

Bioquímica I. Globinas

1. Funciones de las proteínas

Las proteínas pueden ser **simples** o **conjugadas** (con grupo prostético). Las principales proteínas conjugadas son las **lipoproteínas** (lípidos), **nucleoproteínas** (ácidos nucleicos), **glucoproteínas** (glúcidos), **fosfoproteínas** (ácido ortofosfórico) y **metaloproteínas** (metales).

Las proteínas tienen unan **funciones** muy diversas:

- 1) Catálisis enzimática
- 2) Transporte y almacenamiento: transferrina/ferritina, Hb/Mb, lipoproteínas...
- 3) Movimiento coordinado: actina/miosina, tubulina.
- 4) Soporte mecánico: colágeno, elastina, queratina.
- 5) Defensa: anticuerpos, fibrinógeno, trombina.
- 6) Control y transmisión de impulsos nerviosos
- 7) Control del crecimiento y la diferenciación

2. Proteínas plasmáticas

Son moléculas segregadas activamente a la **sangre** en condiciones fisiológicas normales, por lo que su concentración se ve alterada en muchas **enfermedades**. Se sintetizan en el **RE** de las células **hepáticas**, salvo las **inmunoglobulinas**, que se sintetizan en los linfocitos B; y algún tipo de **beta-globulina**.

Cuando dejamos **coagular** la sangre, la solución restante carente de **fibrinógeno**, **fibrina** y diversos **factores de coagulación**, se denomina **suero**. El **plasma** es el líquido que se obtiene de la sangre después de eliminar las células sanguíneas por **centrifugación** en presencia de inhibidores de la coagulación.

Por tanto, el plasma contiene fibrinógeno y otros factores de coagulación; el suero no. El **plasma** normal contiene entre **60 y 80 g/L** de proteínas.

Tenemos los siguientes **grupos** de proteínas plasmáticas:

- 1) Albúmina (55%): transporte de aniones, presión osmótica.
- 2) Alfa-1-globulinas (5%): glucoproteínas, HDL.
- 3) Alfa-2-globulinas (9%): haptoglobina, ceruloplasmina (transporte Cu^{2+}), VLDL.
- 4) Beta-globulinas (13%): transferrina, LDL.
- 5) Gamma-globulinas (11%): inmunoglobulinas.
- 6) Fibrinógeno o factor de coagulación I (7%).

2.1. Funciones principales

- a. Mantenimiento de la presión osmótica y regulación del **volumen intravascular**.
- b. Participación en el **equilibrio electrolítico**.
- c. Fuente de **AAs** para los tejidos.
- d. Transporte de **ligandos** (iones metálicos, ácidos grasos, hormonas).
- e. **Inmunidad**.
- f. **Coagulación**.

2.2. Albúmina

Representa el **50%** de las proteínas plasmáticas. Su **pI = 4'8**, por lo que está muy cargada **negativamente** a pH fisiológico (**7'4**). Se secreta en forma de **proalbúmina** en el hígado. Sus funciones principales son:

- 1) Nutritiva: fuente de AAs para tejidos.
- 2) Transportadora: aniones, cationes, ácidos grasos, bilirrubina.
- 3) Reguladora del volumen intravascular: responsable del 80% de la presión osmótica del plasma.

2.3. Lipoproteínas

Se clasifican en función de su **densidad** determinada por **ultracentrifugación** en quilomicrones, VLDL, LDL, IDL, HDL. Contienen una parte **proteica (apoproteína)** y una **lipídica** de composición variable. Su función es la **solubilización** y transporte de lípidos por el organismo.

Se organizan de acuerdo a su **polaridad** adoptando estructuras **esféricas**: los **lípidos apolares** en el interior, mientras que los lípidos de cabeza **polar** y las proteínas se encuentran en el exterior. Los valores entre los que se sitúa cada una son los siguientes:

- LDL: 70-130 mg/dL.
- HDL: 40-60 mg/dL.
- Colesterol total: menos de 200 mg/dL.
- Triglicéridos: 10-150 mg/Dl.

2.4. Globinas de transporte y almacenamiento de oxígeno

La **mioglobina (Mb)** es la proteína de **almacenamiento** de oxígeno en animales. La **hemoglobina (Hb)** **transporta** oxígeno en vertebrados y algunos invertebrados, además del transporte de dióxido de carbono.

La estructura terciaria de ambas proteínas es muy similar. La **mioglobina** presenta una sola cadena polipeptídica de **153 aa**, que se pliega sobre un grupo prostético (**hemo**) que contiene el sitio de unión al oxígeno. El polipéptido está formado por **8 segmentos alfa-helicoidales dextrógiros**, que se designan con las letras **A-H**, conectados por giros.

El grupo **hemo** está incluido en una **hendidura hidrofóbica**, formada por las hélices **E** y **F**, aunque también participan otros segmentos. Se encuentra unido de forma **no covalente**. Cuando se libera el oxígeno, permanece Fe(II), pero fuera de la célula se oxida a **Fe(III)** con el aire = **metamioglobina**.

