

ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ (ΑΜ)

ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ: Hb, είναι τετραμερής πρωτεΐνη.

ΜΕΤΑΠΤΩΣΗ ΑΠΟ $T \rightleftharpoons R$

ΔΕΟΞΥΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ \leftrightarrow **ΟΞΥΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ**

(Σταθερότητα, χαμηλή συγγένεια για $O_2 \leftrightarrow$ **Εύκαμπτη, υψηλή συγγένεια για O_2**)

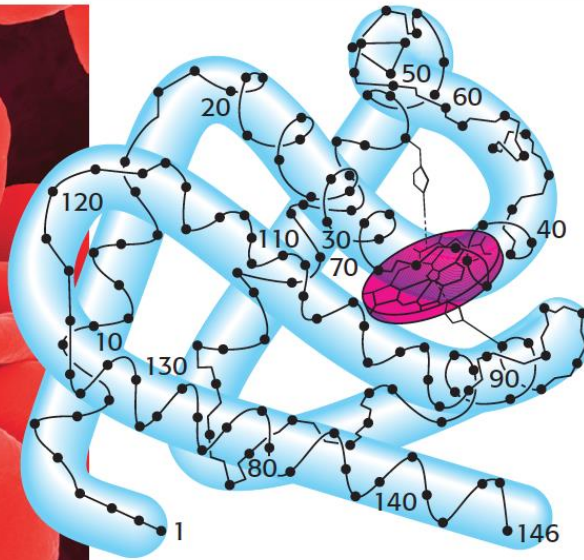
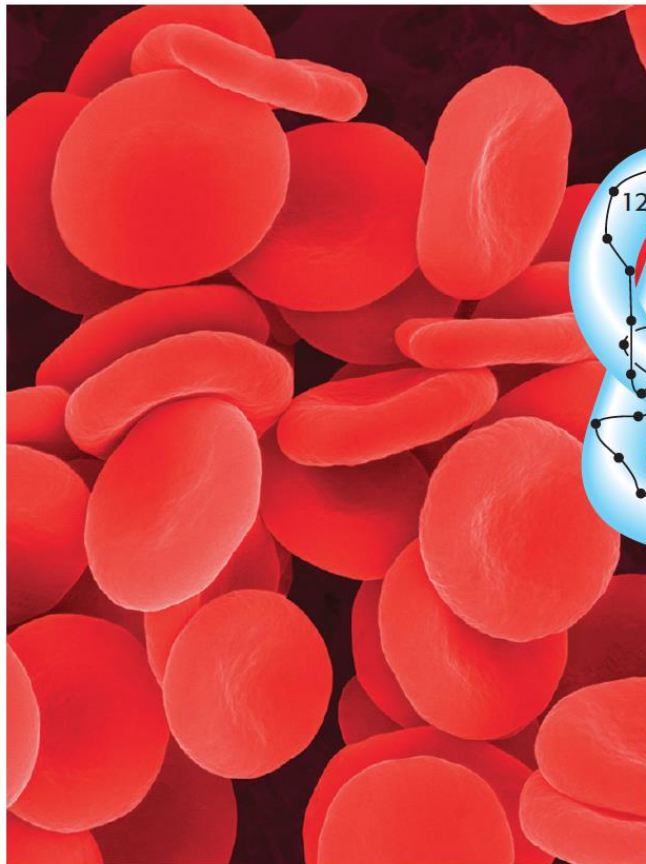
Το ίδιο μόριο **ΑΜ**

Θα πρέπει να δεσμεύει ισχυρά O_2 αλλά να το απελευθερώνει όταν «χρειάζεται»

Να λειτουργεί καλύτερα σε εύρος οξυγόνου 20% αλλά και λιγότερο.

Να ενώνεται και με CO_2 αλλά να το απελευθερώνει όταν «χρειάζεται».

Να καταλαβαίνει πότε χρειάζεται να κάνει όλα τα παραπάνω.

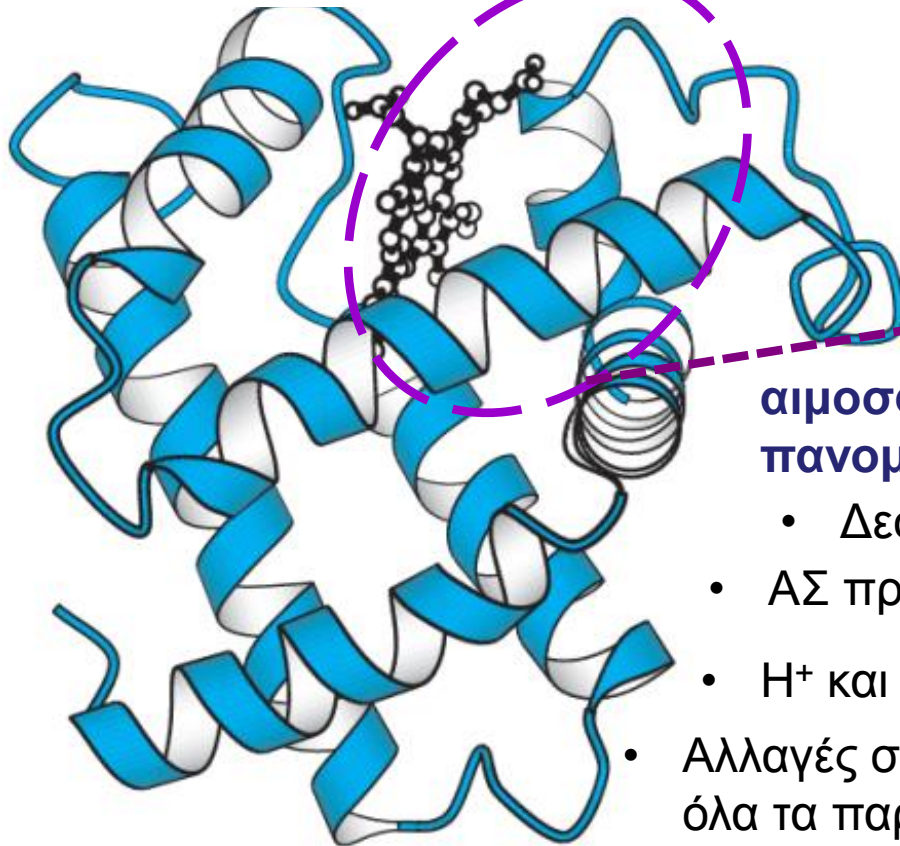


Η αλυσίδα β της αιμοσφαιρίνης

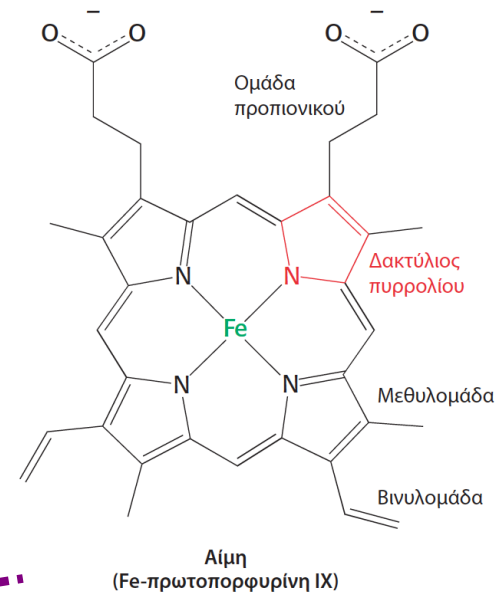
Στην κυκλοφορία του αίματος, τα ερυθροκύτταρα μεταφέρουν οξυγόνο από τους πνεύμονες στους ιστούς, όπου η ζήτηση είναι μεγάλη. Η αιμοσφαιρίνη, η πρωτεΐνη που δίνει το κόκκινο χρώμα στο αίμα, είναι υπεύθυνη για τη μεταφορά του οξυγόνου μέσω των τεσσάρων υπομονάδων της, που περιέχουν αίμη. Η αιμοσφαιρίνη ήταν μια από τις πρώτες πρωτεΐνες της οποίας προσδιορίστηκε η δομή· σε αυτή την εικόνα, σχεδιασμένη με το χέρι, φαίνεται η αναδίπλωση μιας απομονωμένης υπομονάδας. [Αριστερά, Dr. Dennis Kunkel/Visuals Unlimited.]

Εικόνα 7.1 Δομή της μυοσφαιρίνης.

Παρατηρήστε ότι η μυοσφαιρίνη απαρτίζεται από μία πολυπεπτιδική αλυσίδα, η οποία σχηματίζεται από α -έλικες που συνδέονται με στροφές με τη θέση δέσμευσης οξυγόνου [Σχεδιασμένο από 1MBD.pdb].



