

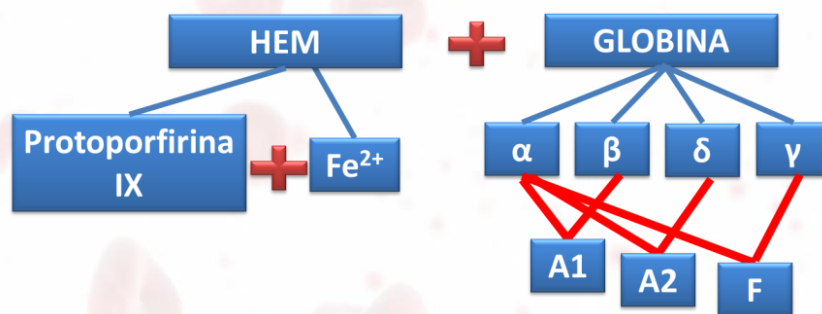


HEMOGLOBINA

La hemoglobina (Hb) es la proteína funcional de los eritrocitos, su función es la del transporte gaseoso, en particular O_2 y CO_2 . Ha sido una de las proteínas más estudiadas y que ha servido como modelo de investigación para quienes se dedican a la proteómica. Fue descrita desde 1849, fue la primera en ser cristalizada, la primera que se asoció con una función, la primera en ser sintetizada ex vivo y la primera de la que se conoce su estructura. Es una metaloproteína, llamada también hemoproteína, de carácter alostérica, conjugada, con un peso molecular de 64.400 Daltons.¹

Dada la afinidad de esta proteína por los gases y otras moléculas, cuando se une al O_2 se le conoce como oxihemoglobina, unida al CO_2 se le conoce como carbaminohemoglobina, unida al CO se le denomina carboxihemoglobina, adicionalmente, puede fijar glucosa de manera irreversible y se le conoce como Hb glucosilada o HbA1c. De igual forma, la Hb reacciona con el óxido nítrico tanto en su forma desoxihemoglobina formando nitrosilhemoglobina como con la forma de oxihemoglobina formando metahemoglobina + nitrato, el transportar ON tiene que ver con la capacidad de este como agente vasodilatador ya que facilitaría su paso por los pequeños capilares.²

Desde el punto de vista estructural está conformada por cuatro unidades cada una de ellas constituida por un hem y una cadena polipeptídica. El hem como en todas las proteínas hem está conformado por una molécula de protoporfirina IX y hierro (Fe^{++}), la cadena polipeptídica en el adulto está conformada por cadenas de globina α , β , γ o δ . De las 4 unidades que conforman la globina está distribuida en dímeros, la del adulto siempre presenta cadenas α así: Hb A1: $\alpha_2\beta_2$ Hb A2: $\alpha_2\delta_2$ y Hb F o fetal: $\alpha_2\gamma_2$. (Fig. 1)



La de mayor concentración en el adulto es la Hb A ó A1 en una proporción entre el 96 y 98%, la A2 un promedio de 2% y la F en una cantidad menor al 1%.

Figura 1. Fuente: autor de la presente revisión.

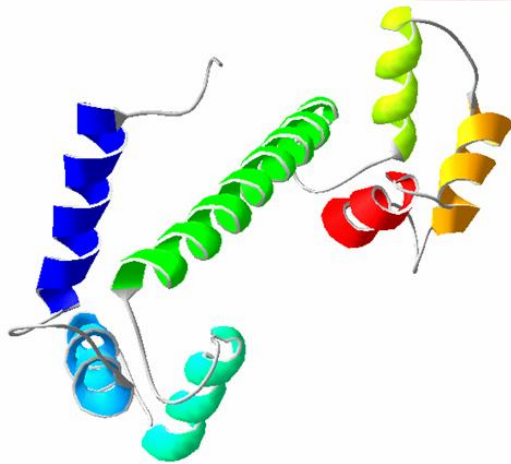
¹ Peñuela O.A. Hemoglobina: una molécula modelo para el investigador *Colomb Med* 2005; 36: 215-225

² Huang K, Han T, Hyduke D, et al. Modulation of nitric oxide bioavailability by erythrocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 11771-11776



La síntesis de las cadenas de globina está codificada en agrupaciones multigénicas en el cromosoma 11 y en el 16. Para el adulto en el cromosoma 11 se codifican las cadenas γ , δ y β y en el cromosoma 16 las α .³ La deficiencia congénita o adquirida de una de estas cadenas trae consigo un grupo de anemias hemolíticas conocidas como talasemias.^{4,5,6} La síntesis de hemoglobina inicia en el eritroblasto policromático y termina en el reticulocito, está regulada por la concentración de eritropoyetina (EPO) en el microambiente medular.

