme

Per la sintesi di 1 molecola di eme sono necessarie:

- 8 molecole di Glicina
- 8 molecole di Succinil-CoA (derivante dal TCA)

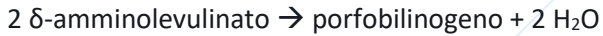
Reazione 0:



Catalizzata dalla **Amminolevulinato sintasi (mitocondriale)**, esistente in 2 isoforme:

- **1**, ubiquitaria ma espressa maggiormente nel fegato; è deputata alla sintesi dell'eme per il **citocromo P450**;
- **2**, espressa unicamente negli eritroblasti; è deputata alla sintesi dell'eme per l'emoglobina

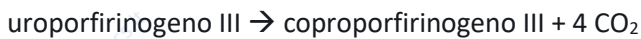
Cofattore della amminolevulinato sintasi è il PLP. Una mutazione del gene per la ALA sintasi-2 è causa della **anemia sideroblastica**.

Reazione 1:

Catalizzata dalla **amminolevulinato deidratasi (citosolica)** (o porfobilinogeno sintasi).

Reazione 2:

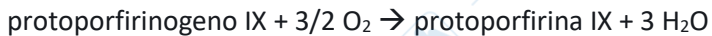
Catalizzata dalla **porfobilinogeno deaminasi** (con formazione dell'intermedio idrossimetil bilano) e dalla **uroporfirinogeno III sintasi (entrambe citosoliche)**.

Reazione 3:

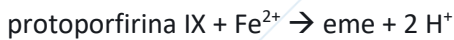
Catalizzata dalla **uroporfirinogeno III decarbossilasi (citosolica)**.

Reazione 4:

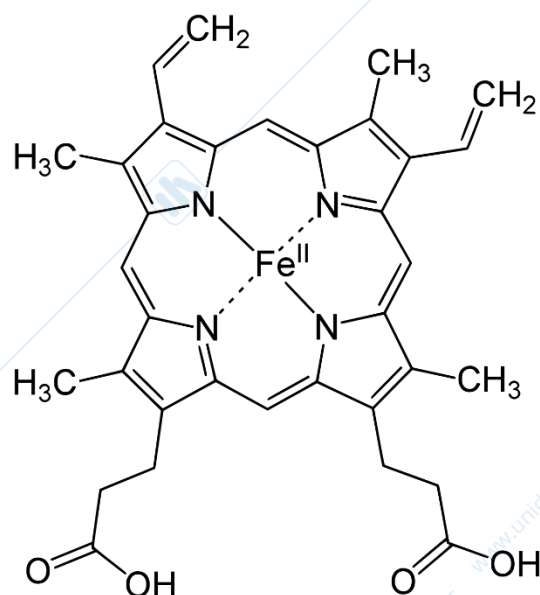
Catalizzata dalla **coproporfirinogeno III ossidasi (mitocondriale)**.

Reazione 5:

Catalizzata dalla **protoporfirinogeno III ossidasi (mitocondriale)**.

Reazione 6:

Catalizzata dalla **ferro chelatasi IX (mitocondriale)**.



Catabolismo dell'eme

Il catabolita principale dell'eme è la **bilirubina**. Variazioni della concentrazione ematica del metabolita sono segnale di determinate patologie (epatiche e non); per questo motivo spesso l'analisi della concentrazione di bilirubina ha valore diagnostico.

L'80% della bilirubina prodotta dall'organismo proviene dal catabolismo dell'eme: i globuli rossi hanno un'**emivita di 120 giorni**, in seguito ai quali vanno incontro a **lisi intravascolare** (in piccolissima parte) oppure vengono fagocitati dai **macrofagi splenici** (sistema del reticolo endoteliale della **milza**).

Il catabolismo dell'eme avviene in 3 distretti: **milza, fegato e intestino**.

1) Milza

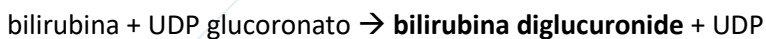
L'eme subisce 2 reazioni:

- **Eme ossidasi:** $\text{eme} + 3 \text{O}_2 + 3 \text{NAD(P)H}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{CO} + 3 \text{NAD(P)} + 3 \text{H}_2\text{O} + \text{biliverdina}$
- **Biliverdina reduttasi:** $\text{biliverdina} + \text{NAD(P)H} + \text{H}^+ \rightarrow \text{bilirubina} + \text{NAD(P)}^+$

La **bilirubina** viene rilasciata nel circolo ematico. A causa della sua scarsa idrosolubilità (trattandosi di molecola apolare) è necessario il suo legame con l'**albumina**, un *carrier* generico capace di trasportare molteplici molecole. L'albumina contiene un sito ad alta affinità ed uno a bassa affinità per la bilirubina: quando il complesso **albumina-bilirubina** è lontano dai sinusoidi epatici (dove avviene il reclutamento del metabolita) l'albumina lega il substrato nel sito ad alta affinità (si evita il rischio di rilascio con effetti tossici); quando arriva nel circolo epatico cambia sito e diventa più facilmente trasportabile al fegato.

2) Fegato

L'albumina rilascia la bilirubina (non coniugata) nell'epatocita. Qui si lega a 2 tipi di proteine: la **ligandina** e la **proteina Z** per proteggere l'epatocita da un possibile **danno da bilirubina**. Il metabolita subisce, poi, la **glucoronazione**: i 2 gruppi proprionici vengono attaccati in maniera sequenziale da 2 residui di glucuronato, aumentandone la solubilità. La reazione è catalizzata dalla **UDP glucuronosil transferasi**:



La bilirubina diglucuronide è anche detta **bilirubina coniugata**; essa viene poi secreta nella bile.

3) Intestino

Nell'intestino la bilirubina coniugata è soggetta al **metabolismo dei batteri**; in particolare i 2 residui di glucuronato vengono separati dalla molecola, ottenendo così l'**urobilinogeno**.

L'urobilinogeno ha 2 possibili destini metabolici:

- Nell'**80% dei casi** è ossidato a **stercobilina** ed escreto nelle feci;
- Nel **10-20% dei casi** viene trasportato dal circolo portale nel fegato; da qui viene immesso nel torrente circolatorio e viene **eliminato dal rene** in forma di **urobilinogeno**.

L'ittero

Una concentrazione plasmatica di bilirubina $> 3 \text{ mg/dL}$ è causa di ittero (*non una malattia, ma un segno clinico*).

Se ne distinguono 4 cause:

- 1) **Ittero epatico:** accompagnato da una **emolisi** massiccia degli eritrociti e da un'anemia che caratterizza la carenza della G-6P DH, spesso causata dall'assunzione di farmaci ossidanti (o fave). Si osserva, inoltre, un eccesso di **bilirubina non coniugata** ($> 0,5 \text{ mg \%}$);
- 2) **Ittero intra-epatico:** si accompagna spesso ad **infezioni** (epatite A, B, C), **eccesso di determinati farmaci** (o suscettibilità dell'individuo a tali molecole), **malattie ereditarie** del metabolismo della bilirubina;
- 3) **Ittero neonatale:** condizione nella quale alla nascita il fegato non è sufficientemente sviluppato, con conseguente inefficienza nella coniugazione della bilirubina;
- 4) **Ittero post-epatico:** causato da un ostacolo alla fuoriuscita della bile, contenente la bilirubina; è caratterizzato da urine color Marsala.