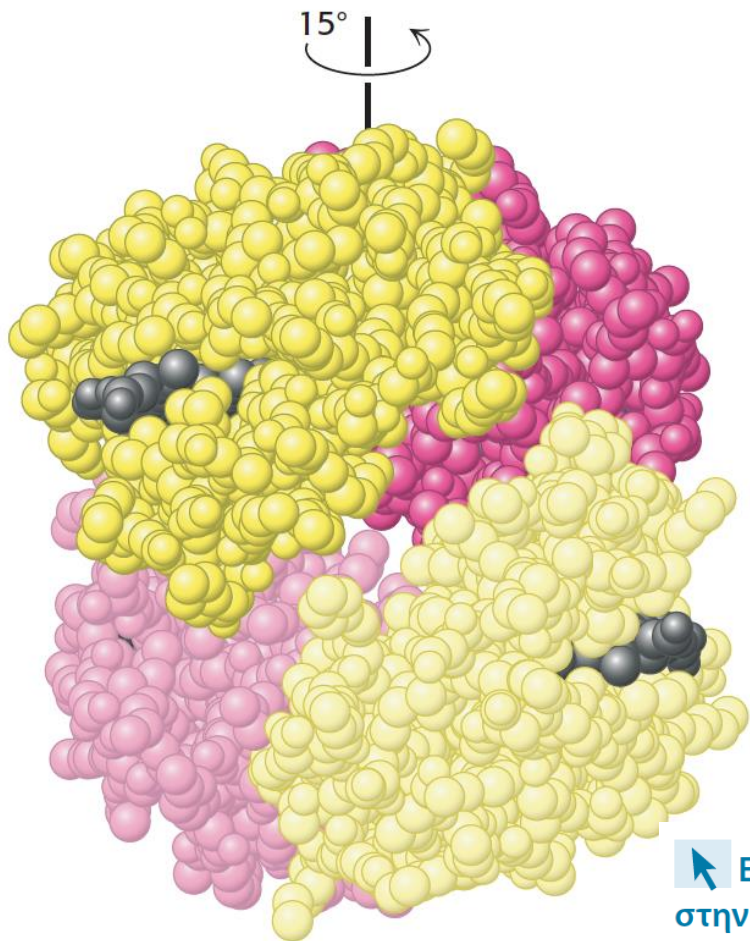
Μυοσφαιρίνη



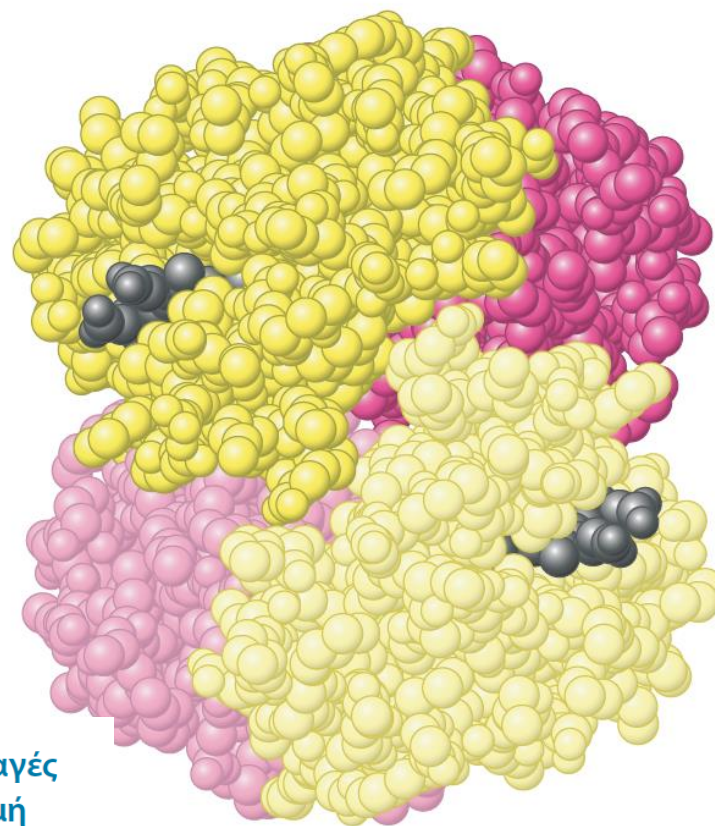
αιμοσφαιρίνη (ΑΣ) και μυοσφαιρίνη (ΜΣ) έχουν πανομοιότυπες δομές και δεσμεύουν οξυγόνο

- Δεσμεύουν οξυγόνο στα άτομα σιδήρου
- ΑΣ προσδένει το οξυγόνο συνεργειακά
- H^+ και CO_2 προάγουν την απελευθέρωση O_2
- Αλλαγές στα αμινοξέα (μεταλλάξεις) της ΑΣ αλλάζουν όλα τα παραπάνω μπορούν να προκαλέσουν νόσο

Λόγο των παραπάνω η ΑΣ μπορεί να χρησιμοποιεί αποτελεσματικά το 90% του O_2 που μεταφέρει αντί το 7% τις δυνητικής ικανότητας



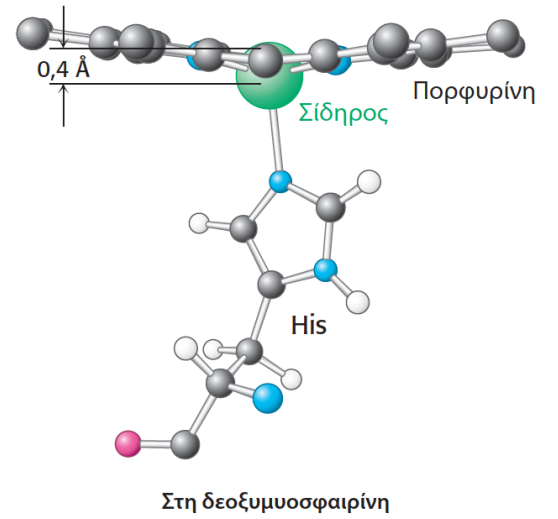
Δεοξυαιμοσφαιρίνη



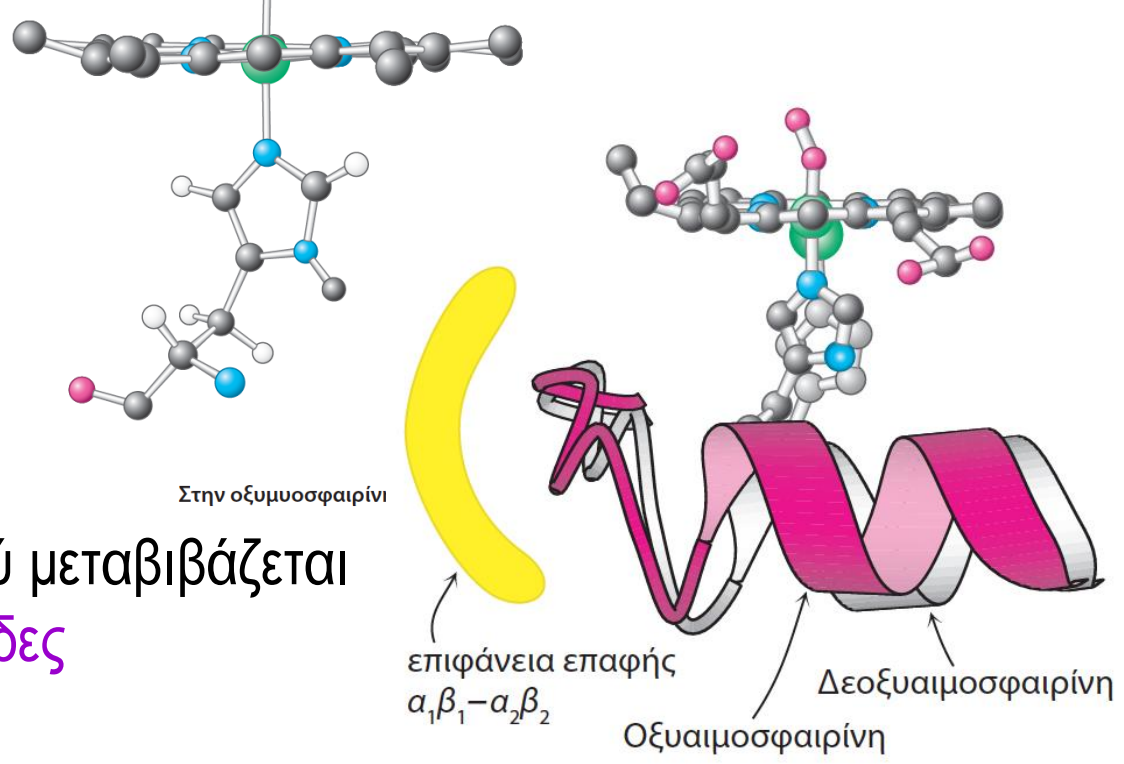
Οξυαιμοσφαιρίνη

Εικόνα 7.11 Αλλαγές στην τεταρτοταγή δομή κατά τη δέσμευση του οξυγόνου από την αιμοσφαιρίνη. Παρατηρήστε ότι κατά την οξυγόνωση, το ένα διμερές $\alpha\beta$ μετατοπίζεται σε σχέση με το άλλο κατά μία περιστροφή 15° . [Σχεδιασμένο από 1A3N.pdb and 1LFQ.pdb.]

Προσθήκη O_2 αφαιρεί δυο ηλεκτρόνια από τον σίδηρο και μειώνει τον όγκο του (εξωτερικά τροχιακά)



Αυτό φέρνει αλλαγές στον δακτύλιο της πορφυρίνης



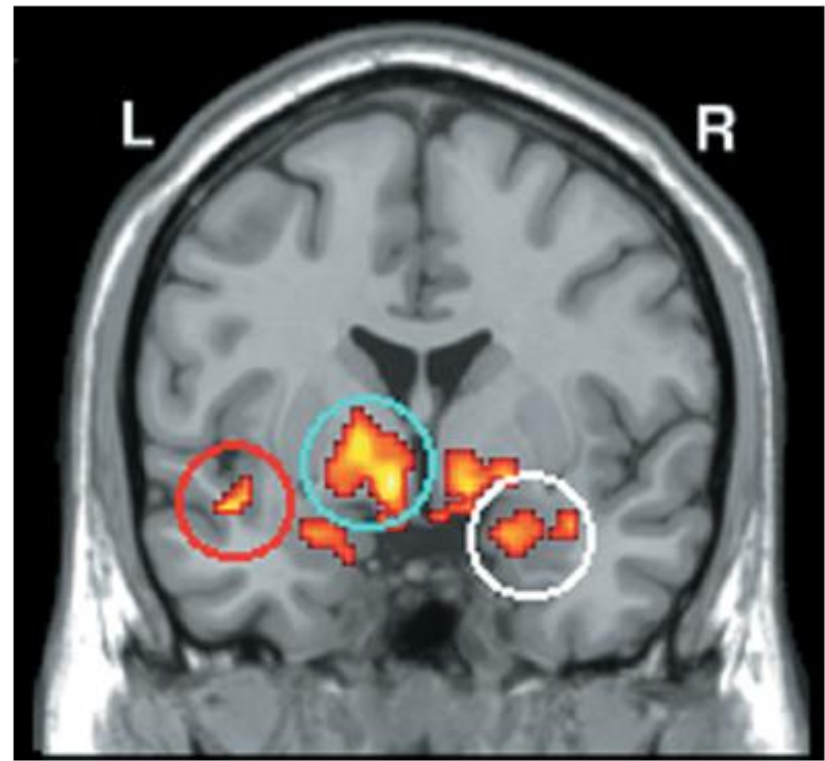
Η δομική μεταβολή του σιδηρού μεταβιβάζεται απευθείας στις άλλες υπομονάδες