En su estructura primaria, las cadenas α constan de una secuencia de 141 aa, las cadenas β , δ y γ de 146 aa. La alteración en alguno de los aa en esta secuencia trae como consecuencia una anemia hemolítica grave que se conoce como hemoglobinopatías, la más conocida en el ámbito internacional es la anemia drepanocítica o de células falciformes en la cual hay un cambio de ácido glutámico por valina en la posición 6 de las cadenas β .



La estructura secundaria consta de ocho segmentos helicoidales y siete segmentos no helicoidales. Los helicoidales A, B, C, D, E, F, G, H y los no helicoidales NA, AB, CD, EF, FG, GH, HC.

Los no helicoidales van uniendo cada uno de los segmentos helicoidales, el primero inicia con el nitrógeno (N) terminal al helicoide A y el último del helicoide H al carbono (C) terminal.

En la figura dos se ilustra la forma como interactúan los segmentos helicoidales y los no helicoidales uniéndolos entre sí, igualmente se

Figura 2. Disponible en:
<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6f/Calmodulin.png>

³³ Higgs D, Vickers M, Wilkie A, Pretorius I, Jarman A and Weasthearall D. A review of the Molecular Genetics of the Human Globin Gene Cluster. *BLOOD* 1989;73:1081-1104

⁴ Ho-Wan Ip, and Chi-Chiu So. Diagnosis and prevention of thalassemia *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 2013; 50(6):125-141

⁵ Chong S, Boehm C, Higgs D and Cutting G. Single-tube multiplex-PCR screen for common deletional determinants of α -thalassemia. *BLOOD* 1999; 73:1081-1104

⁶ Viprasakit V, Kidd AM, Ayyub H, Horsley S, Hughes J, Higgs DR. De novo deletion within the telomeric region flanking the human alpha globin locus as a cause of alpha thalassaemia. *Br J Haematol.* 2003;120: 867-875



aprecian la cadena de aa terminales con el C y N terminal en su extremo correspondiente.

En la estructura terciaria⁷ los helicoides interactúan entre sí, se pliegan y dejan un

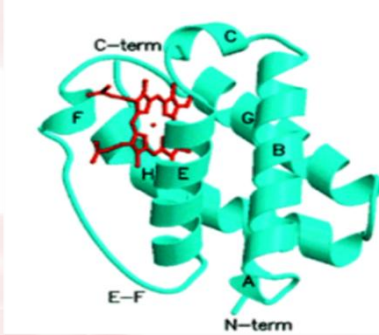


Figura 3. Obtenida de Peñuela O.A. Hemoglobina: una molécula modelo para el investigador *Colomb Med* 2005; 36: 215-225

hendidura no polar, bolsa hidrofóbica, entre los helicoides E y F, allí se ubica el Hem el cual queda suspendido en esta hendidura, el Fe del Hem forma un puente covalente con la histidina proximal del helicoide F en F8, de igual forma el O₂ que está unido mediante enlace covalente al Hem, se une a la histidina distal del helicoide E en E7. Se considera que hay alrededor de 80 interacciones no covalentes entre al menos 18 aa de la globina y el hem que se dan entre las cadenas apolares de los aa y las regiones no polares de la porfirina. Por su parte el Fe presenta seis enlaces, cuatro con los nitrógenos pirrólicos de la porfirina, un quinto enlace con

el N de una histidina proximal F8 y el sexto con el O₂ quien a su vez está unido al N de E7.

En la conformación de la estructura cuaternaria se llevan a cabo los contactos intercatenarios de la Hb ya sea entre cadenas semejantes $\alpha_1\alpha_2$ ó $\beta_1\beta_2$ o entre cadenas alternas $\alpha_1\beta_1$, $\alpha_1\beta_2$ y $\alpha_2\beta_2$, $\alpha_2\beta_1$. Los que se dan entre cadenas semejantes son limitados y de escasa importancia, los que se dan entre cadenas alteras son los que predominan determinan la existencia de dos estructuras cuaternarias estables y distintas la estructura relajada “R” conocida como estado de oxihemoglobina y la estructura tensa “T” conocida como desoxihemoglobina.⁸ La estructura T se caracteriza por tener una gran cantidad de puentes salinos, en la medida que va captando O₂ estos puentes se van rompiendo hasta alcanzar la conformación R u oxigenada.