La **hemoglobina** es una proteína **tetramérica** constituida por **4 cadenas polipeptídicas** muy similares a la mioglobina aunque sus secuencias de AAs presentan muchas diferencias. Cada una de estas subunidades está unida a un grupo hemo.

2.5. Porfirinas

Una molécula que una oxígeno debe evitar que **oxide** otras sustancias y debe **liberarlo** según la demanda. Ciertos metales de transición como **Fe(II)** y **Cu(I)** tienen fuerte tendencia a **unir** oxígeno. En la **Mb** y **Hb**, estos metales están quelados por un sistema de **anillo tetrapirrólico = protoporfirina IX**.

Estas porfirinas suelen ser muy **coloreadas** normalmente. El grupo hemo se forma por el complejo **protoporfirina IX + Fe(II)**. La afinidad de Mb y Hb por **CO** es **200 veces mayor** que por el **O₂**, lo que explica que el CO sea tan **tóxico**.

3. Características de la mioglobina (Mb)

La **P₅₀** de la Mb es muy **baja**, unos **4 mmHg**, por lo que significa una **gran afinidad**. A la concentración de oxígeno de los **capilares = 30 mmHg**, la Mb de los tejidos adyacentes está casi **saturada**. En células **metabólicamente activas**, la **P_{O₂}** interna disminuye mucho y la Mb descarga el oxígeno. El proceso limitante para la liberación de oxígeno es la apertura de una vía para que este escape del bolsillo del grupo hemo.

4. Transporte de oxígeno por la hemoglobina (Hb)

¿Cómo debe comportarse una **proteína transportadora**?:

- 1) Debe **aceptar oxígeno** de forma eficaz en los **pulmones**, unos **100 mmHg**.
- 2) Debe **ceder oxígeno** en los **tejidos**, unos **30 mmHg**.
- 3) Se consigue gracias a la unión de varias **subunidades**.
- 4) La curva de unión es **sigmoidea**, yendo de afinidad **baja a alta** y por **interacción cooperativa**.

La Hb ha evolucionado hasta tener esta **curva sigmoidea**, mucho más **eficaz**, ya que permite una **saturación** casi completa de la proteína en los **pulmones**, así como una máxima liberación en los capilares. A presiones de oxígeno bajas, actúa débilmente, pero a medida que se une más oxígeno, la **afinidad** se vuelve **mayor**.

Es un **tetrámero**, con **4 sitios de unión** que presentan **cooperatividad positiva** (la unión de oxígeno aumenta la afinidad de los demás lugares de unión). El grado de cooperatividad viene dado por la **representación de Hill**. Si su pendiente es **1 = mioglobina**. Cuando es **mayor de 1**, se da la **unión cooperativa**. La hemoglobina se corresponde con una pendiente máxima, representando el estado de unión fuerte. Presenta regulación alostérica, es decir, que la captación de un ligando influye sobre las afinidades de los lugares de unión restantes sin ocupar.

4.1. Unión cooperativa del oxígeno a la hemoglobina (efecto alostérico)

Cada subunidad puede cambiar su **conformación terciaria** cuando se une al oxígeno. Esta unión favorece la unión fuerte en subunidades adyacentes. Existen moléculas mixtas con subunidades de unión fuerte y débil.

La conformación puede ser **T=tensa (unión débil)** o **R=relajada (unión fuerte)**, en equilibrio. La oxigenación desplaza el equilibrio hacia la forma R.

Al unirse el oxígeno, un **dímero alfa-beta** rota unos **15º** y se desliza respecto al otro. Esto hace que las cadenas beta se aproximen y que se estreche la cavidad central de la molécula. Se rompen varias **interacciones fuertes** y se adquiere una conformación de **mayor energía y más laxa = relajada (R)**. El precio energético de este cambio se paga mediante la unión de oxígeno a la molécula.

Una vez ha salido el oxígeno, la **Hb** vuelve de manera natural a su **conformación desoxigenada**, de **menor energía** y más **ajustada = tensa (T)**. Por esto, la Hb posee dos estados de estructura cuaternaria: desoxi y oxi. La conformación **oxi** es la que tiene mayor afinidad por el oxígeno.

5. El efecto Bohr

Cuando el oxígeno se utiliza en los tejidos, se produce **dióxido de carbono**. La acumulación de este dióxido **reduce el pH** de los eritrocitos mediante la reacción para dar bicarbonato. El **bicarbonato** es más soluble que el dióxido de carbono. Esta caída de pH reduce la **afinidad** de la Hb por el oxígeno, permitiendo su **liberación**. Esto es lo que denominamos **efecto Bohr**. Tiene diferentes efectos según donde actúe:

- Efecto en los tejidos

El pH en los tejidos baja debido a su **metabolismo**. Por esto, hay casi **más CO₂**, favoreciéndose la forma **desoxi**, por lo que se libera oxígeno y se une dióxido de carbono. Esto **libera protones**, que disminuyen la afinidad de la Hb por el oxígeno y **aumentan** su **P₅₀**.