Όταν τρία O_2 έχουν ενωθεί η εναπομένονσα μονάδα, προσδένει το O_2 20 φορές ισχυρότερα από ότι η οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη προσδένει το πρώτο

Οι αλλαγές από
δεοξυαιμοσφαιρίνη σε
οξυαιμοσφαιρίνη
μπορούν να ανιχνευθούν και
καταγραφοντας λειτουργίες
in vivo



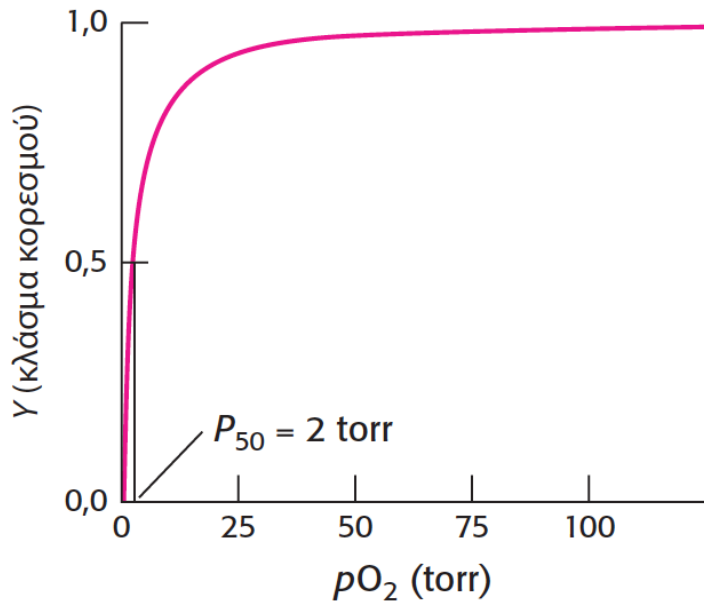
Εικόνα 7.4 Δεσμός σιδήρου-οξυγόνου. Η αλληλεπίδραση σιδήρου και οξυγόνου στη μυοσφαιρίνη μπορεί να περιγραφεί ως ένας συνδυασμός των δομών συντονισμού, μία με Fe^{2+} και μοριακό οξυγόνο και μία άλλη με Fe^{3+} και ιόν σουπεροξειδίου.



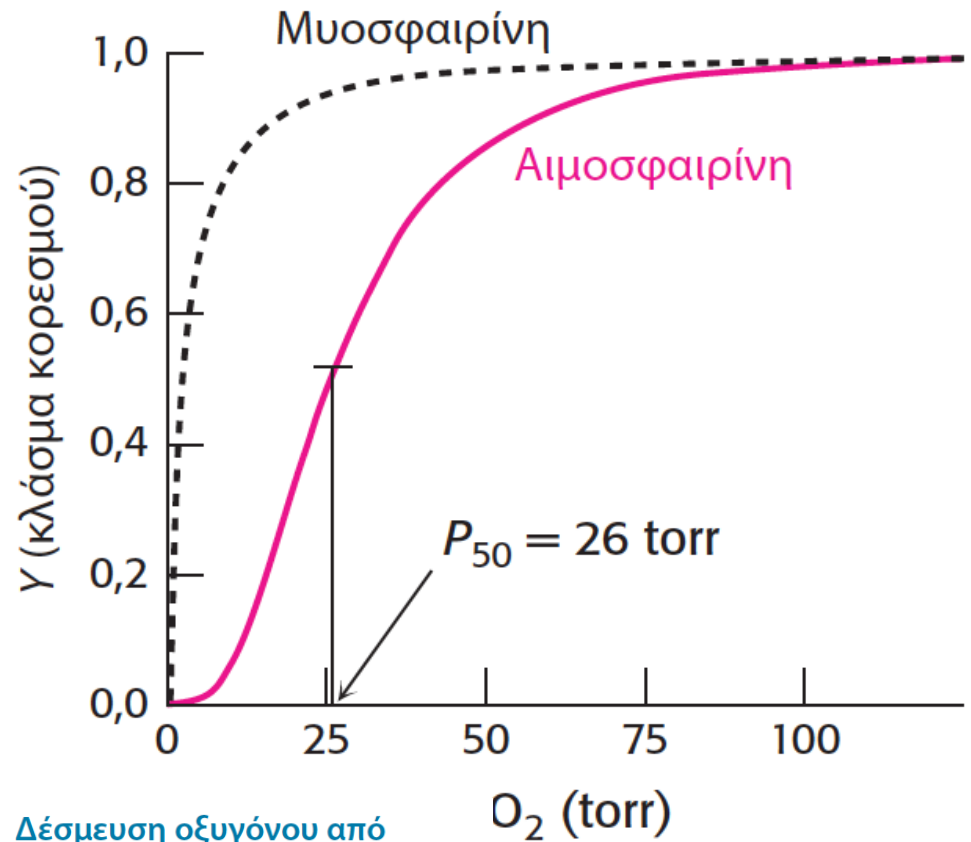
Εικόνα 7.3 Απεικόνιση λειτουργικού μαγνητικού συντονισμού του εγκεφάλου.

Μια απεικόνιση λειτουργικού μαγνητικού συντονισμού αποκαλύπτει την απόκριση του εγκεφάλου στις οσμογόνους ουσίες. Τα φωτεινά σημεία δείχνουν περιοχές του εγκεφάλου που έχουν ενεργοποιηθεί από οσμογόνους ουσίες. [Από N. Sobel et al., *J. Neurophysiol.* 83(2000):537-551· ευγενική προσφορά Dr. Noam Sobel.]

Διαφορές μυσφαιρίνης (ΜΣ) αιμοσφαιρίνης (ΑΣ)-σχεδίαση και λειτουργικότητα

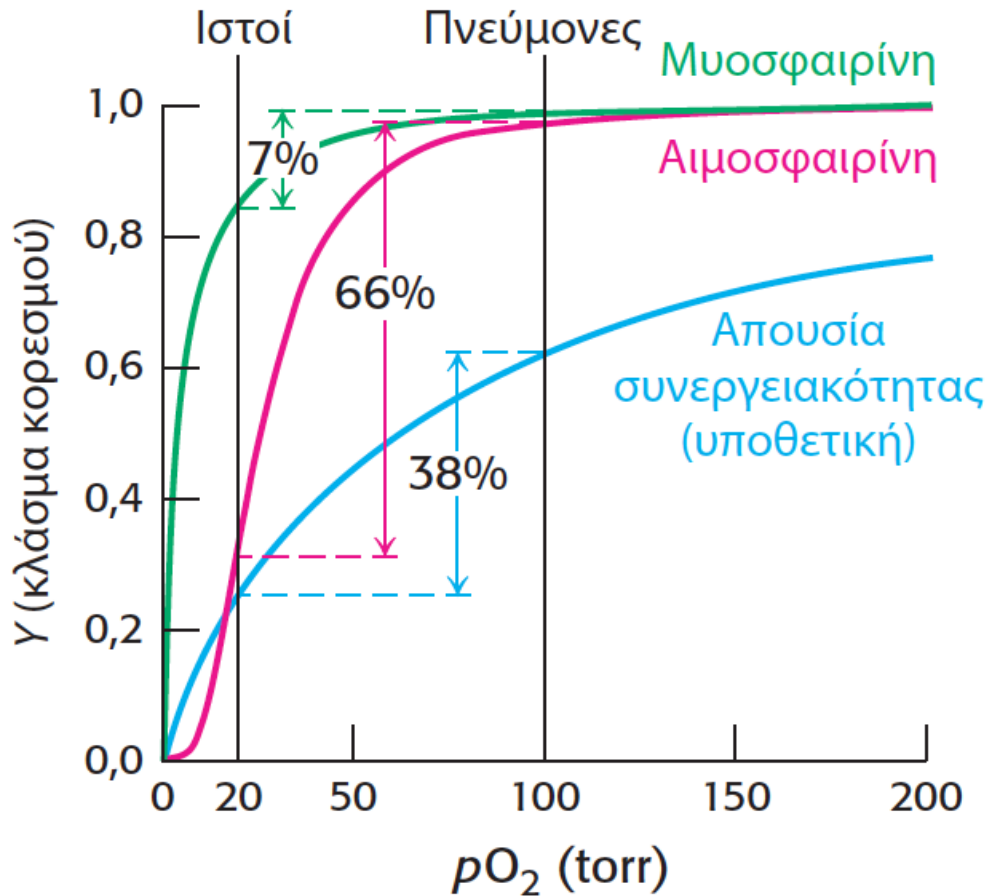


Εικόνα 7.7 Δέσμευση οξυγόνου από τη μυσφαιρίνη. Όταν η μερική πίεση του οξυγόνου είναι 2 torr, τα μισά μόρια της μυσφαιρίνης έχουν δεσμευμένο οξυγόνο.



Εικόνα 7.8 Δέσμευση οξυγόνου από την αιμοσφαιρίνη. Αυτή η καμπύλη, που αποκτήθηκε με πειραματικές μετρήσεις αιμοσφαιρίνης στα ερυθροκύτταρα, μοιάζει κάπως με «S», δείχνοντας ότι σε κάθε μόριο αιμοσφαιρίνης υπάρχουν ξεχωριστές αλλά αλληλεπιδρώσες θέσεις δέσμευσης οξυγόνου. Για την αιμοσφαιρίνη, ο ημι-κορεσμός είναι στα 26 torr. Για λόγους σύγκρισης, η καμπύλη δέσμευσης για τη μυσφαιρίνη απεικονίζεται ως διακεκομμένη μαύρη γραμμή.