El Fe en la desoxihemoglobina se encuentra en estado de espín alto, dando una imagen de estructura abovedada, conformando así el sitio de unión del 2,3 DPG; en la medida que va captando O₂ el espín va bajando hasta llegar a estar coplanar con el resto de la molécula hem una vez tiene fijas las 4 moléculas de O₂. (Figura 4)

⁷ Pomponi M, Gavuzzo E, Bertonati C, Derocher A, Lydersen C, Wiig O, Kovacs K. Hemoglobin, pH and DPG/chloride shifting / *Biochimie* 2004; 86:927–932

⁸ Peñuela O.A. Hemoglobina: una molécula modelo para el investigador *Colomb Med* 2005; 36: 215-225

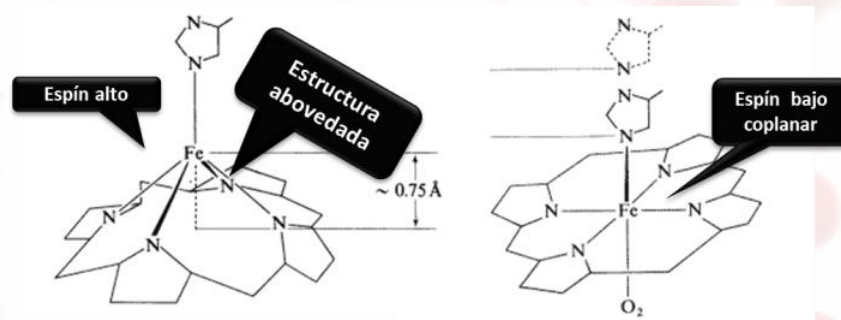


Figura 4. Modificado de:
http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/ap/ciencias_quimicas_y_farmacuticas/apquim-inorg1/31.html

En el paso de la hemoglobina de la conformación T (desoxi) a la R (oxi), se produce un giro entre las parejas $\alpha 1\beta 2$ de 15° sobre un eje imaginario lo que permite la modificación de la interacción entre las cadenas α y β comprometidas.

Finalmente, la estructura de esta proteína está íntimamente relacionada con su función. Es la proteína encargada de transportar el 97% del O_2 , solo un 3% es transportado en forma disuelta en el plasma.

El porcentaje saturación de la Hb se refiere a la cantidad de O_2 que se combina con la Hb a presiones parciales de O_2 (PO_2) elevadas. Se calcula de cada gramo de Hb contiene 270 millones de moléculas de Hb; y que 1 gr de Hb transporta 1,39 ml de O_2 , por lo tanto en un individuo con una hemoglobina de 15 gr/dl su capacidad de transporte es de 20,85 ml de O_2 /100 ml, esto en condiciones en las que el 100% de la Hb estuviera unida al O_2 . En condiciones normales la Hb está en un 98% saturada en los pulmones y solo un 33% en los tejidos, en su recorrido hacia los tejidos cede hasta el 70% de su capacidad de transporte.

Cada molécula de Hb puede fijar cuatro moléculas de O_2 , una por cada molécula de Fe. La unión del O_2 a la Hb sigue un patrón homotrópico en el cual el O_2 se comporta como modulador de la actividad catalítica y produce una curva de disociación sigmoidea. Quiere decir que los cuatro átomos de O_2 no tienen la misma afinidad, cuando el primer O_2 ocupa su sitio de unión al Fe^{++} , para el siguiente O_2 aumenta la actividad y así con cada uno de las siguientes dos moléculas de O_2 . Esta curva de disociación es controlada y modificada por varios factores entre los que están es la PO_2 , a bajas tensiones de O_2 la fijación de O_2 es débil a altas tensiones es fuerte. Otros factores que influyen esta curva de disociación son la temperatura, el pH, la concentración tisular de CO_2 y la concentración de 2,3 DPG. (Figura 5)



Se mencionó que la hemoglobina es una proteína alostérica, alosterismo es la capacidad que tiene una proteína para cambiar su conformación y actividad cuando actúa con sus ligandos, en ese sentido la hemoglobina tiene ligandos respiratorios como el O_2 y el CO_2 y ligandos metabólicos como el 2,3 DPG y el H^+ .

El efecto de los ligandos respiratorios ha sido definido como el efecto Haldane: la desoxigenación de la Hb incrementa su afinidad para portar CO_2 . La sangre oxigenada tiene una capacidad reducida para transportar CO_2 . El paso de R a T es secuencial, la unión de una molécula de O_2 a un de las 4 moléculas de hierro afecta la estructura que rodea los otras tres moléculas Hem produciendo un cambio conformacional, paulatinamente va bajando el espín y la siguiente molécula de O_2 que se una lo hace de forma más fácil que la anterior, este efecto también se le conoce como cooperatividad en la medida que con la unión del primer O_2 la fijación aumenta la afinidad de los otros grupos Hem por el O_2 .