- Efecto en los pulmones

La **oxigenación** desplaza el equilibrio hacia la **liberación de protones** de la Hb, lo que favorece la liberación de dióxido de carbono en los pulmones.

Cuando se da **hiperventilación** (respiración con mucha rapidez), el **CO₂** se elimina rápidamente desde los tejidos, por lo que no ayuda a la liberación del oxígeno de los mismos. Una solución es respirar dentro de una **bolsa** para elevar los valores de **CO₂** en **sangre**.

Determinados lugares de unión a protones tienen más afinidad en la forma **desoxi**. Al **pH sanguíneo** (7,4), algunos residuos (**His 146, N-terminal** de las cadenas alfa) están desprotonados en la forma oxi. Un aumento de protones favorece la forma **desoxi, tensa (T)**.

Parte del dióxido de carbono es transportado como **carbamatos** formados por **aminoácidos N-terminales**. Esto da lugar a liberación de protones = **mayor acidificación = liberación de oxígeno**.

6. Transporte de CO₂

Su primer efecto está mediado por la **anhidrasa carbónica**, que desplaza el equilibrio a la derecha, por lo que los protones contribuyen al **efecto Bohr**. En su segundo efecto, el **CO₂** reacciona directamente con los grupos **N-terminales** de la Hb, formando **carbamatos**. Esto genera **más protones** para el efecto Bohr y se estabiliza la **forma T** de la Hb.

7. Bifosfoglicerato (BPG)

Permite adaptarse a **cambios graduales** en la **disponibilidad** de **oxígeno**. Esto **reduce** la **afinidad** de Hb por el oxígeno. Cuanto más **BPG** hay, más estable es la forma **desoxi**, ya que no puede unirse a la forma oxi. Cuando BPG es **elevado**, se da una mejor **descarga de oxígeno** a los tejidos. Esto ocurre a **grandes alturas**, en **fumadores** y en condiciones de **hipoxia**.

Los **hematíes fetales** tienen más afinidad por el oxígeno que los maternos. En presencia de **BPG**, la afinidad por el oxígeno de la **Hb fetal** es mayor que la de la **materna**. Por esto, se da la transferencia de oxígeno e la sangre **materna** al **feto**.

El **efecto alostérico** del **BPG**, junto con **protones** y **CO₂**, desplaza el equilibrio hacia la forma **desoxi (T)**. Interaccionan en sitios distintos, por lo que sus efectos pueden ser **aditivos**.

8. La familia de proteínas Mb-Hb

Los eucariotas superiores poseen **genes distintos** para la **Mb** y para las diferentes cadenas de **Hb**, distribuidos en distintos **cromosomas**. Son genes **homólogos** que se originaron por duplicaciones y traslocaciones durante la evolución.

Sólo unos pocos aminoácidos conservados a lo largo de la **evolución**, indican las **posiciones esenciales** de la molécula: **His proximal** y **distal**, residuos próximos a contactos **alfa1-beta1** y **alfa2-beta2** y residuos involucrados en el cambio de conformación **desoxi-oxi**.

8.1. Mutaciones patológicas en globinas humanas

- 1) Hemoglobinas M: tienden a oxidarse con facilidad por mutación de His proximal o distal.
- 2) Desestabilización del tetrámero de Hb: Hb St. Lukes.
- 3) Inhibición del cambio alostérico por estabilización de oxi-desoxi: Hb Suresnes.
- 4) Estructura terciaria inestable: Hb Hammersmith.
- 5) Hb adrenopática: anemia falciforme

Se da por sustitución de **Glu** por **Val** en la **posición 6** de las cadenas **beta**. La **HbS mutante** se agrega en **bastones** y los hematíes se alargan, obstruyendo los vasos. Da lugar a inflamación, dolor y anemia por fragilidad de eritrocitos.

Los **homocigotos** mueren. Los **heterocigotos** manifiestan la enfermedad en privación de oxígeno. Hay una mayor incidencia en zonas con **malaria**.

6) Talasemias

Uno o varios **genes** de las cadenas se han **perdido**. Existe una **mutación sin sentido** que da lugar a una cadena más corta. Un cambio de **fase de lectura** produce una proteína no funcional. Además, se da mutación en las regiones no codificantes que afecta a la transcripción o al adecuado procesamiento del ARNm. Hay 2 tipos de talasemias:

- Beta-talasemias

Muy grave en **heterocigotos**, mueren antes de la madurez. Mantienen las **cadenas fetales gamma** durante más tiempo. Las **beta⁺** producen poca **beta-globina** por genes inhibidos.

- Alfa-talasemias

Normalmente hay **2 copias del gen alfa**, debiendo faltar **3-4 copias** para desarrollar una enfermedad grave. Se puede compensar con la formación de **tetrámeros beta4** o **gamma 4**. El caso de **hidropesía fetal** es mortal ya que se nace sin las **4 copias** del gen alfa.