Αιμοσφαιρίνη (ΑΣ) ένα παράδειγμα συνεργειακού μοντέλου ρύθμισης (συνδυασμός των δυο μοντέλων)



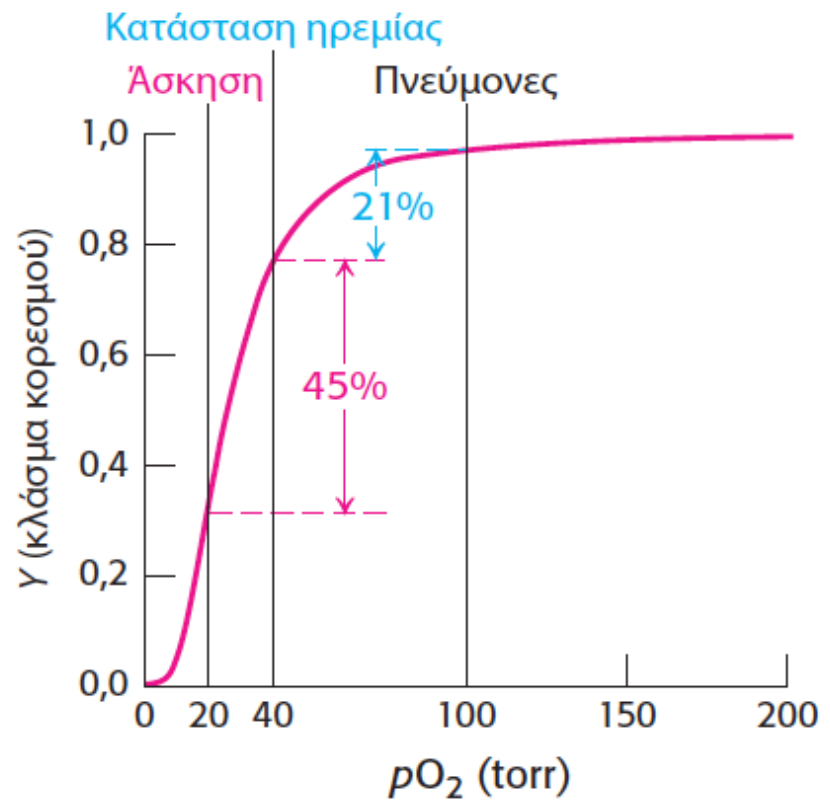
Στους πνεύμονες έχουμε pO_2 περίπου ίσο με 100 torr (συγκέντρωση)
Στους ιστούς έχουμε pO_2 περίπου ίσο με 20 torr (συγκέντρωση)

Σύμφωνα με τα παραπάνω και την K (σταθερά) της αντίδρασης, εάν έχουμε A δεοξυαιμοσφαιρίνη O_2 οξυγόνο τότε AO_2 Οξυαιμοσφαιρίνη $A + O_2 \leftrightarrow AO_2$
Όσο η αιμοσφαιρίνη κινείται προς τους ιστούς τόσο το O_2 μειώνεται τόσο η αντίδραση πάει προς τα αριστερά
Καλό σύστημα αλλά **όχι ικανοποιητικό** αποδίδει μονό το 38% του οξυγόνου ($63\% - 25\% = 38\%$)

Αυτό που συμβαίνει είναι απόδοση 68%! Μπορεί να συμβεί όταν η K αλλάζει ανάλογα τις συνθήκες

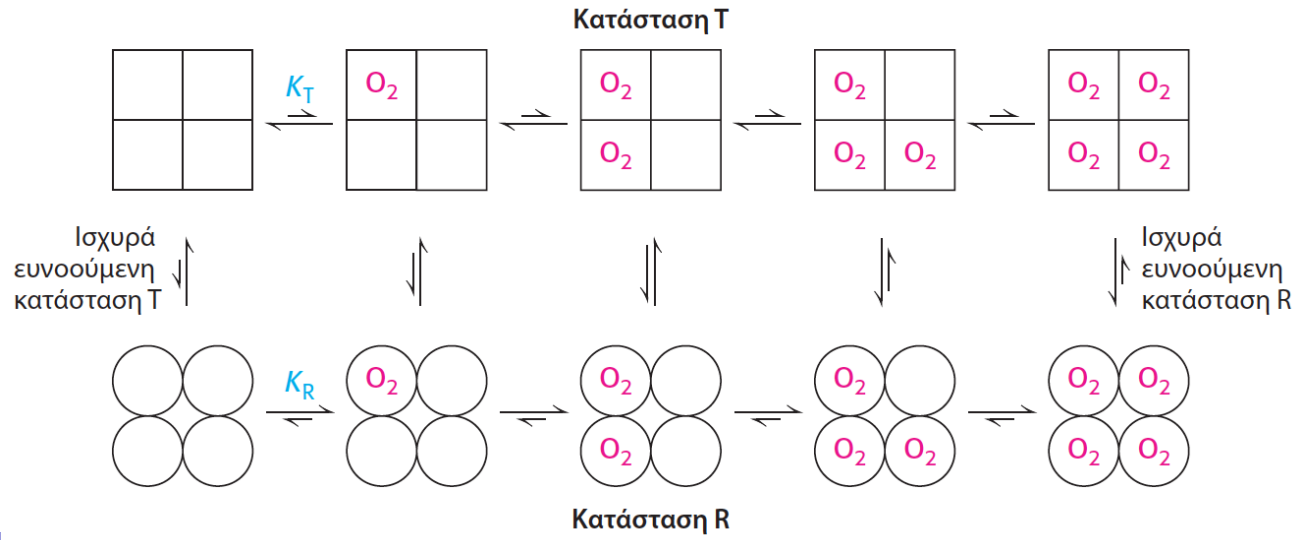
Αποτέλεσμα η ΑΣ δίνει 10 φορές (1000%) περισσότερο από ότι θα μπορούσε να δώσει η ΜΣ (από 7% σε 66% κλάσμα κορεσμού) και 1.7 φορές περισσότερο από όσο μια μη συνεργειακή πρωτεΐνη (από 38% σε 66% κλάσμα κορεσμού)

Η απότομη αλλαγή του κλάσματος κορεσμού της ΑΣ από τα 40 στα 20 pO₂ (torr) υποδηλώνει την υψηλή απόδοση της στην μεταφορά οξυγόνου στις συγκεκριμένες συνθήκες (συνθήκες άσκησης)



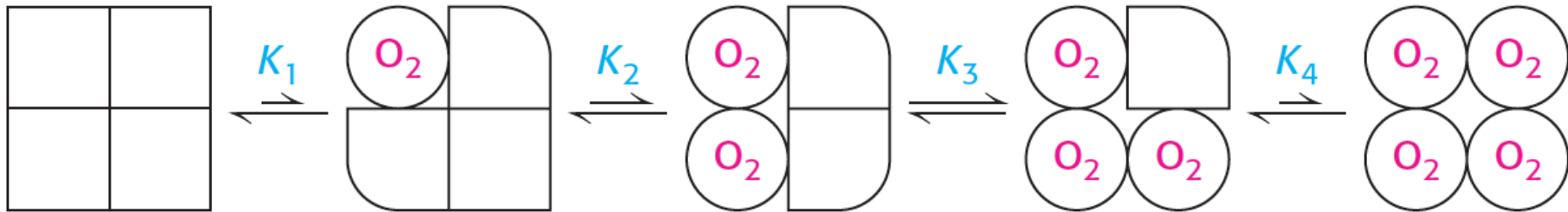
Εικόνα 7.10 Απόκριση στην άσκηση. Η πτώση στη συγκέντρωση του οξυγόνου από τα 40 torr στους μύς σε ηρεμία στα 20 torr στους ασκούμενους ιστούς αντιστοιχεί στο μέρος της παρατηρούμενης καμπύλης δέσμευσης οξυγόνου με τη μεγαλύτερη κλίση. Όπως φαίνεται εδώ, η αιμοσφαιρίνη είναι πολύ αποτελεσματική στο να προμηθεύει οξυγόνο στους ασκούμενους ιστούς.

Το εναρμονισμένο μοντέλο έχει T και R καταστάσεις για κάθε τετραμερές

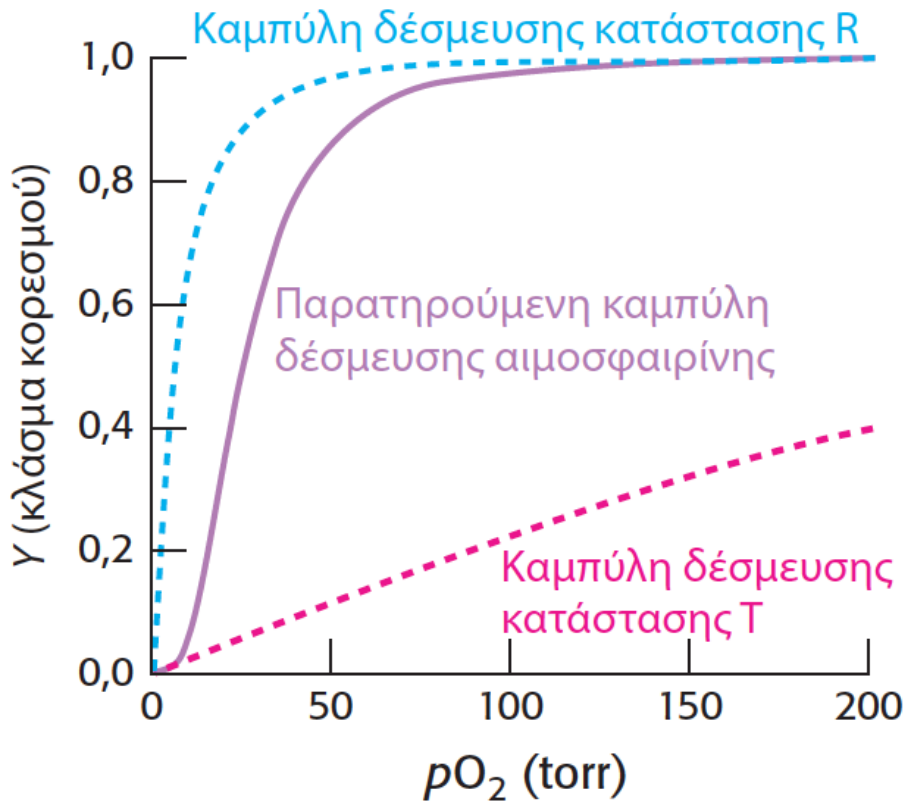


το μοντέλο **ακολουθίας** προτείνει διαδοχικές αλλαγές

Η σημαντική διαφορά είναι ότι αντίθετα με το εναρμονισμένο μοντέλο εδώ η πρόσδεση του υποστρώματος σε ένα ενεργό κέντρο επηρεάζει (ελαττώνει) επηρεάζει τα γειτονικά ενεργά κέντρα (αρνητικά ή θετικά)