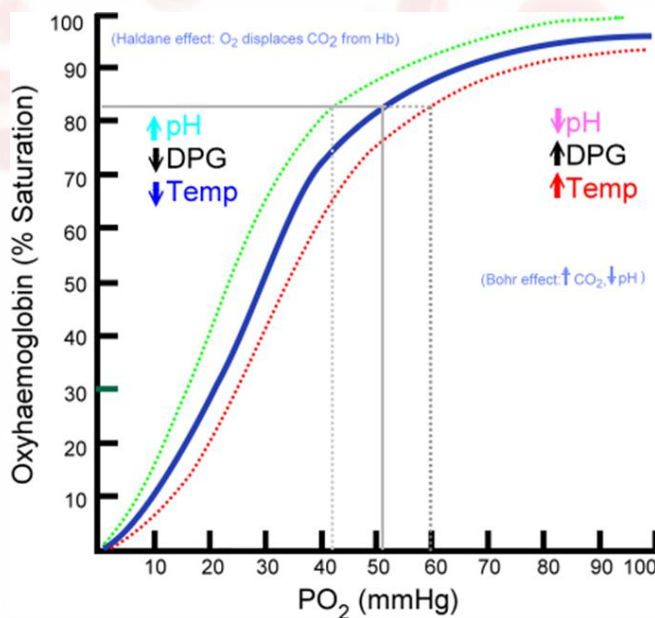


Figura 5. Disponible en:

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8a/Oxyhaemoglobin_dissociation_curve.png

Respecto a la cesión del O_2 a los tejidos, se mencionó que depende de varios factores que pueden desplazar la curva de disociación de la hemoglobina hacia la izquierda aumentando la afinidad de la Hb por el O_2 hecho que dificulta la liberación del O_2 al tejido. Por el contrario la curva puede desplazarse hacia la derecha disminuyendo la afinidad de la Hb por el O_2 favoreciendo la cesión del O_2 a los tejidos.

El 2,3 DPG actúa como regulador alostérico facilitando la liberación del O_2 ; es un compuesto altamente anionico producto de la degradación de la glucosa en el ciclo Luebering–Rapoport. Se encuentra en una alta concentración en los eritrocitos, en la misma concentración de la hemoglobina. Se

une a la Hb reduciendo su afinidad por el O_2 , esta molécula se une a la Hb en su conformación T en la estructura abovedada que resulta ante el espín alto del átomo de Fe. La unión es favorecida por las cargas negativas del 2,3 DPG que se une a los aa de las cadenas β que poseen carga positiva.



En casos de hipoxemia se aumenta el 2,3 DPG la curva se desplaza a derecha se facilita la liberación de O_2 a los tejidos, en ausencia de 2,3 DPG la entrega de oxígeno se clasifica como “nula”, en la medida que disminuye el 2,3 DPG la curva se desplaza a la izquierda y la hemoglobina aumenta su afinidad por el O_2 y no lo cede al tejido.

La afinidad del O_2 por la Hb mediada por la concentración de H^+ [H^+] se conoce como efecto Bohr, un aumento en la [H^+] disminuye el pH y la curva se desplaza a la derecha disminuyendo la afinidad del O_2 por la Hb, facilitando su cesión hacia los tejidos; por el contrario un pH elevado desplaza la curva hacia la izquierda dificultando la cesión del O_2 . El aumento en la [H^+] se asocia con un aumento también en la producción de CO_2 en los tejidos, el CO_2 es catabolizado en el eritrocito por la anhidraza carbónica, de esta reacción se produce finalmente una molécula de HCO_3^- y una de H^+ ; de allí que el aumento de la actividad metabólica de la célula ayude a hacer más eficiente la entrega de O_2 a estos tejidos. A mayor actividad metabólica mayor es la entrega de O_2 por parte de los eritrocitos.

La temperatura también influye la curva de disociación, a mayor temperatura la curva se desplaza hacia la derecha, a menor temperatura la curva se desplaza a la izquierda.

Por otro lado, para que la molécula de Hb sea funcional el Fe del Hem debe estar en estado reducido Fe^{++} , no obstante este hierro es sometido continuamente a aniones superóxido o peróxido que lo pueden oxidar produciendo metahemoglobina o hemoglobina oxidada; para evitar que este proceso de oxidación sea permanente, el eritrocito cuenta con toda una maquinaria reductora (ver metabolismo eritroide), no obstante, diariamente se genera aproximadamente un 1% de metahemoglobina, en la medida que esta se acumula y que se produzca denaturalización de la molécula se producen hemicormos y la unión con la histidina distal E7 se rompe provocando una distorsión a la estructura terciaria de la molécula que trae como consecuencia la fosforilación de la Banda 3 y la generación del neoantígeno que provoca la salida del eritrocito de circulación.