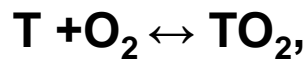


Κανένα μοντέλο δεν εξηγεί πλήρως τις ιδιότητες (καμπύλες δέσμευσης) της ΑΣ



Εικόνα 7.13 Μετάβαση από T σε R. Η παρατηρούμενη καμπύλη δέσμευσης για την αιμοσφαιρίνη μπορεί να θεωρηθεί ως ένας συνδυασμός των καμπυλών δέσμευσης που θα παρατηρούνταν εάν όλα τα μόρια παρέμεναν στην κατάσταση T ή όλα τα μόρια ήταν στην κατάσταση R. Αυτή η σιγμοειδής καμπύλη παρατηρείται διότι καθώς δεσμεύονται τα μόρια οξυγόνου, τα μόρια μεταβαίνουν από την κατάσταση T στην κατάσταση R.

Η κατάσταση τα προσομοιάζει μια τυπική χημική ισορροπία όπου K (σταθερά) της αντίδρασης δεν αλλάζει (επηρεάζεται) από την συγκέντρωση αντιδρώντων ή προϊόντων



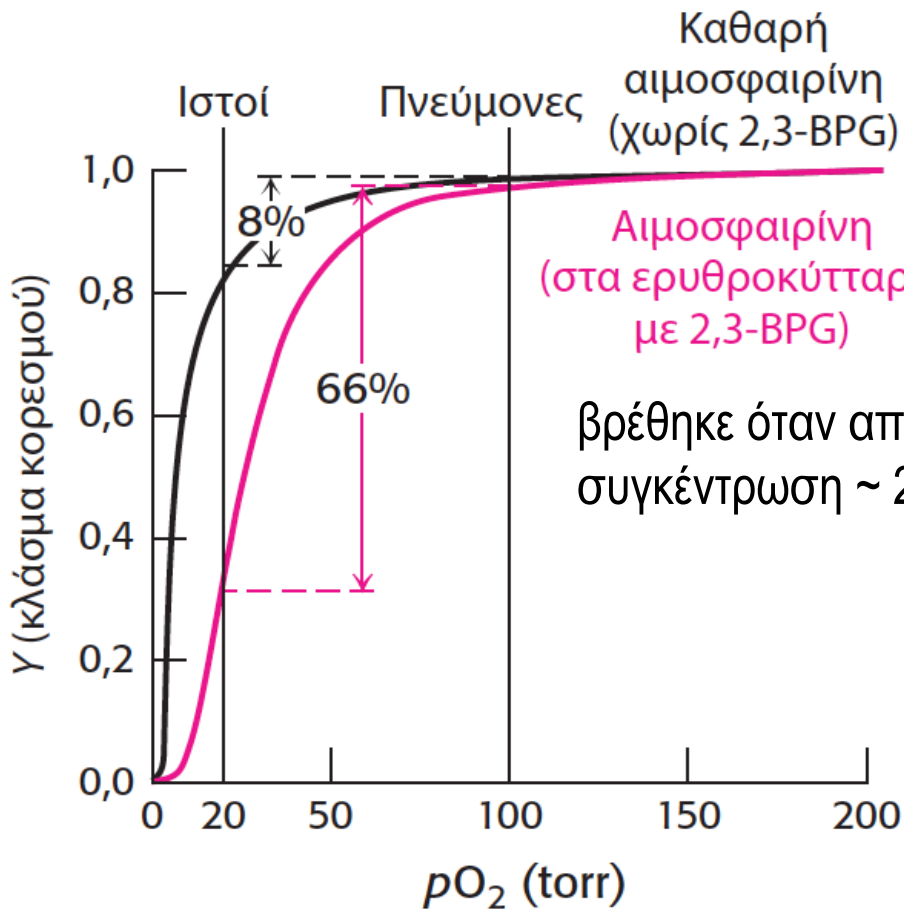
VIDEO

Μεταφορά οξυγόνου από πνεύμονες σε ιστούς

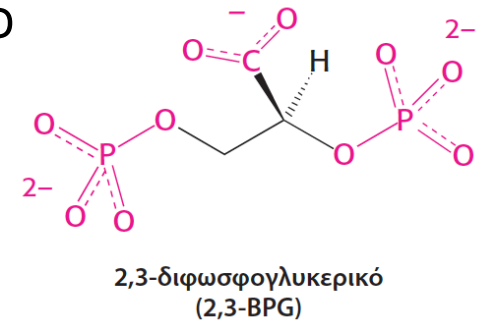
<https://www.youtube.com/watch?v=WXOBJEXxNEo>

Η κατάσταση T της ΑΣ δεν είναι αρκετά σταθερή και μετατρέπεται γρήγορα παρουσία οξυγόνου σε R

Η απομονωμένη και καθαρισμένη ΑΜΦ από αίμα βρέθηκε να έχει **πολύ μεγαλύτερη συγγενικά** με το οξυγόνο (δηλαδή R)



βρέθηκε όταν απομονώθηκε καθαρή αιμοσφαιρίνη βρίσκεται σε συγκέντρωση $\sim 2\text{mM}$ ίδια με την ΑΜΦ



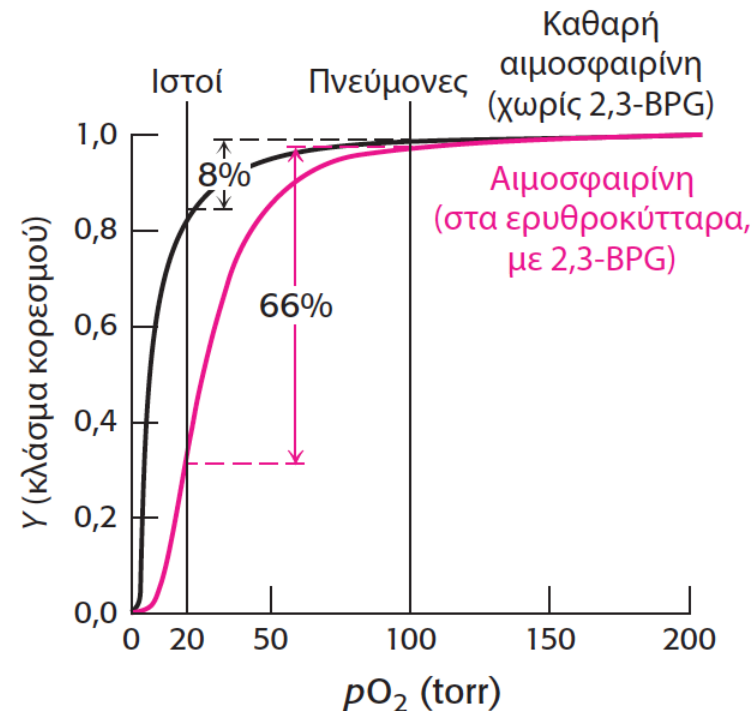
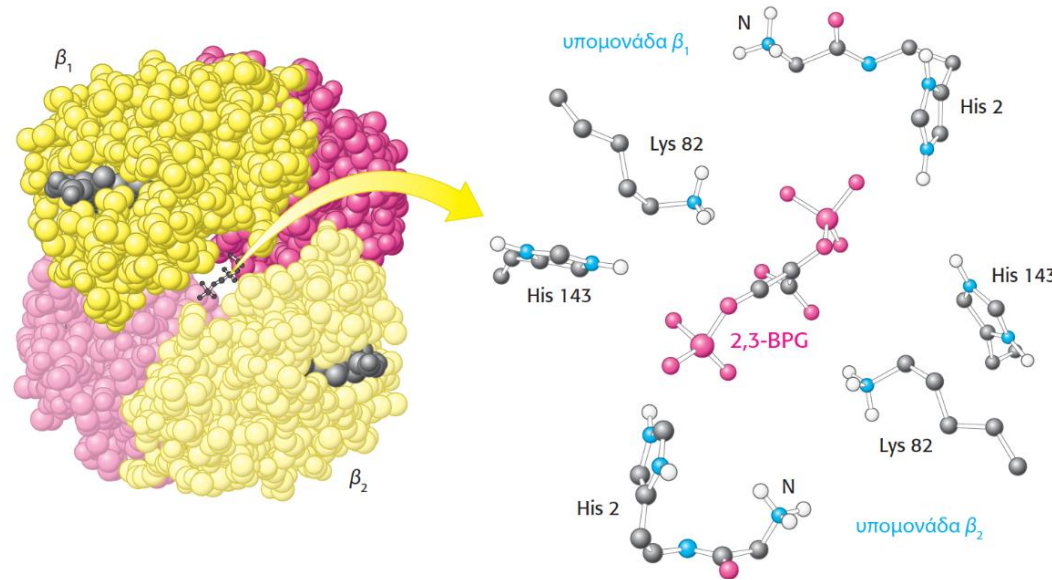
Χωρίς την BPG η ΑΣ θα ήταν ένας ισχυρός προσδέτης O_2 αλλά και εξαιρετικά μη ικανός μεταφορέας O_2 (μόνο το 8% μεταφέρεται)

Η BPG σταθεροποιεί (φέρνει την ισορροπία προς) την κατάσταση T άρα ενισχύει την μη δέσμευση (απελευθέρωση) του O_2

Πώς επηρεάζει η 2,3-BPG την ΑΣ

Η BPG ενώνεται στο κέντρο του τετραμερούς και την διατηρεί στην κατάσταση T μόλις ενωθεί το οξυγόνο καταρρέει η θήκη και απελευθερώνεται το BPG και διευκολύνεται η μετάπτωση από Tα σε R.

Το BPG δεν μοιάζει καθόλου με το O₂ που ενώνεται στην ΑΣ είναι ένας **αλλοστερικός τελεστής**

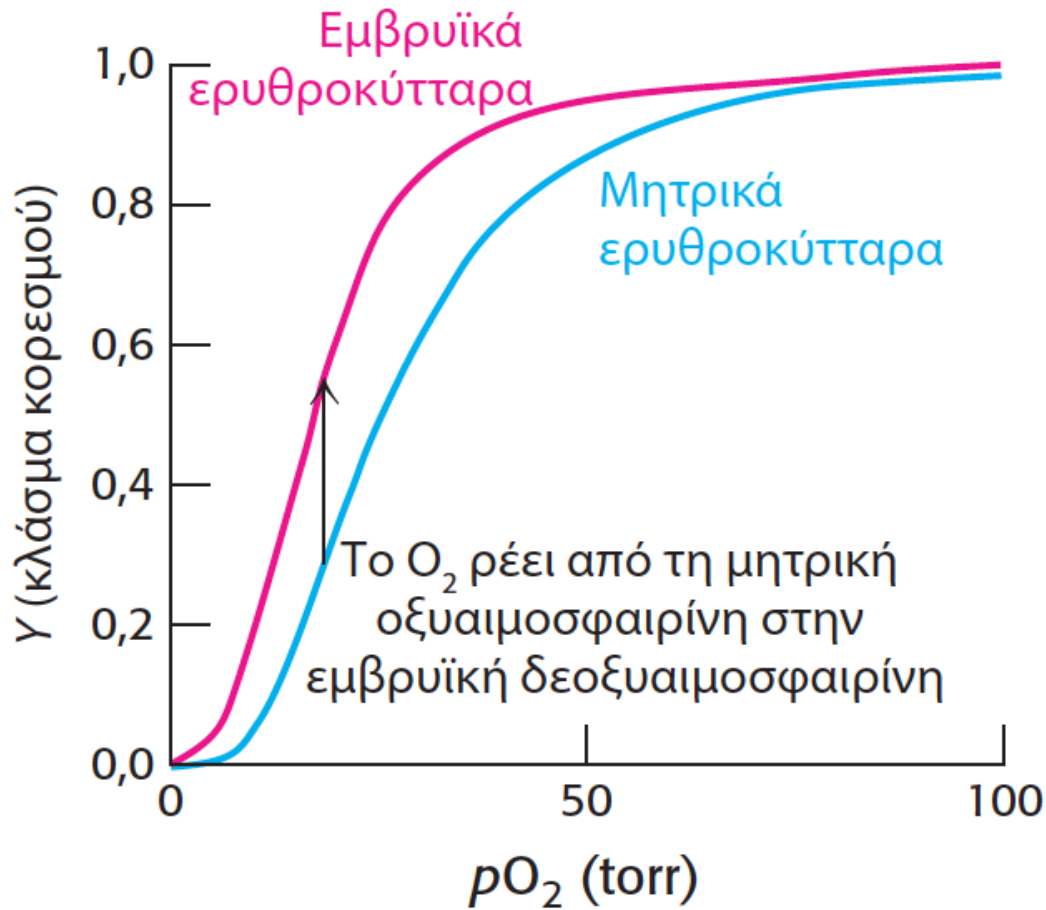


Η Κ της αντίδρασης πρόσδεσης O₂ μειώνεται με την 2,3-BPG στην ΑΣ αλλά ταυτόχρονα απελευθερώνει περισσότερο οξυγόνο (κατάσταση Tα) ...αλλά ήδη έχουν αλλάξει οι συνθήκες λιγότερο οξυγόνο

Σε υψηλά υψόμετρα δεν υπάρχει αρκετό O₂ για να «κορεστεί» η ΑΜΦ και να αλλάξει στερεοδιάταξη (T→R) οπότε απαιτείται **μειωμένο BPG**



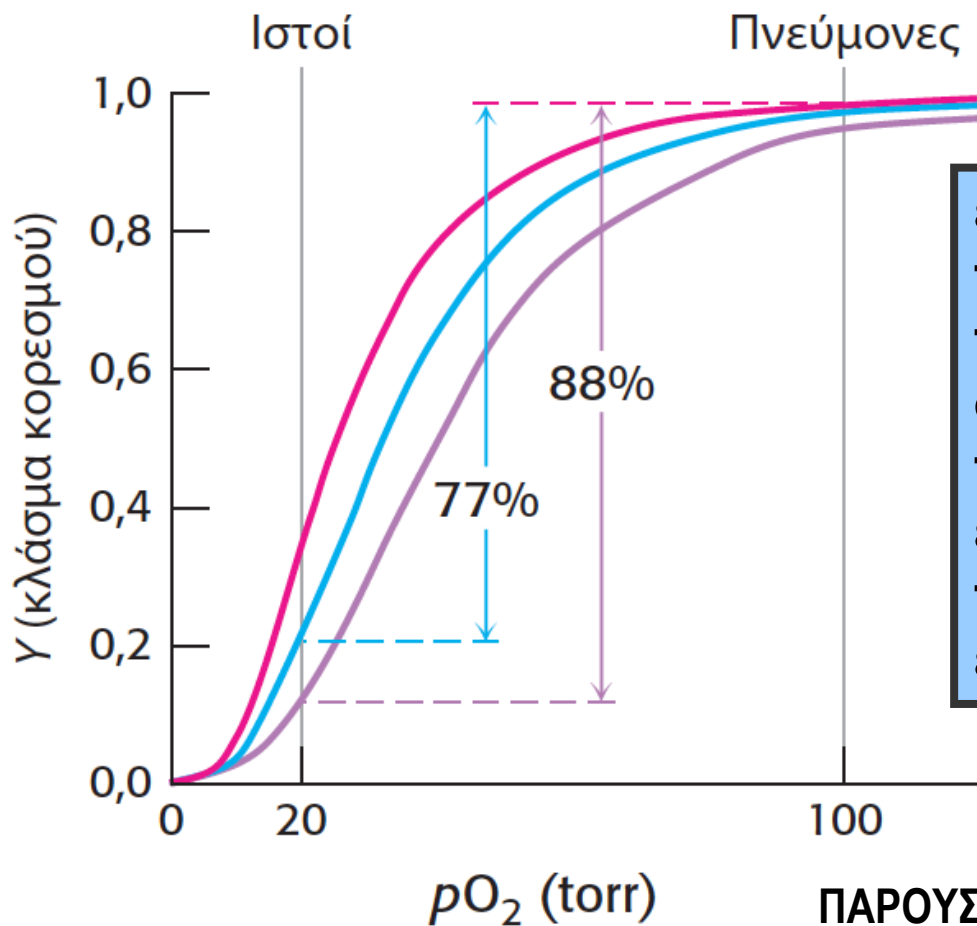
Η εμβρυϊκή ΑΜΦ χρειάζεται να προσδένει O_2 ισχυρότερα από μητρική για να ρέει το O_2 προς το βρέφος. Επιτυγχάνεται με αντικατάσταση του αμινοξέος που προσδένει την BPG



Εικόνα 7.18 Συγγένεια οξυγόνου των εμβρυϊκών ερυθροκυττάρων. Τα εμβρυϊκά ερυθροκύτταρα έχουν υψηλότερη συγγένεια για το οξυγόνο απ' ό,τι έχουν τα μητρικά ερυθροκύτταρα, διότι η εμβρυϊκή αιμοσφαιρίνη δεν δεσμεύει 2,3-BPG τόσο καλά όσο η μητρική αιμοσφαιρίνη.

Όλες οι αλλαγές στην ΑΣ παρουσία CO₂

- pH 7,4, καθόλου CO₂
- pH 7,2, καθόλου CO₂
- pH 7,2, 40 torr CO₂



Επιπλέον στάδιο ελέγχου ποσότητα CO₂ το οποίο επηρεάζει το pH το οποίο επηρεάζει την σύνδεση το O₂ αλλά το CO₂ ενώνεται και με την ΑΣ επιφέροντας επιπλέον αλλαγές που οδηγούν σε απελευθέρωση επιπλέον οξυγόνου

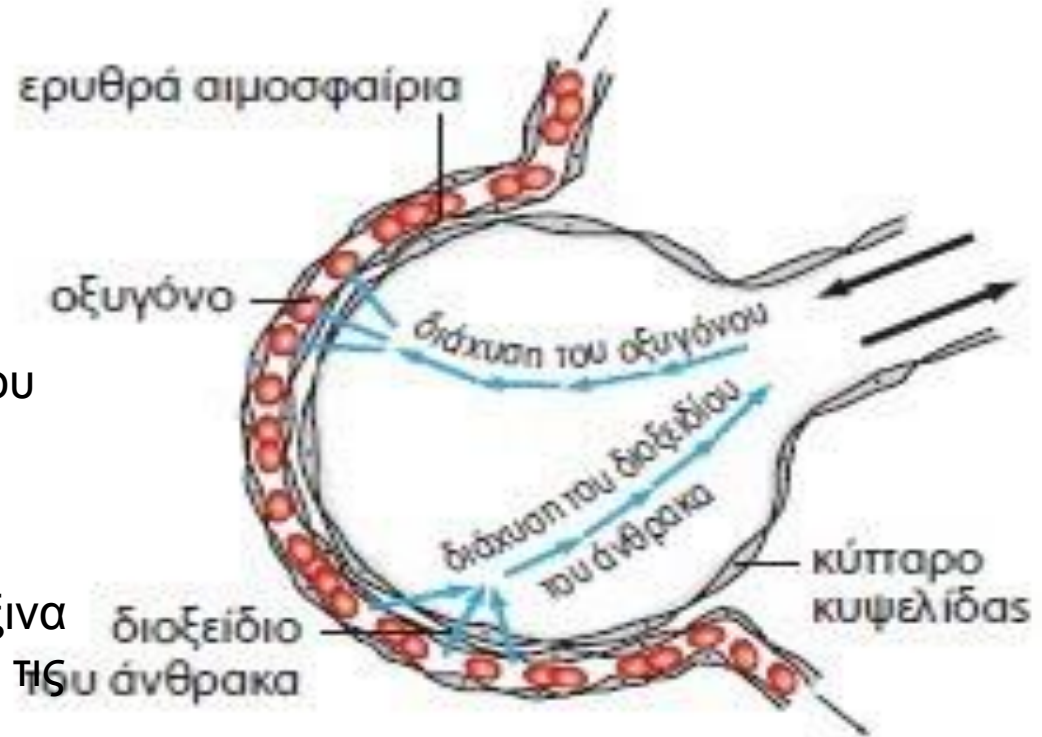
ΠΑΡΟΥΣΙΑ CO₂ ΣΕ ΜΕΡΙΚΗ ΠΙΕΣΗ 40torr, pH=7,2
Η ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΤΟΥ O₂ ΠΟΥ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΝΕΤΑΙ ΠΛΗΣΙΑΖΕΙ
ΤΟ 90% ΤΗΣ ΜΕΓΙΣΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ

ΠΕΡΙΛΗΠΤΙΚΑ

Στις πνευμονικές κυψελίδες η αιμοσφαιρίνη «απαλλανιμένη» από το διοξείδιο του άνθρακα ξανασυνδέεται με το οξυγόνο (οξυα

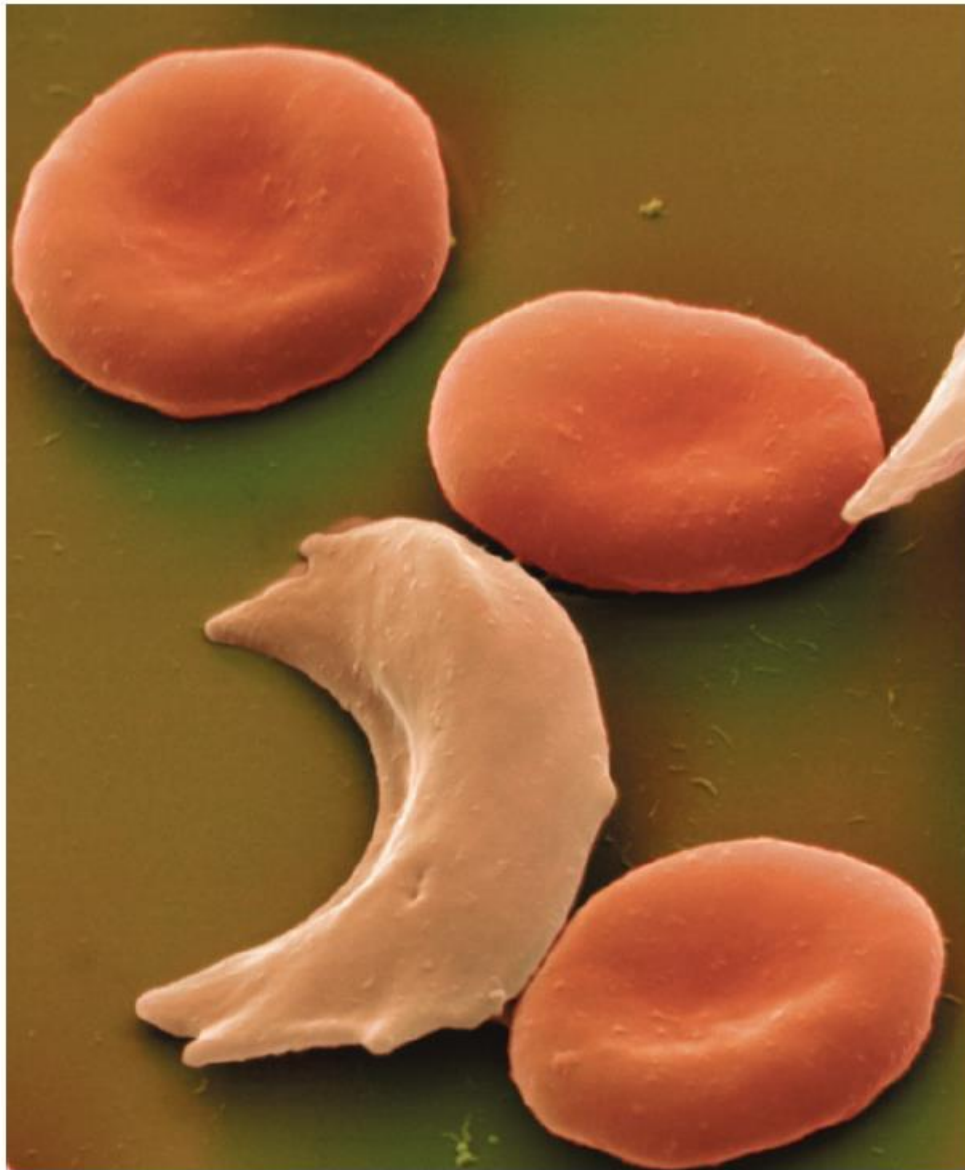
Με τη βοήθεια της αιμοσφαιρίνης (στη μορφή της οξυαιμοσφαιρίνης: λαμπερό κόκκινο χρώμα) το οξυγόνο μεταφέρεται στα τριχοειδή, όπου αποδεσμεύεται από αυτή και διαχέεται προς τα κύτταρα

Αμέσως μετά, δεσμεύεται ένα μέρος του CO_2 (από μεταβολισμό κυττάρων: σκούρο κόκκινο χρώμα) το υπόλοιπο διαλύεται στο πλάσμα (όξινα ανθρακικά ανιόντα) μεταφέρεται και με τις δύο μορφές στους πνεύμονες και αποβάλλεται ως CO_2



Η **μυοσφαιρίνη** είναι μια σχετικά μικρή πρωτεΐνη που αποτελείται από μια πολυπεπτιδική αλυσίδα 153 αμινοξέων. Στο μόριο της περιέχει σίδηρο και την προσθετική ομάδα της αίμης παρόμοια με αυτή της αιμοσφαιρίνης.

Αποστολή της είναι να συνδέεται με το οξυγόνο το οποίο μεταφέρει στους σκελετικούς μύες και τις λείες μυϊκές ίνες, διαμέσου των μυϊκών κυττάρων.



Το 1949 ο Linus Pauling πρότεινε ότι η δρεπανοκυτταρική αναιμία μπορεί να προκληθεί από παραλλαγή των αμινοξέων στην αλυσίδα της ΑΣ

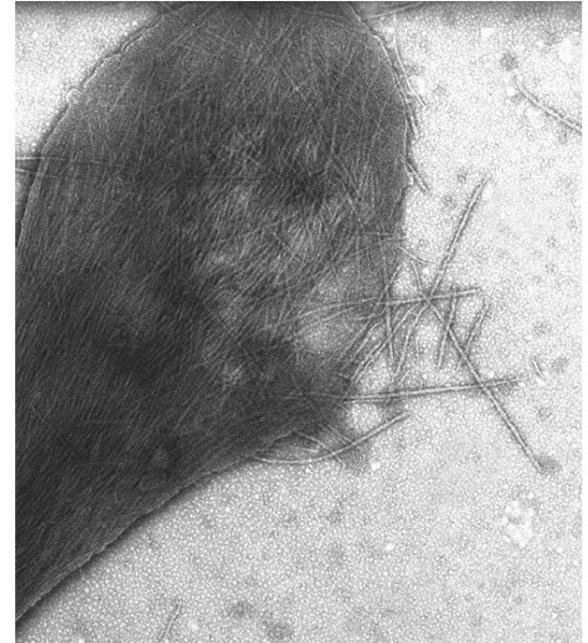
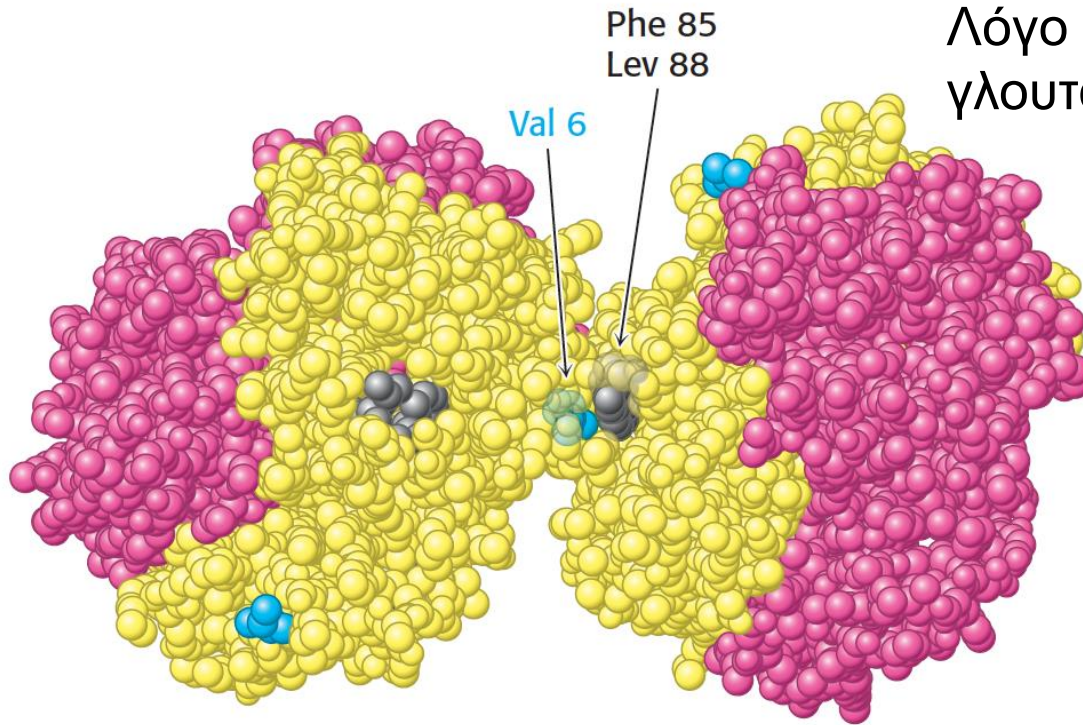
Εικόνα 7.24 Δρεπανοειδή ερυθροκύτταρα.

Ηλεκτρονιομικρογραφία σάρωσης που δείχνει ένα δρεπανοειδές ερυθροκύτταρο δίπλα σε ερυθροκύτταρα φυσιολογικού σχήματος. [Eye of Science/Photo Researchers.]

Το 1956 ο Vernon Ingram έδειξε ότι η υπόθεση του Pauling ήταν σωστή

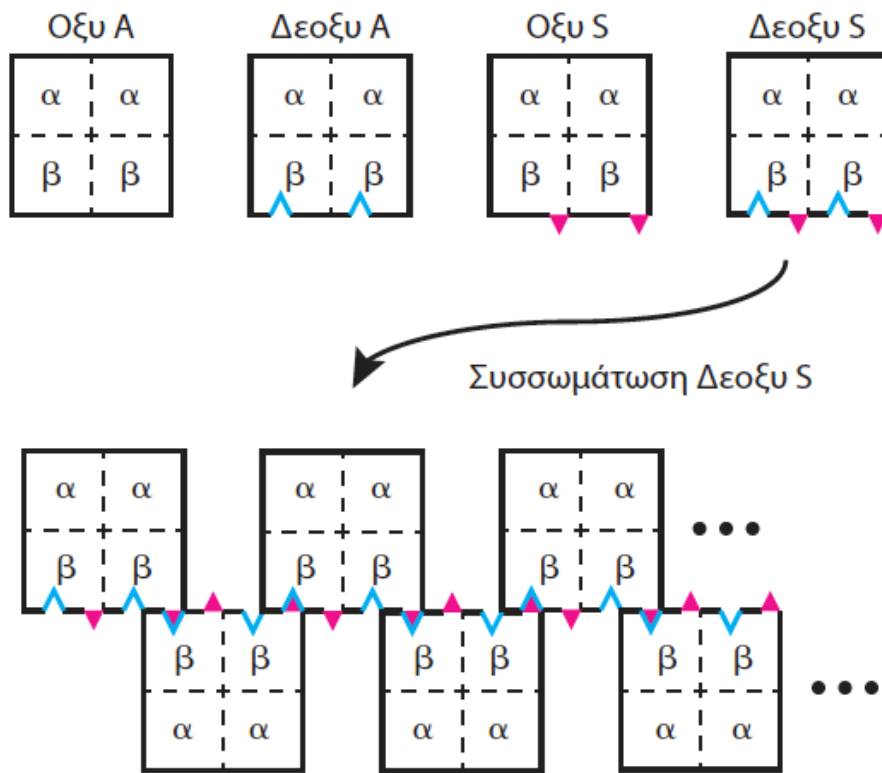


Λόγο αντικατάστασης του γλουταμινικού (θέση 6) από βαλίνη



Εικόνα 7.26 Αποξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη S. Η αλληλεπίδραση μεταξύ της Val 6 (μπλε) μιας αλυσίδας β ενός μορίου αιμοσφαιρίνης και μιας υδρόφοβης κηλίδας που σχηματίζεται από τη Phe 85 και τη Val 88 (γκρι) στην επιφάνεια της αλυσίδας β ενός άλλου μορίου αποξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης οδηγεί στη συσσωμάτωση αιμοσφαιρίνης. Τα εκτεθειμένα κατάλοιπα της Val 6 άλλων αλυσίδων β συμμετέχουν σε αντίστοιχες αλληλεπιδράσεις στις ίνες της αιμοσφαιρίνης S. [Σχεδιασμένο από 2HBS.pdb.]

Η μεταλλαγμένη ΑΣ S δεν χάνει την ικανότητα της να δεσμεύει O_2 αλλά γίνεται περισσότερο υδρόφοβη. Ίνες αδιάλυτης ΑΣ εξέρχονται από διαρρηγμένο ερυθροκύτταρο

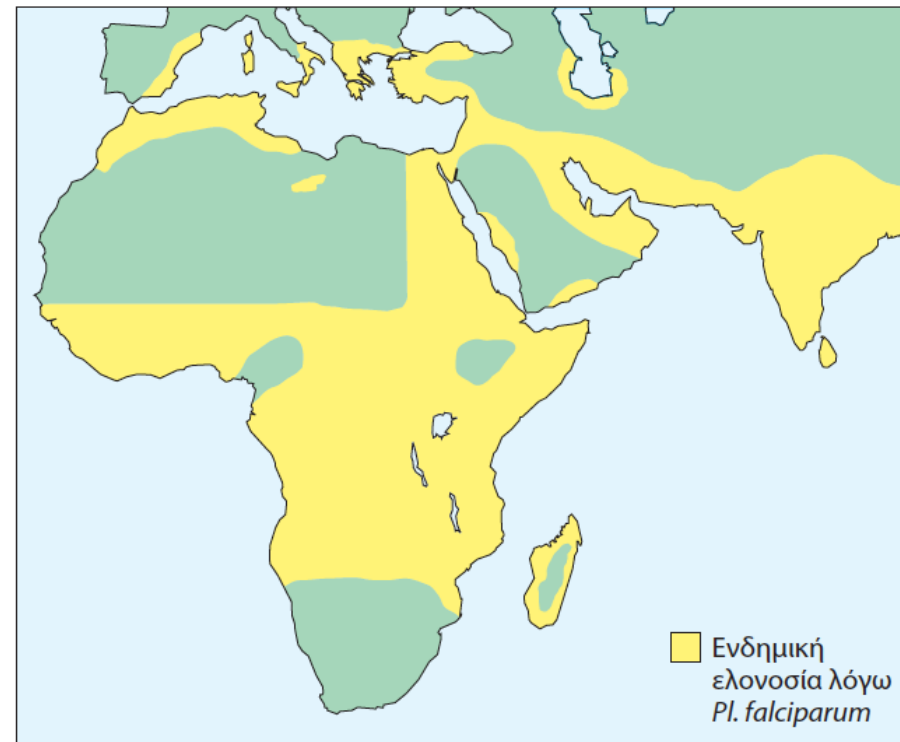
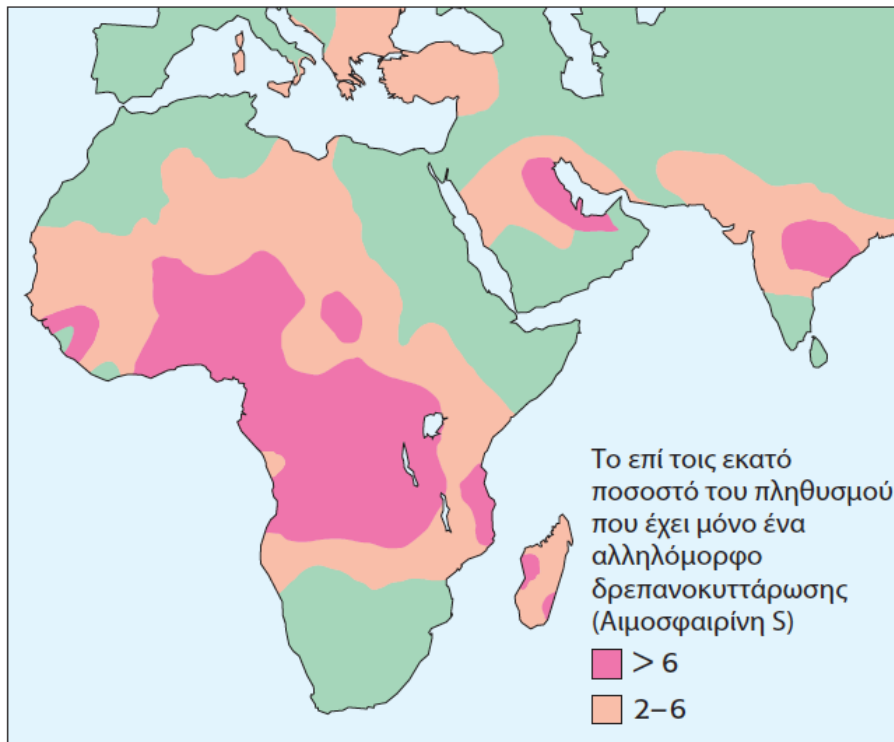


Μόνο η μεταλλαγμένη (S) αποξυγονωμένη AM (δεοξυ AM) σχηματίζει αδιάλυτα ινήδια

Εικόνα 7.27 Ο σχηματισμός των συσσωματωμάτων HbS. Η μετάλλαξη σε Val 6 στην αιμοσφαιρίνη S αντιπροσωπεύεται από τα κόκκινα τρίγωνα, ενώ η υδρόφοβη κηλίδα που σχηματίζεται από τη Phe 85 και τη Leu 88 στη δεοξυαιμοσφαιρίνη αντιπροσωπεύεται από τις μπλε οδοντώσεις. Όταν η HbS βρίσκεται στη δεοξυ-μορφή της, παρουσιάζει τα συμπληρωματικά χαρακτηριστικά που είναι απαραίτητα για συσσωμάτωση.

Άνθρωποι με ένα αντίγραφο HbB μεταλλαγμένο είναι σχετικά ανεπηρέαστοι από τις αρνητικές επιπτώσεις της HbS

Σε συνδυασμό με το παράσιτο *plasmodium falciparum* (ελονοσία) που ζει μέσα στα ερυθροκυτταρα και ευδοκιμεί σε περιοχές της Αφρικής ευνοήθηκε ο πληθυσμός με αλληλόμορφο HbS



Εικόνα 7.28 Δρεπανοκυτταρικό στίγμα και ελονοσία. Παρατηρείται μια σημαντική συσχέτιση περιοχών με υψηλή συχνότητα του αλληλομόρφου HbS με περιοχές με υψηλό επιπολασμό της ελονοσίας.